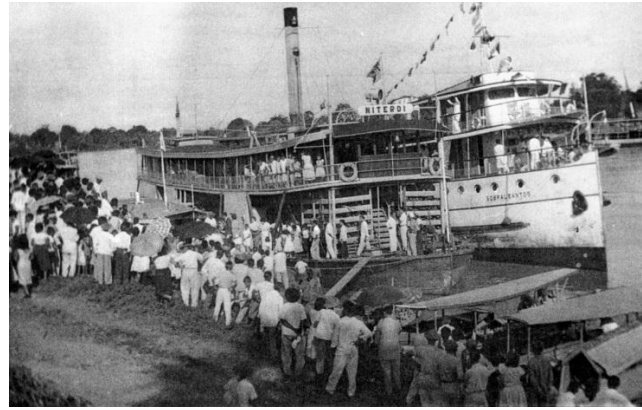




Acervo Digital: Deptº de Patrimônio Histórico e Cultural - FEM

Análise de 15 loci STRs autossômicos na população do estado do Acre, norte do Brasil

Lídia Muniz Bez Birolo

Mestrado em Genética Forense
Departamento de Biologia
2012

Orientador

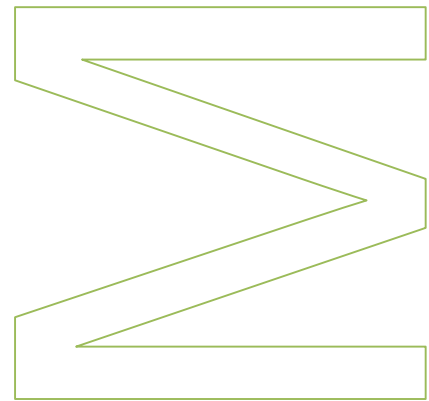
Professor Doutor António Amorim dos Santos, Professor Catedrático,
Faculdade de Ciências - UP

Coorientadores

Doutora Leonor S. Botelho de Gusmão, Investigadora, IPATIMUP

Doutora Cíntia Alves, Investigadora, IPATIMUP

Professor Doutor António Gilson Gomes Mesquita, Professor Adjunto,
UFAC

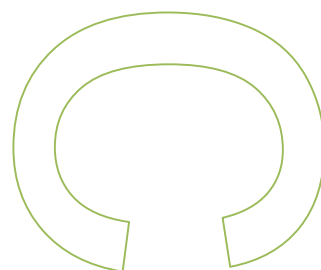




Todas as correções determinadas pelo júri, e só essas, foram efetuadas.

O Presidente do Júri,

Porto, ____/____/____



Quero dedicar este trabalho aos muitos participantes voluntários que deram seu voto de confiança na ciência, a fim de contribuir para um mundo melhor através do conhecimento.

Para demonstrar minha sincera gratidão, dedico esta obra também a minha família, que sempre acreditou em minhas idéias, me incentivou e generosamente financiou parte deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Por ter constado de várias etapas, há muitas pessoas a quem eu gostaria de manifestar minha gratidão. Quero começar por agradecer àqueles sem os quais este estudo não seria realizado: os mais de 500 voluntários que aceitaram doar uma amostra de seu sangue e um pouco do seu tempo. Obrigada pelo interesse, boa vontade e confiança!

Agradeço aos comandantes, diretores, professores, coordenadores, secretários e demais responsáveis das diversas instituições (Polícia Militar, hospitais, postos de saúde, campi da UFAC, escolas e secretarias municipais e estaduais de saúde) de todos os municípios onde foi feita coleta de amostras de sangue. Obrigada por terem me recebido, ouvido com interesse e facilitado a coleta nos estabelecimentos!

Obrigada à Estela, de Manoel Urbano, por me acompanhar em seu município e ajudar a incentivar voluntários para a coleta.

Muito obrigada à minha amiga e colega bióloga Lidiany, pelo companheirismo, compreensão e por ser de forma amável o meu braço direito durante os meses de “expedição” coletando amostras por todo o estado do Acre!

À Secretaria Estadual de Saúde do Acre e secretária Suely Melo pelo interesse e pela ajuda com material, deslocamento e autorização para coletar nos estabelecimentos de saúde do Acre.

Ao Prof. Carlos Edegard de Deus, por ter me ajudado a chegar com o projeto até o então secretário estadual de saúde.

Ao Dr. Pascoal Torres, vice-reitor da Universidade Federal do Acre - UFAC, pela atenção em me ouvir e interesse em ajudar.

Ao Dr. Enock Pessoa e Jucilene, do Comitê de Ética da UFAC, pela atenção no tratamento das questões éticas desta pesquisa.

À UFAC, pela ajuda material e autorização para a realização das coletas nos diversos campi.

Às demais instituições que forneceram autorização de coleta de sangue nos seus estabelecimentos: Polícia Militar, Secretaria de Estado da Polícia Civil, Centro de Apoio Diagnóstico-CAD e Secretarias Municipais de Saúde.

Aos meus colegas de mestrado da turma de 2010/2011 pela atenção e importantes momentos compartilhados.

Aos meus colegas de mestrado da turma de 2011/2012 - que acompanharam a realização deste projeto - pelo incentivo, companheirismo, alegria e paciência em me auxiliar na compreensão de conteúdos teóricos e programas computacionais.

Aos demais colegas da Genética Populacional, pelos esclarecimentos e constante disponibilidade.

À minha amiga Dora, pela enorme disposição em ajudar sempre e pela simpatia.

Aos demais amigos, pela confiança, interesse, compreensão, paciência e ânimo nos momentos difíceis.

Aos cientistas e profissionais que responderam às mensagens de solicitação de esclarecimentos científicos.

Aos peritos da Polícia Civil do Acre Mário Sandro e Belarmino, pela atenção e interesse.

Ao Dr. Paulo Raimann e à colega Juliane Picanço pelo importante auxílio durante a fase laboratorial, pela ajuda com conteúdo teórico durante a fase posterior e pela constante disposição.

À Dra. Clarice Alho, do Laboratório de Genética e Biologia Molecular da PUCRS, pelo estímulo, pelo precioso tempo dedicado a esclarecimentos, principalmente em relação às questões éticas, e pela enorme ajuda material na fase laboratorial da pesquisa.

À Faculdade de Ciências da Universidade do Porto pela ótima formação fornecida.

Aos professores do mestrado em Genética Forense pelos conhecimentos transmitidos e por despertarem ainda mais meu interesse por esta área de estudo.

Ao IPATIMUP, pela possibilidade de realizar este projeto e pelos meios disponibilizados.

A meu orientador Professor Doutor António Amorim, por aceitar a minha proposta de projeto, por aceitar me orientar, pelo auxílio na elaboração do projeto inicial, pela disponibilidade, pelas recomendações e suporte intelectual. E, como então diretor do curso, obrigada pela oportunidade de frequentar o mestrado em Genética Forense.

À minha coorientadora Doutora Leonor Gusmão, por aceitar a proposta desta pesquisa, por ajudar na elaboração do projeto inicial e pelo tempo dedicado a correções, críticas e sugestões construtivas.

À minha coorientadora Doutora Cíntia Alves, pela importante contribuição ao meu aprendizado, principalmente no trabalho laboratorial.

Ao meu coorientador Doutor Gilson Mesquita, pela colaboração na realização desta pesquisa, principalmente na fase pré-coleta.

O meu agradecimento especial é para aqueles que me acompanharam diariamente em todo o processo de realização deste projeto, desde o surgimento das primeiras ideias: meus pais Sílvia e Socorro, minha irmã Fernanda e meu namorado Rolf. Por terem me incentivado, apoiado e aconselhado em todas as decisões que tomei (e não foram poucas); pela dedicação e suporte que me deram em cada fase desta pesquisa; pelo carinho, amor e atenção com que me escutaram sempre; e pela paciência e compreensão que tiveram comigo durante todo esse processo...muito obrigada!

A todos, meu sincero reconhecimento por terem contribuído para a realização deste projeto.

RESUMO E PALAVRAS-CHAVE

A história populacional do Acre é distinta da de outras regiões do Brasil, visto ter sido a última região a ser habitada por indivíduos não indígenas, já após a fase da escravidão e grandes imigrações. Os acrianos são em sua maioria descendentes de nordestinos que migraram para a região no contexto da exploração gumífera e de grupos indígenas que aí habitavam. Atualmente as análises forenses de DNA no Acre são realizadas utilizando-se uma base de dados geral da população brasileira ou a do estado do Amapá. Com esta pesquisa objetivou-se construir uma base de dados específica para a população do Acre, através da caracterização genética de cada uma das cinco regiões do estado: Baixo Acre, Juruá, Purus, Tarauacá-Envira e Alto Acre. Também pretendeu-se comparar o Acre com outras populações, a fim de se determinar o contexto no qual a região se insere, principalmente dentro do Brasil. Para isto foram coletadas 503 amostras de sangue de acrianos não aparentados residentes em 19 dos 22 municípios do estado, desconsiderando indivíduos indígenas. Foram determinadas as frequências alélicas para 15 STRs (do inglês short tandem repeats) autossômicos contidos no kit de amplificação AmpF!STR® Identifiler® Plus (Applied Biosystems). Dois padrões trialélicos foram encontrados, um no locus TPOX (8,10,11) e outro no D18S51 (12,13,14). Com base nas frequências alélicas verificou-se que a população não apresenta desvios significativos ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg. Comparando-se as 5 regiões do estado locus a locus, com base nos valores de F_{ST} observados, verificou-se que não há diferenças significativas entre elas. Com isto, as cinco regiões foram agrupadas em uma só população e os parâmetros forenses foram calculados. O locus mais polimórfico foi o FGA e o menos polimórfico foi o TPOX. A probabilidade de exclusão e o poder de discriminação combinados foram de 99,99996% e 99,9999999999999990%, respectivamente. As distâncias genéticas de Nei calculadas entre o Acre, as cinco regiões do Brasil, países africanos e europeus e o México confirmaram que o Acre se encontra integrado no contexto brasileiro, estando mais próximo das regiões norte e nordeste. No cálculo das distâncias genéticas de Nei entre Acre, outros estados brasileiros e países fronteiriços com o Brasil observou-se que as populações da Bolívia e do Peru são as únicas com valores bastante altos, mas não se observaram grandes distâncias em relação aos outros países e estados. Também não foi encontrada correlação positiva entre as distâncias genética e geográfica entre Acre e outros estados do Brasil. Relativo à comparação desta base de dados com as outras duas usadas nos testes forenses do Acre (do Brasil e do Amapá), foram observados valores igualmente baixos de distância de Nei para os 12 loci considerados. Isto, juntamente com o fato de as três bases de dados apresentarem valores bastante semelhantes de diversidade genética, indica que todas são adequadas para os testes genéticos envolvendo indivíduos desta população, para os marcadores analisados. O cálculo das distâncias genéticas de Nei entre Acre, Brasil e as tribos indígenas Parakanã (Brasil) e Quechua (Peru) revelou que há menor distância entre as populações acriana e indígenas que entre a brasileira e as indígenas.

Palavras-chave: Acre; Brasil; Identifiler; frequências alélicas; short tandem repeats; autossômicos; genética populacional; genética forense.

ABSTRACT AND KEYWORDS

The history of Acre's population is distinct from other regions of Brazil, since it was the last region to be inhabited by non-indigenous individuals, already after the big phase of slavery and large immigration. The "Acrianos" are mostly descendants of Northeasterners who migrated to the region in the context of the rubber exploitation and indigenous groups who lived there. Currently the forensic analyses of DNA in Acre are conducted using a database of the Brazilian population or the one from state of Amapá. The aim of this research was to build a database specific to the population of Acre, through genetic characterization of each of the five regions of the state: Baixo Acre, Juruá, Purus, Tarauacá-Envira and Alto Acre. Furthermore, it was intended to compare Acre with other populations, in order to determine the context in which the region fits, mainly within Brazil. To do so, 503 blood samples were collected from unrelated "Acrianos" residents in 19 of the 22 cities of the state, disregarding indigenous individuals. Allele frequencies were determined for 15 autosomal STRs (short tandem repeats) contained in the amplification kit AmpF ℓ STR® Identifier® Plus (Applied Biosystems). Two tri-allelic patterns were found, one at the TPOX locus (8,10,11) and another at the D18S51 (12,13,14). Based on the allele frequencies, it was found that the population does not show significant deviations from the Hardy-Weinberg equilibrium. Comparing the five regions of the state locus by locus, based on observed values of F_{ST} , it was verified that there were no significant differences between them. With that, the five regions were grouped into one single population and forensic parameters were calculated accordingly. The most polymorphic locus was the FGA and the least polymorphic locus was the TPOX. The combined probabilities of exclusion and power of discrimination were 99.99996% and 99.9999999999999990%, respectively. The Nei's genetic distances calculated between Acre, the five regions of Brazil, several African and European countries and Mexico confirmed that Acre is integrated in the Brazilian context, being closest to the North and Northeast regions. In calculating the Nei's genetic distances between Acre and other states and countries bordering with Brazil, it showed that the populations of Bolivia and Peru are the only ones with very high values, for there were no large distances to other countries and states. There was also no correlation between genetic and geographic distances between Acre and other Brazilian states. Relative to the comparison of this database with the other two used in forensic testing in Acre (the Brazilian's and Amapá's ones), there was found low values of Nei's distances for the 12 loci considered. This, together with the fact that the three databases have very similar values of genetic diversity, indicates that all are suitable for genetic testing involving individuals in this population, for the markers analyzed. The calculation of Nei's genetic distance between Acre, Brazil and the indigenous groups Parakanã (Brazil) and Quechua (Peru) revealed that there less distance between the indigenous populations and Acre than between Brazilian and indigenous populations.

Keywords: Acre; Brazil; Identifier; allele frequencies; short tandem repeats; autosomal; population genetics; forensic genetics.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS.....	3
RESUMO E PALAVRAS-CHAVE.....	5
ABSTRACT AND KEYWORDS.....	7
LISTA DE TABELAS.....	11
LISTA DE FIGURAS.....	13
INTRODUÇÃO.....	15
1. O ESTADO DO ACRE.....	16
1.1. <i>Dados geográficos.....</i>	17
1.2. <i>História e formação da população do Acre.....</i>	19
1.3. <i>Os indígenas do Acre.....</i>	21
2. OS GRANDES GRUPOS FORMADORES DA POPULAÇÃO BRASILEIRA.....	23
2.1. <i>Os africanos.....</i>	23
2.2. <i>Os europeus.....</i>	24
2.3. <i>Os ameríndios.....</i>	24
3. GENÉTICA FORENSE E POPULACIONAL.....	25
3.1. <i>STRs.....</i>	25
3.1.1. Os loci STRs.....	26
3.2. <i>Bases de dados.....</i>	27
3.3. <i>Controle de qualidade.....</i>	28
3.4. <i>Genética populacional e forense no Brasil e no Acre.....</i>	29
OBJETIVOS.....	31
MATERIAL E MÉTODOS.....	33
1. COLETA E AMOSTRAGEM POPULACIONAL.....	34
2. EXTRAÇÃO DO DNA.....	36
3. AMPLIFICAÇÃO DO DNA.....	36
4. SEPARAÇÃO E GENOTIPAGEM DOS STRS.....	38
5. ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	38

RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
1. PADRÕES TRIALÉLICOS.....	42
2. ANÁLISES INTRAPOPULACIONAIS.....	44
3. ANÁLISES INTERPOPULACIONAIS.....	53
CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS.....	65
REFERÊNCIAS.....	69
ANEXOS.....	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Loci e alelos do kit AmpF ℓ STR $\text{\textcircled{R}}$ Identifiler $\text{\textcircled{R}}$ Plus.....	26
Tabela 2. Indicação do número de habitantes à época da coleta das amostras e do número de amostras coletadas em cada um dos municípios pertencentes às 5 regiões do Acre.....	35
Tabela 3. Quantidade de cada um dos reagentes utilizada em cada reação de amplificação de DNA com o kit AmpF ℓ STR $\text{\textcircled{R}}$ Identifiler $\text{\textcircled{R}}$ Plus.....	36
Tabela 4. Configurações estabelecidas no termociclador para a PCR com o kit AmpF ℓ STR $\text{\textcircled{R}}$ Identifiler $\text{\textcircled{R}}$ Plus.....	37
Tabela 5. Quantidade de cada um dos reagentes utilizada em cada reação de amplificação de DNA com o kit PowerPlex $\text{\textcircled{R}}$ 16 HS.....	37
Tabela 6. Configurações estabelecidas no termociclador para a PCR com o kit PowerPlex $\text{\textcircled{R}}$ 16 HS.....	37
Tabela 7. Frequências alélicas e parâmetros estatísticos estimados para a população do estado do Acre para os 15 marcadores STRs do kit de amplificação AmpF ℓ STR $\text{\textcircled{R}}$ Identifiler $\text{\textcircled{R}}$ Plus.....	47
Tabela 8. Valor de P para o teste exato de Equilíbrio de Hardy-Weinberg baseado em 10.000 permutações para as cinco regiões do Acre com os 15 marcadores do kit de amplificação AmpF ℓ STR $\text{\textcircled{R}}$ Identifiler $\text{\textcircled{R}}$ Plus.....	48
Tabela 9. Valores de F_{ST} na análise de comparação populacional entre as cinco regiões do Acre par a par.....	49
Tabela 10. Valores de P e erro padrão para o F_{ST} na análise de comparação populacional entre as cinco regiões do Acre par a par.....	51
Tabela 11. Valores de F_{ST} e de P e erro padrão na análise de comparação populacional entre as cinco regiões do Acre.....	52
Tabela 12. Valores de P do teste de diferenciação populacional entre as cinco regiões do Acre par a par.....	52

- Tabela 13.** Matriz da distância genética de Nei calculada entre a população do Acre e as populações brasileiras estudadas por Poiars *et. al.* (2010), além das populações do México, Espanha, Itália, Portugal, Ruanda, Moçambique, Tanzânia, Cabinda (Angola), Guiné Equatorial e Uganda.....56
- Tabela 14.** Matriz da distância genética de Nei calculada entre a população do Acre e de outros estados brasileiros e países fronteiriços com o Brasil.....59
- Tabela 15.** Matriz da distância genética de Nei calculada entre a população do Acre e as bases de dados utilizadas nos casos criminalísticos do estado do Acre, e Heterozigotias observada e esperada médias para os 12 loci considerados.....63
- Tabela 16.** Valores de F_{ST} , valor de P e erro padrão da análise de comparação populacional entre as bases de dados do Acre, do Brasil e do Amapá par a par.....63
- Tabela 17.** Matriz da distância genética de Nei calculada entre a população do Acre, uma base de dados da população brasileira e bases de dados de duas populações ameríndias.....64

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa evidenciando as regiões e estados do Brasil e países fronteiriços.....	16
Figura 2. Mapa das regiões do Acre.....	17
Figura 3. Mapa da densidade demográfica do Acre, por município.....	18
Figura 4. Mapa da geomorfologia do Acre.....	19
Figura 5. Mapa das terras indígenas acrianas.....	22
Figura 6. Mapa do Acre com indicação da quantidade de amostras coletadas em cada município.....	34
Figura 7. Partes dos eletroferogramas contendo os padrões trialélicos nos marcadores STRs D18S51 e TPOX produzidos com o uso dos kits de amplificação AmpF ℓ STR $\circledR$ Identifier $\circledR$ Plus e PowerPlex $\circledR$ 16 HS na população do estado do Acre.....	43
Figura 8. Gráfico da proporção de doadores que nasceu no local onde reside.....	45
Figura 9. Gráfico da proporção de pais dos doadores com naturalidade acriana.....	45
Figura 10. Árvore "neighbor-joining" baseada na distância genética de Nei calculada entre a população do Acre e as populações brasileiras estudadas por Poiars <i>et. al.</i> (2010), além das populações do México, Espanha, Itália, Portugal, Ruanda, Moçambique, Tanzânia, Cabinda (Angola), Guiné Equatorial e Uganda.....	54
Figura 11. Gráfico de escalonamento multidimensional (MDS) baseado na distância genética de Nei calculada entre a população do Acre e as populações brasileiras estudadas por Poiars <i>et. al.</i> (2010), além das populações do México, Espanha, Itália, Portugal, Ruanda, Moçambique, Tanzânia, Cabinda (Angola), Guiné Equatorial e Uganda.....	55
Figura 12. Gráfico da ascendência declarada pelos doadores participantes deste estudo.....	58
Figura 13. Árvore "neighbor-joining" baseada na distância genética de Nei calculada entre a população do Acre e de outros estados brasileiros e países fronteiriços com o Brasil.....	60
Figura 14. Gráfico de escalonamento multidimensional (MDS) baseado na distância genética de Nei calculada entre a população do Acre e de outros estados brasileiros e países fronteiriços com o Brasil.....	61
Figura 15. Gráfico de correlação entre distância genética de Nei e distância geográfica entre o estado do Acre e os demais estados brasileiros considerados neste estudo...	62

INTRODUÇÃO

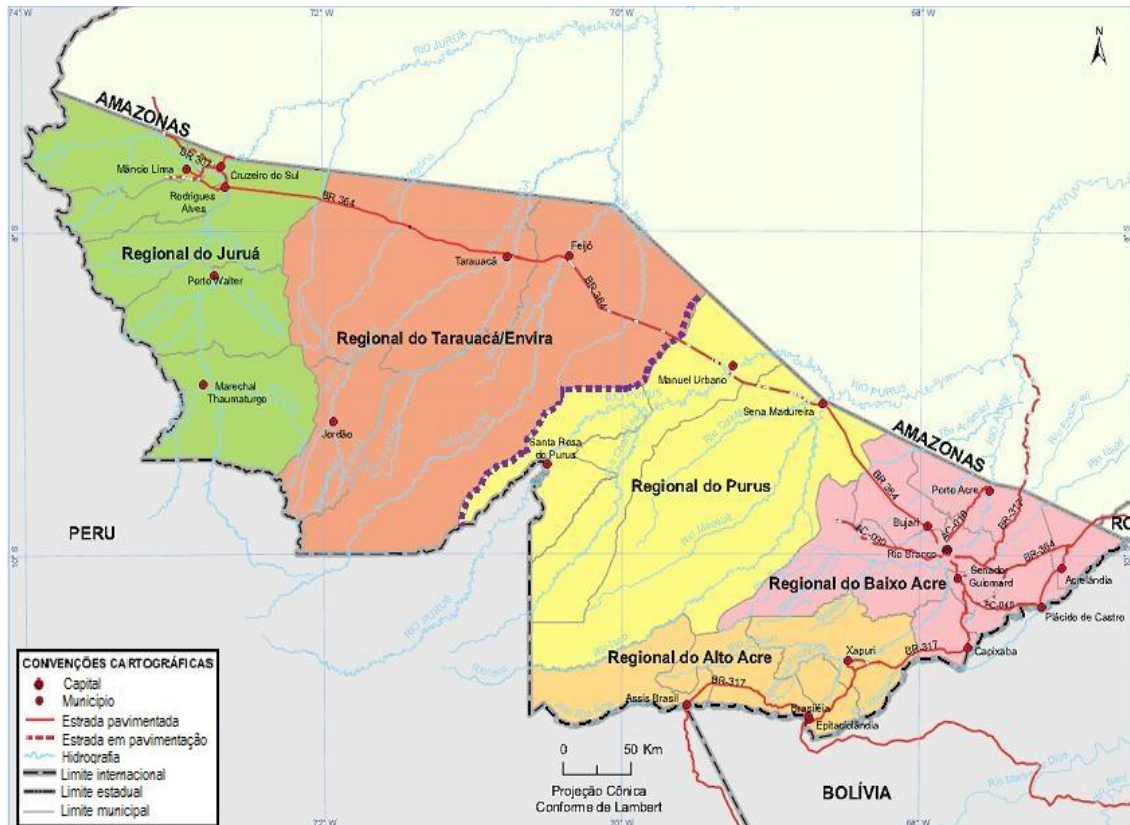


Fig. 2 - Mapa das regiões do Acre. Fonte: FUNTAC, 2008. Modificação: linha pontilhada violeta, separando as mesorregiões do Vale do Juruá (esquerda) e do Vale do Acre (direita).

Alguns municípios, como Santa Rosa do Purus, Jordão, Marechal Thaumaturgo e Porto Walter só são acessíveis de avião ou pelos rios [FUNTAC, 2008] e são, portanto, os municípios mais isolados da região.

A estrada que conecta as duas mesorregiões já foi complementada com as pontes necessárias e atualmente encontra-se em fase final de pavimentação, inclusive no trecho entre Feijó e Sena Madureira, mostrado nas figuras como não pavimentado. Com isso, espera-se que haja um aumento do fluxo de indivíduos entre essas regiões.

1.1. Dados geográficos

Foi nas margens dos rios que teve origem a maior parte das cidades e povoados acrianos [Portal do Governo do Acre]. Considerando-se que estes rios percorrem trajetos paralelos e que por muito tempo eles foram a única via de transporte existente, podemos entender como esse delineamento teve significativa influência na organização social e política do estado. A dificuldade de comunicação entre os municípios localizados em diferentes ramificações fluviais se agravava no período das secas pois, diminuindo consideravelmente o volume de água também ficava reduzida a possibilidade de

navegação. Por outro lado, esta distribuição dos rios permitiu a criação das cinco microrregiões do estado, justamente a partir dos municípios situados às margens dos grandes rios [Sant'Ana Júnior, 2004].

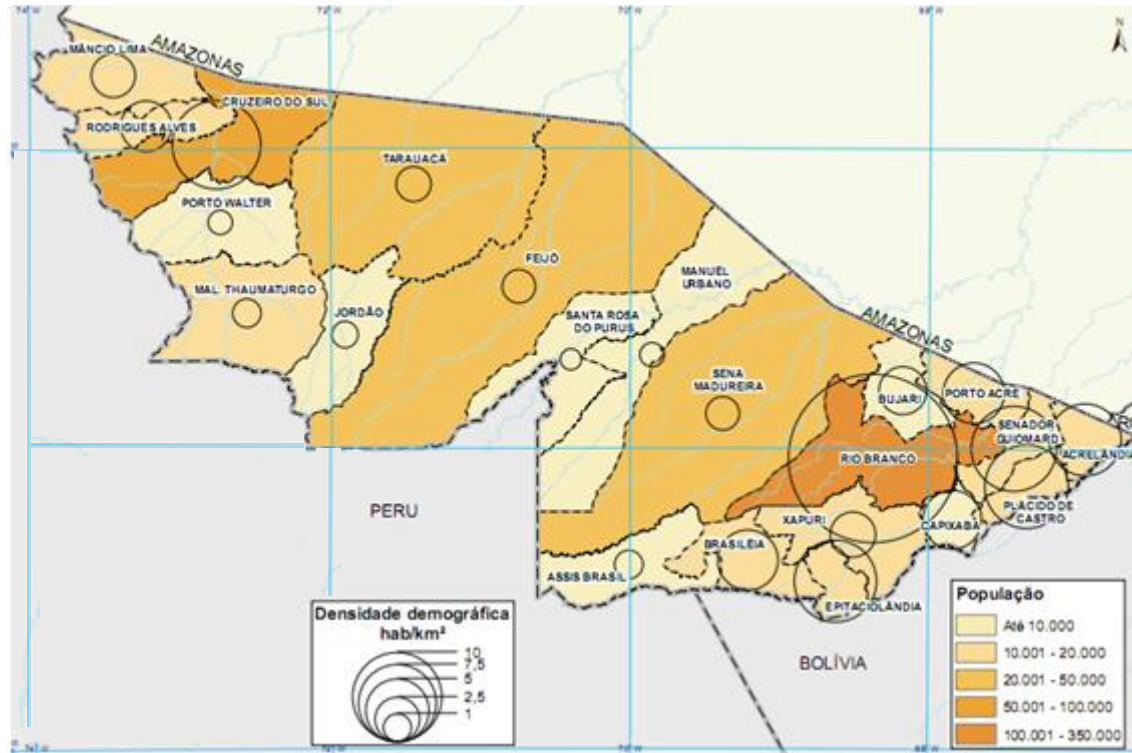


Fig. 3 - Mapa da densidade demográfica do Acre. Fonte: FUNTAC, 2008.

No território acriano há duas grandes Bacias Hidrográficas: a Bacia do Acre-Purus, cujos principais rios são o Purus e o Acre; e a Bacia do Juruá, tendo o Juruá, Tarauacá, Envira e Gregório como principais cursos d'água [Portal do Governo do Acre; Sant'Ana Júnior, 2004] (**Fig. 2**). Estes rios sinuosos correm na direção nordeste e são afluentes do rio Solimões, que a partir de Manaus é chamado de Amazonas [Portal do Governo do Acre].

O relevo do estado é caracterizado por uma extensa superfície rebaixada (Depressão Amazônica), baixos platôs (Planalto Rebaixado da Amazônia Ocidental) e por lagos e grandes áreas alagadiças (Planície Amazônica) (**Fig. 4**) [Portal do Governo do Acre]. É a região com a maior área de floresta tropical contínua intacta da Amazônia brasileira, com uma enorme biodiversidade [Sant'Ana Júnior, 2004].

O clima é equatorial quente e úmido, com uma estação seca e uma chuvosa, quando a umidade do ar pode chegar a 90%. Os índices pluviométricos variam de 1.600 a 2.700 mm/ano, e a temperatura varia geralmente entre os 24,5°C e 32°C. [Portal do Governo do Acre].

1.2. História e formação da população do Acre

A população do Acre é formada por descendentes dos grupos que formaram a sociedade brasileira, além das etnias indígenas reconhecidas e das tribos isoladas na floresta [Neves, s.d.].

Os primeiros habitantes da região eram os indígenas [Portal do Governo do Acre], até por volta da década de 70 do século XIX [Oliveira, 1982], quando houve um êxodo populacional de nordestinos para a região, no contexto da expansão da empresa extrativa de látex, matéria-prima para a borracha, que era fundamental na indústria moderna dos Estados Unidos e Europa. Junto a isso, os nordestinos também foram “expulsos” do nordeste devido à seca contínua. O elemento masculino era predominante, uma vez que o objetivo dos recrutadores era ter mão de obra para o trabalho extrativista [Ranzi, 2008]. A maioria destes imigrantes era proveniente do Ceará, e outros eram procedentes do Maranhão, Piauí, Rio Grande do Norte, Paraíba, Alagoas e Pernambuco [de Souza, 2002].

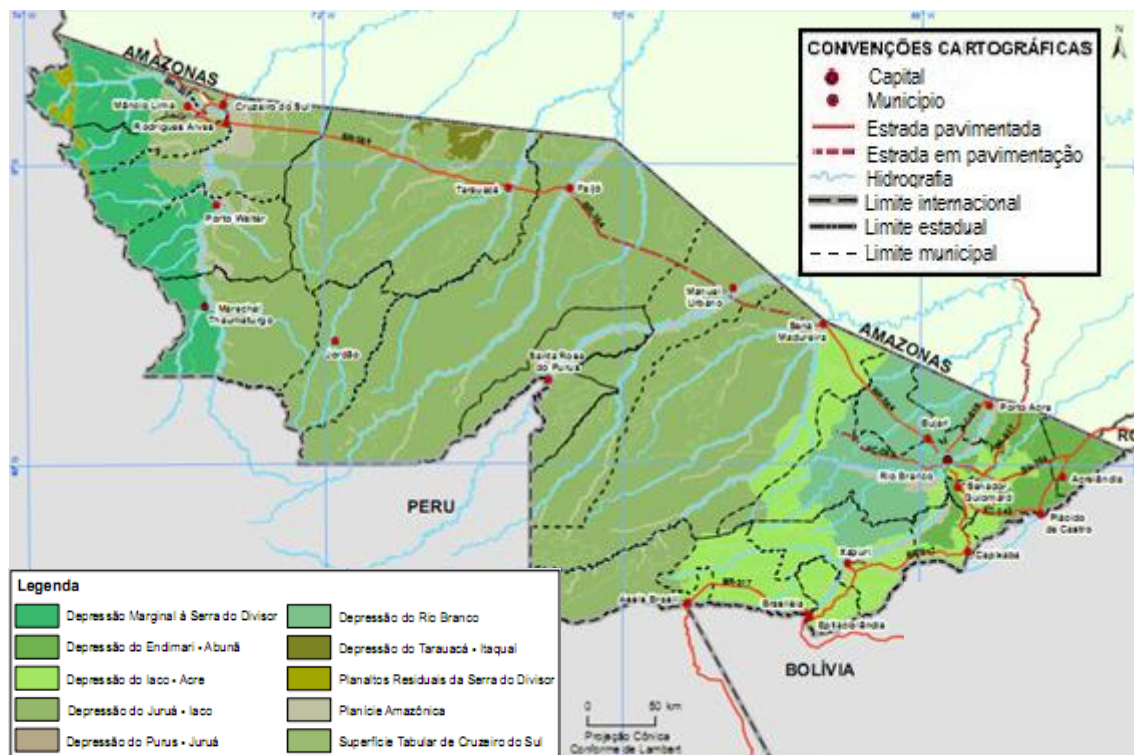


Fig. 4 - Mapa da geomorfologia do Acre. Fonte: FUNTAC, 2008.

Pouco a pouco esta região que até então pertencia à Bolívia e ao Peru, foi sendo povoada por brasileiros [Portal do Governo do Acre]. Como as árvores fonte do látex (*Hevea brasiliensis*) apresentavam-se espalhadas pela floresta, a população teve que dispersar-se [Ranzi, 2008]. Também chegaram ao Acre outros migrantes, entre eles brasileiros de outros estados, e estrangeiros: espanhóis, portugueses, alemães, sírios, libaneses, turcos,

italianos, japoneses, bolivianos, etc. [de Souza, 2002]. Embora não se tenha informação sobre o número de negros presentes no Acre nesse momento, a história da sua conquista sugere que este elemento teve uma ação limitada [Ranzi, 2008].

A migração de bolivianos para trabalharem nos seringais foi pouca. Quanto aos peruanos, estes encontravam-se na região acriana para extrair a resina do caucho (*Castilloa ulei*) [de Souza, 2002]. A extração do látex desta árvore, ao contrário da seringueira, a levava à morte, razão pela qual a presença peruana no local era ocasional, dispersa e instável [Tocantins, 1979].

Apesar das enormes dificuldades, foi estabelecida no Acre uma sociedade que vivia da floresta [Neves, s.d.]. Enquanto a região não estava efetivamente ocupada, a situação era pacífica, mas quando o mercado internacional demandou maior produção de borracha, a região foi povoada por brasileiros e começaram os grandes conflitos com o Peru e principalmente com a Bolívia acerca das questões das fronteiras e posse da região [de Souza, 2002]. Porém, em 1895, quando a Bolívia começou a proclamar a posse do Acre, os brasileiros já estavam na região há pelo menos 15 anos [Neves, s.d.].

Após muitos conflitos e negociações, o impasse foi solucionado no dia 17 de novembro de 1903, com a assinatura do Tratado de Petrópolis, através do qual o Acre tornou-se brasileiro e os limites definitivos entre Brasil e Bolívia foram demarcados [de Souza, 2002]. Segundo Reis (1940), por esse tempo havia em torno de 70.000 migrantes no Acre.

Com interesse nas riquezas locais, o Peru tentou ocupar parcialmente o Acre com seu exército. Mas, após algumas lutas e negociações, finalmente os peruanos foram convencidos a retiraram-se do território acriano e as fronteiras foram definidas com o Tratado Brasil/Peru de 8 de setembro de 1909 [de Souza, 2002].

Quando a Inglaterra resolveu cultivar borracha nos seus seringais na Ásia a partir dos anos 20, começou a crise da borracha amazônica. Com isso, a situação social se agravou e houve decadência da atividade seringalista [Sant'Ana Júnior, 2004]. Com o abandono dos seringais, surgiu a oportunidade para que parte dos seringueiros voltasse para o nordeste [de Souza, 2002].

A partir de 1942 houve reativação dos negócios da borracha [Oliveira, 1982], financiados pelos EUA durante o período da 2ª Guerra Mundial, quando o Japão dominou os seringais de cultivo asiáticos [Sant'Ana Júnior, 2004]. Durante os três anos seguintes, o Acre tornou-se novamente o grande fornecedor de látex. Neste período, conhecido como a "Batalha da Borracha", milhares de nordestinos se dirigiram para o Acre, repovoando os seringais [de Souza, 2002].

O resultado disso foi o crescimento demográfico, pois estima-se que pelo menos 25.000 nordestinos migraram para o Acre [Oliveira, 1982]. A maioria deles era da zona

sertaneja do Ceará, complementados por indivíduos da Paraíba, Rio Grande do Norte e Pernambuco [Ranzi, 2008].

Após a II Grande Guerra, a economia da borracha vai entrar novamente em crise, o sistema de produção se desarticula e o poder da classe dos seringalistas entra em decadência. Com isso, os trabalhadores têm condições para começar a produzir mais livremente e constituir suas famílias, possibilitando a formação de uma população propriamente acriana. [Oliveira, 1982].

No início da década de 1970, o Brasil possuía uma nova diretriz governamental que objetivava o progresso econômico da Amazônia, impulsionando uma nova ocupação da região [Neves, s.d.]. No Acre, o resultado mais evidente foi a chegada de novos investidores que vinham do sul do país para comprar terras visando implantar especialmente a atividade pecuária [de Souza, 2002].

Com isso, muitas áreas onde viviam os índios, seringueiros, ribeirinhos e colonos foram sendo ocupadas pela nova exploração econômica e essas populações foram migrando para as cidades. Desta maneira, milhares de famílias instalaram-se na periferia urbana, dando origem aos primeiros bairros populares [Neves, s.d.]. Nesta década, também migraram para o Acre muitos trabalhadores rurais oriundos do centro-sul do Brasil [de Souza, 2002]. A partir de 1975 as populações da floresta começaram a resistir de forma organizada, até que, por fim, tiveram suas terras demarcadas [Neves, s.d.].

Do ponto de vista da formação populacional, o Acre apresenta, quantitativamente, uma situação singular em relação aos padrões verificados em outras regiões brasileiras, pois a miscigenação português-índio, português-negro e índio-nordestino foi muito reduzida [Ranzi, 2008].

Em 2010, a população residente no Acre foi estimada em 733.559 indivíduos, dos quais 50,21% são homens e 49,79% são mulheres [Governo do Estado do Acre] representando cerca de 0,38% da população brasileira. Do total de habitantes, 10,72% não são naturais deste estado [IBGE]. Neste mesmo ano, a taxa de urbanização da população do Acre foi estimada em 72,56% [Governo do Estado do Acre]. É uma população subestruturada, considerando que há muitos indígenas que, isolados ou não, vivem em suas tribos.

1.3. Os indígenas do Acre

Segundo o parágrafo I do art. 3º da lei nº 6.001 de 19 de dezembro de 1973, que dispõe sobre o estatuto do índio [FUNAI]:

“Índio ou Silvícola - É todo indivíduo de origem e ascendência pré-colombiana que se identifica e é identificado como pertencente a um grupo étnico cujas características culturais o distinguem da sociedade nacional”.

Por ocasião do primeiro movimento de imigração vindo do nordeste do Brasil ao final do século XIX, a população indígena do Acre é estimada em 150 mil indivíduos, pertencentes a aproximadamente 50 diferentes etnias [de Souza, 2002; Sant’Ana Júnior, 2004].

Grande parte destes indígenas morreu assassinada pelos novos imigrantes ou por caucheiros peruanos e soldados bolivianos [de Souza, 2002], mas muitos foram vítimas de doenças trazidas pelos invasores [Sant’Ana Júnior, 2004]. Sendo geralmente solteiros, os imigrantes em geral matavam/expulsavam os homens e raptavam as mulheres e crianças para o serviço doméstico ou para tornarem-se suas esposas [Sant’Ana Júnior, 2004].

Atualmente a população indígena acriana é bastante variada, sendo composta por etnias da família linguística Aruak, originária da Amazônia, da família Pano, originária dos Andes, e alguns poucos da família Arawá [Portal do Governo do Acre]. Muitos migraram para o Acre fugindo da perseguição espanhola, entrando pelos rios Juruá e Purus pelo menos desde 1640 [de Souza, 2002].

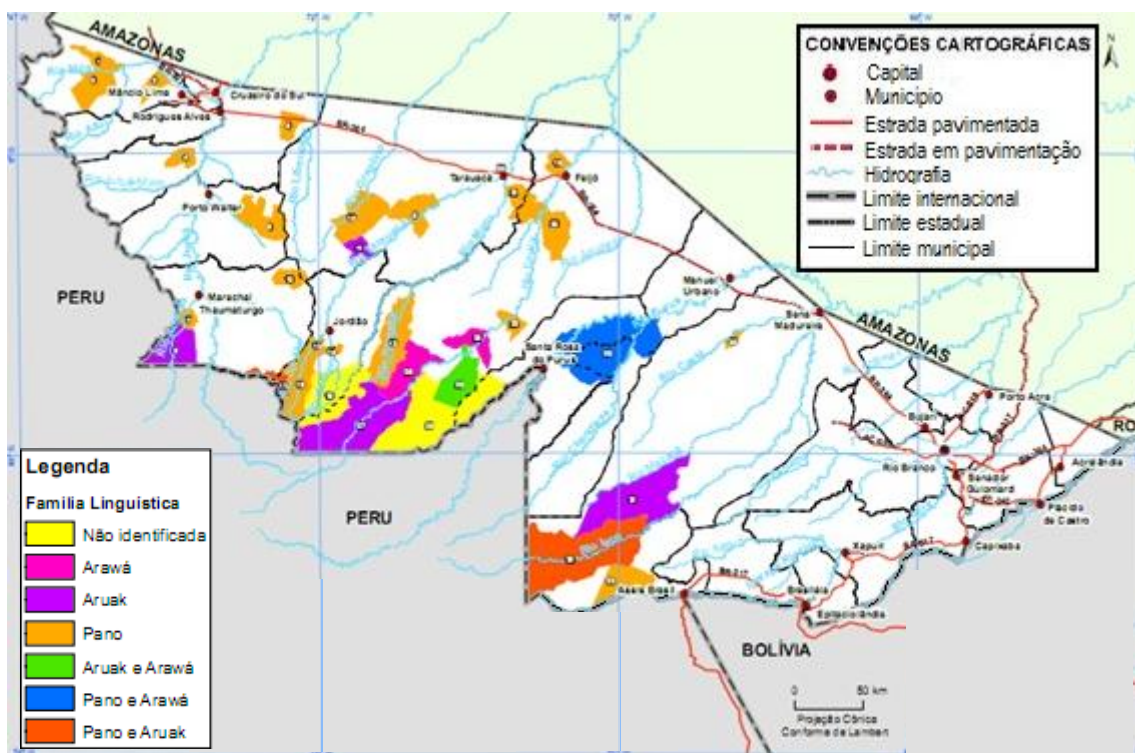


Fig. 5 - Mapa das terras indígenas acrianas. Fonte: FUNTAC, 2008.

A hipótese de que os grupos Aruak dominavam a região antes da chegada dos grupos Pano, que eram fugitivos da invasão espanhola no Peru e acabaram por dominar a

região do Juruá, é a mais aceita sobre a ocupação indígena do Acre [Sant'Ana Júnior, 2004].

Hoje há no Acre 14 etnias indígenas reconhecidas, e grupos de índios isolados que vivem na floresta [Neves, s.d.]. A maioria dos 17.578 indivíduos [IBGE] (2,4% da população acriana) vive em Feijó, Jordão e Santa Rosa do Purus, e estão organizados em 305 aldeias [Governo do Estado do Acre].

As terras indígenas compreendem uma área de 2.390.112 hectares (14,55% do território acriano) (**Fig.5**). Em torno de 4 mil indígenas vivem nas cidades, cerca de 600 a mil vivem isolados e o restante vive em terras indígenas demarcadas. Estima-se que os isolados habitam o território há 5 mil anos [FUNTAC, 2008; Governo do Estado do Acre].

2. OS GRANDES GRUPOS FORMADORES DA POPULAÇÃO BRASILEIRA

Visto que em estudos populacionais interessa saber sobre os povos que deram origem à população em questão, e sabendo-se que a população acriana foi formada pela mistura de ameríndios locais com imigrantes originários de várias regiões do Brasil, principalmente a nordestina, se faz aqui interessante abordar a formação da população brasileira.

2.1. *Os africanos*

Desde o início do século XVI, após a chegada dos portugueses, até meados do XIX, o Brasil recebeu cerca de quatro milhões de africanos no período do tráfico de escravos. Depois de 1800, o Brasil ainda foi destino de cerca de dois terços dos 2,9 milhões de africanos que partiram para as Américas [Klein, 2002; Pena, 2002].

Estes indivíduos eram majoritariamente homens e originários de todas as principais regiões do ocidente, oriente e sudoeste africanos, além da região de Moçambique, porém, estima-se que mais de dois terços desses escravos era proveniente da região do Congo e Angola, seguido de Costa da Mina (atual Golfo da Guiné). Cabe ressaltar que estes escravos não foram uniformemente distribuídos pelo país, mostrando variações regionais acentuadas. Na região Nordeste, por exemplo, a maioria dos escravos veio da costa da África Central, da região da Senegâmbia até a Baía de Biafra [Pena, 2002].

2.2. Os europeus

A partir da metade do século XIX, chegaram ao Brasil muitos novos imigrantes, em sua maioria portugueses e italianos, mas também espanhóis, alemães, japoneses e sírio-libaneses. Esta contribuição foi basicamente masculina, o que explica o fato de a maioria das matrilineagens em brasileiros brancos ser ameríndia e africana [Pena, 2002].

2.3. Os ameríndios

A história da ocupação pioneira da América do Sul ainda permanece enigmática. Porém, alguns estudos sugerem rotas de entrada no subcontinente, baseados em análises de vestígios genéticos e arqueológicos.

Rothhammer e Dillehay (2009) revisaram muitos destes estudos e sua conclusão favorece a hipótese de que os primeiros habitantes deste subcontinente entraram pela Colômbia e se dividiram em três rotas: uma rumo ao nordeste brasileiro pela costa caribenha, outra em direção à Amazônia pelo interior da Venezuela e a terceira pelos Andes em direção ao sul. Esta última teria se dividido em duas, uma seguindo pela costa do Pacífico e a outra pelas montanhas andinas.

Muitos estudos têm sido realizados com o intuito de compreender a relação entre os diversos grupos ameríndios espalhados atualmente pela América do Sul. Estes estudos foram feitos por meio de diversas análises [Rothhammer e Silva, 1989; Salzano e Callegari-Jacques, 1988; Salzano *et al.*, 1997; Rothhammer *et al.*, 1997; Callegari-Jacques *et al.*, 2007; Jr Lewis *et al.*, 2007], porém, apesar do esforço, ainda não se chegou a um consenso sobre a relação de proximidade entre essas populações.

O estudo mais recente e abrangente foi realizado por Callegari-Jacques *et al.* (2011), com marcadores STRs (short tandem repeats) autossômicos em nativos da América do Sul. Sua conclusão sugere que estas populações podem ser agrupadas em três grandes grupos, de acordo com a área geográfica: Andes, Amazônia e Sudoeste do subcontinente.

No Brasil, apesar de não haver um consenso, estimativas sugerem que no início da colonização portuguesa esta região era habitada por um grande contingente populacional indígena, com centenas de grupos sociais diferentes [Cunha, 1992]. Estima-se que havia de um a dez milhões de indivíduos na região, mas muitas das sociedades indígenas foram extintas no processo de colonização [FUNAI].

Atualmente, apenas uma fração deste contingente está presente no país (em torno de 800.000 pessoas), com cerca de 220 povos indígenas, que falam 180 línguas (exceto língua dos isolados), pertencendo a mais de 30 famílias linguísticas diferentes [FUNAI].

Tendo em conta o que foi discutido sobre a formação da população brasileira, conclui-se que é uma das mais heterogêneas do mundo. Mas o processo de mistura deu-se de maneira diferente por todo o país. No nordeste do Brasil é alta a contribuição africana, mas o componente ameríndio é escasso; no norte há muita contribuição ameríndia; e no sul há pouca influência ameríndia e africana [Francez *et al.*, 2012].

3. GENÉTICA FORENSE E POPULACIONAL

Este capítulo está focado na genética humana, visto que o que está em estudo é uma população humana.

A genética forense trata principalmente de transmitir a informação resultante da comparação genética de amostras recolhidas de uma cena de crime com amostras referência de suspeitos e vítimas, para informação em inquérito. Também pode envolver teste de parentesco e identificação de restos humanos [Goodwin *et al.*, 2007].

A genética populacional compreende o estudo da variação genética herdável dentro das populações e entre os diferentes grupos populacionais, tendo em consideração a interação entre eles e as consequências das diversas forças que operam sobre eles [Griffiths *et al.*, 2008].

A partir de 1986, com a descrição da PCR (reação em cadeia da polimerase), houve grande desenvolvimento dessas áreas, pois tornava-se possível fazer milhões de cópias de um segmento específico de DNA (ácido desoxirribonucléico) em um curto espaço de tempo [Butler, 2005].

Os marcadores autossômicos são os mais amplamente usados na genética populacional e principalmente na forense, por serem diplóides e recombinantes, resultando numa alta diversidade interindividual. Diversos tipos de marcadores são utilizados, como os minissatélites, indels, SNPs (do inglês single nucleotide polymorphism) e STRs.

3.1. STRs

Embora haja tantas opções para as análises em estudos forenses e populacionais, são os microssatélites os mais conhecidos e utilizados. Estes são adequados para análise de DNA forense degradado ou com quantidade limitada. Além disso, são bastante polimórficos e abundantes no genoma humano [Tamaki & Jeffreys, 2005].

Também chamados de STRs ou SSRs (repetições de sequência simples), consistem em unidades de repetição de 1 a 6 pares de bases [Jobling *et al.*, 2004] repetidas geralmente entre 5 a 30 vezes [Tamaki & Jeffreys, 2005].

A sua taxa de mutação é estimada entre 10^{-3} e 10^{-4} por locus por geração [Jobling *et al.*, 2004], ocorrendo na maioria (>85%) o acréscimo ou decréscimo de uma única unidade repetitiva [Brinkmann *et al.*, 1998; Xu *et al.*, 2000]. A análise de STRs apresenta uma maior sensibilidade em relação a outros marcadores, com atribuição exata dos alelos [Tamaki & Jeffreys, 2005].

Já estão disponíveis mais de mil artigos sobre frequências alélicas de STRs em vários grupos populacionais pelo mundo [Butler, 2006]. Em geral, o que se observa é que a distribuição das frequências alélicas dos microssatélites utilizados na identificação humana é pouco discrepante entre as populações [Ruitberg *et al.*, 2001].

3.1.1. Os loci STRs

Há quase 20 anos que o emprego de loci STRs tem-se mostrado útil na genética forense. A utilização de kits comerciais de qualidade permite a amplificação destes loci a partir de pequenas quantidades de DNA molde [Butler, 2006]. Estes sistemas apresentam probabilidade de coincidência entre indivíduos muito baixa e são altamente sensíveis [Tamaki & Jeffreys, 2005].

Tabela 1
Loci e alelos do kit AmpF[®]STR[®] Identifier[®] Plus. Fonte: Applied Biosystems, 2009-2011

Locus	Localização cromossômica	Alelos incluídos na escada alélica do Identifier [®] Plus	Fluorocromo	Controle 9947A
D8S1179	8	8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19	6-FAM [™]	13
D21S11	21q11.2-q21	24, 24.2, 25, 26, 27, 28, 28.2, 29, 29.2, 30, 30.2, 31, 31.2, 32, 32.2, 33, 33.2, 34, 34.2, 35, 35.2, 36, 37, 38		30
D7S820	7q11.21-22	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15		10, 11
CSF1PO	5q33.3-34	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15		10, 12
D3S1358	3p	12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19	VIC [®]	14, 15
TH01	11p15.5	4, 5, 6, 7, 8, 9, 9.3, 10, 11, 13.3		8, 9.3
D13S317	13q22-31	8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15		11
D16S539	16q24-qter	5, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15		11, 12
D2S1338	2q35-37.1	15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28	NED [™]	19, 23
D19S433	19q12-13.1	9, 10, 11, 12, 12.2, 13, 13.2, 14, 14.2, 15, 15.2, 16, 16.2, 17, 17.2		14, 15
vWA	12p12-pter	11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24		17, 18
TPOX	2p23-2per	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13		8
D18S51	18q21.3	7, 9, 10, 10.2, 11, 12, 13, 13.2, 14, 14.2, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27	PET [®]	15, 19
Amelogenin	X: p22.1-22.3 Y: p11.2	X, Y		X
D5S818	5q21-31	7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16		11
FGA	4q28	17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 26.2, 27, 28, 29, 30, 30.2, 31.2, 32.2, 33.2, 42.2, 43.2, 44.2, 45.2, 46.2, 47.2, 48.2, 50.2, 51.2		23, 24

O kit de amplificação AmpF ℓ STR® Identifiler® Plus (Applied Biosystem, Foster City, CA, USA), empregado no presente trabalho, usa os 13 STRs do CODIS (sistema de índice de DNA combinado) do FBI (Federal Bureau of Investigation), mais os loci D2S1338 e D19S433 e a Amelogenina, que permite tipar o sexo do indivíduo (**Tabela 1**). Os dois marcadores extra aumentam o poder de discriminação. Estes 15 loci mais a Amelogenina têm sido amplamente caracterizados por diversos laboratórios [Applied Biosystems, 2009-2011]. Os 13 loci do CODIS foram selecionados em virtude de não estarem localizados em regiões codificantes ou associados à suscetibilidade para o desenvolvimento de doenças.

Todos os loci utilizados no kit possuem motivos de repetição tetranucleotídicos, a fim de reduzir a incidência de *stutters*. Além disso, são altamente polimórficos, ou seja, contêm muitas variantes alélicas [Tamaki & Jeffreys, 2005]. O número de alelos observados varia entre 15 (TPOX e D5S818) e 89 (D21S11) [Butler, 2006].

Com exceção do CSF1PO e D5S818 (cromossomo 5) e do D2S1338 e TPOX (cromossomo 2), os marcadores do kit estão localizados em cromossomos diferentes (**Tabela 1**) e, portanto, segregam independentemente. Se a independência entre alelos e loci pode ser demonstrada, pode-se usar a regra do produto no cálculo da probabilidade de coincidência [National Research Council, 1996], que tem sido descrita em casos forenses como 1 em 5 trilhões ou mais [Butler, 2005].

3.2. Bases de dados

Atualmente, cada vez mais tem-se recorrido às análises de DNA como ferramenta auxiliar ou até mesmo principal na elucidação de casos forenses envolvendo crimes ou questões de parentesco, e também na identificação de indivíduos em casos de acidentes fatais de grandes proporções. Para que esse tipo de trabalho seja realizado de maneira confiável, estudos prévios devem ser realizados nas diversas populações, e bases de dados devem ser geradas.

As bases de dados de STRs apresentam-se de duas maneiras: identificadas ou não identificadas (anônimas). As que possuem identificação do doador são criadas com o objetivo de buscar por desaparecidos, para identificação civil (confirmação de vínculos parentais), no âmbito da política de imigração ou para investigação criminal. As não identificadas, como a do presente trabalho, servem para a pesquisa (estudos populacionais) e também para fins criminais, sendo utilizadas para os cálculos estatísticos necessários na elaboração de um laudo forense na população em questão.

A primeira base de dados nacional para fins de persecução criminal a ser criada foi a NDNAD (do inglês national DNA database) em 1995, no Reino Unido. Impulsionados pelo sucesso obtido no Reino Unido, foi criado o CODIS, no laboratório do FBI [Butler, 2006]. A

partir daí, surgiram muitas outras em vários países, cada uma com sua própria legislação no que diz respeito às razões para se obter um perfil de DNA, quando este deve ser eliminado, se deve ser guardado após a análise e que loci STR devem ser utilizados [Goodwin *et al.*, 2007].

Estas bases de dados de perfis genéticos têm permitido associar evidências de cenas de crimes com os criminosos com maior eficácia, além de permitirem cruzar perfis de diferentes lugares do país, com o propósito de associar casos não resolvidos, o que se mostra bastante útil já que a maioria dos crimes é cometida por reincidentes [Butler, 2005]. A partilha de dados entre laboratórios se faz possível graças à utilização de um conjunto de STRs uniforme [Butler, 2006].

As bases de dados não identificáveis são muito numerosas por todo o mundo, permitindo fazer comparações entre as diferentes populações. Geralmente contêm mais que 100 indivíduos não relacionados por grupo populacional. Uma base de dados ideal deveria informar a etnia dos indivíduos [Butler, 2005].

Após a criação de uma base de dados anônima, esta deve ser validada antes de ser utilizada para estimar a frequência de um perfil de DNA. Isto se faz por meio da verificação de independência entre os alelos (teste do equilíbrio de Hardy-Weinberg) e entre os loci (teste de equilíbrio de ligação) [Butler, 2005].

Além disso, para quantificar a diversidade genética e para avaliar a utilidade de cada locus STR na base de dados se calculam os parâmetros forenses para cada locus. Estas medidas incluem a Heterozigotia (H), a Probabilidade de Coincidência (PC), a Probabilidade de Exclusão (PE), o Poder de Discriminação (PD) e o Conteúdo Informativo de Polimorfismo (PIC) [Butler, 2005]. Estes parâmetros, assim como os testes de validação, são calculados com base nas frequências alélicas.

3.2.1. Controle de qualidade

Já há algum tempo que foi reconhecida a importância do controle de qualidade dos laboratórios que trabalham com DNA. Afinal, o resultado dos testes pode levar um indivíduo a ser acusado de um crime. Para isso, foram criadas organizações que atuam local, nacional ou internacionalmente, recomendando medidas de controle bem como supervisionando a garantia de qualidade dos laboratórios [Butler, 2005].

Na América Latina, por exemplo, quem atende às necessidades dos laboratórios e instituições é o Grupo de Línguas Espanhola e Portuguesa da Sociedade Internacional para a Genética Forense (GHEP-ISFG), que foi criado em 1995 [GHEP-ISFG] e o Grupo Iberoamericano de Trabalho em Análises de DNA (GITAD), que foi organizado em 1998 [Butler, 2005].

Além deste controle pelas organizações, os laboratórios de DNA realizam testes de validação interna, além de testes interlaboratoriais, onde podem demonstrar que as técnicas utilizadas em um laboratório são reprodutíveis nos outros, indicando consistência nos seus resultados. Estes testes são essenciais entre laboratórios que contribuem com perfis de DNA para bases de dados comuns [Butler, 2005].

Em suma, a avaliação e acreditação de indivíduos e laboratórios com níveis altos de controle de qualidade e padronização, juntamente com os avanços tecnológicos, tem levado a que a genética forense seja hoje reconhecida como uma ferramenta de identificação confiável e robusta [Goodwin *et al.*, 2007].

3.3. *Genética populacional e forense no Brasil e no Acre*

O Brasil apresentou significativa expansão na área da genética a partir da década de 1950, devido principalmente à estabilização de um sistema universitário e o treinamento de cientistas no exterior [Glick, 1994]. No que diz respeito à genética de populações humanas, os estudos sobre dinâmica gênica derivada da mistura das principais populações formadoras (ameríndia, africana e europeia) é um ramo que vem sendo amplamente estudado desde a segunda metade do século XX [Pena, 2002], pois é um país interessante tendo em vista a sua história de colonização.

Resultados das análises do cromossomo Y na população brasileira mostram uma origem majoritariamente europeia; já os estudos com DNA mitocondrial variam bastante em cada região, apontando para uma maioria ameríndia, na região Norte, africana no Nordeste e europeia no Sul [Pena, 2002], o que reflete o processo de colonização diferenciado do país a partir do século XVI.

No que diz respeito à genética forense, vários estados brasileiros já possuem uma base de dados própria [da Silva *et al.*, 2002; Francez *et al.*, 2011; Nascimento *et al.*, 2011; Rodrigues *et al.*, 2007; Wolfgramm *et al.*, 2011; Godinho, 2008; Silva *et al.*, 2010; Ferreira *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2004; del Castillo *et al.*, 2009; Gomes *et al.*, 2007; Poiares *et al.*, 2009; Dellalibera *et al.*, 2004; Rodrigues *et al.*, 2009; da Silva *et al.*, 2003; Chula *et al.*, 2009; Ocampos *et al.*, 2009; São-Bento *et al.*, 2008; Pimentel *et al.*, 2004; Tucunduva Netto *et al.*, 2008], além de já haverem algumas bases de dados gerais da população brasileira, que também são usadas como referência para análises e para pesquisa [Grattapaglia *et al.*, 2001; Poiares *et al.*, 2010; Aguiar *et al.*, 2011], embora muitas delas sejam restritas a um baixo número de indivíduos ou considerem poucos loci.

No Brasil, o DNA começou a ser empregado na prática forense em 1994, em análises de homicídios, paternidade e buscas por parentes desaparecidos no regime militar. A intensificação do uso do DNA em questões forenses fez com que se buscasse pela

criação de uma lei que considerasse o perfil de DNA como identificação criminal [Schiocchet, 2012].

Em maio de 2012 foi finalmente sancionada a Lei Nº 12.654, que ainda aguarda regulamentação por decreto do poder executivo. Esta lei prevê a coleta de material biológico para a obtenção do perfil genético como forma de identificação criminal e cria o banco de dados de DNA criminal no país, que entrará em vigor até novembro de 2012 [Presidência da República Federativa do Brasil].

De acordo com esta lei, os perfis para o banco de dados serão de indivíduos condenados por crimes hediondos e crimes dolosos praticados com violência de natureza grave contra a pessoa, identificados e armazenados de maneira sigilosa. A retirada de perfis deste banco de dados se dará quando da prescrição do delito [Presidência da República Federativa do Brasil]. Até que esta lei entre em vigor, apenas amostras questionadas estão sendo armazenadas no banco de dados [Comunicação pessoal Paulo Raimann].

Um banco nacional de perfis genéticos, com sede em Brasília, permitirá a identificação de criminosos que atuem em mais de um estado, pois em princípio conterá informação dos 15 estados que já possuem os requisitos exigidos (qualificação profissional, infraestrutura de laboratório, experiência, procedimentos técnicos e de controle de qualidade) [Correio do Povo].

Este banco de dados da Polícia Federal será criado com o CODIS, programa de gerenciamento de perfis genéticos usado pelo FBI e adotado por mais de trinta países. A troca de informações também será feita entre bancos internacionais por intermédio da Interpol [Globo TV; Correio do Povo]. Os perfis genéticos serão gerados por meio de amplificação do DNA com kits AmpF!STR® Identifiler® [Comunicação pessoal Paulo Raimann].

No Acre, o Instituto de Criminalística da Polícia Federal foi recentemente equipado, e o grupo está em treinamento para que as análises possam ser realizadas no local. Por ainda não possuir todos os requisitos necessários, o Acre por enquanto não terá participação no banco de dados nacional. Até o momento as análises de DNA forense são realizadas fora do estado, com base de dados geral da população brasileira ou local do estado do Amapá [Comunicação pessoal Pablo Francez].

Considerando que os alelos podem ter frequências diferentes nas diversas populações, as bases de dados são geralmente elaboradas por região geográfica [Huston, 1998]. E visto que o Acre, assim como outros estados brasileiros, possui uma história de ocupação peculiar, seria conveniente ter sua própria base de dados genética.

OBJETIVOS

Até o presente ainda não existe para a população do estado do Acre nenhum estudo de genética populacional humana. Com esta pesquisa se objetiva construir uma base de dados para testes de identificação criminal, testes de vínculo genético e de identificação pessoal (de desaparecidos, cadáveres ou partes de cadáver) específica para esta população, através da caracterização genética de cada região do estado do Acre. Também se pretende ir um pouco mais além da caracterização populacional, comparando o Acre com outras populações, a fim de se verificar o contexto no qual a região se insere, principalmente dentro do Brasil. Para que se concretizasse este objetivo, foram definidas as seguintes etapas:

- Para as cinco regiões do estado (Baixo Acre, Juruá, Purus, Tarauacá-Envira e Alto Acre), analisar uma amostra de indivíduos não aparentados para os 15 loci de STRs autossômicos contidos no kit AmpFISTR® Identifier® Plus (D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818 e FGA);
- Verificar se as distribuições dos genótipos em cada região estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg;
- Verificar se há diferenças significativas entre as 5 regiões estudadas do estado do Acre;
- Avaliar os índices de diversidade e o poder informativo, através de parâmetros forenses típicos, para os 15 loci de STR;
- Analisar comparativamente os resultados obtidos com os de estudos realizados em outras populações brasileiras e de países fronteiriços;
- Analisar comparativamente os resultados obtidos com os de estudos realizados em populações europeias, africanas e ameríndias;
- Comparar a base de dados elaborada neste trabalho com as duas bases de dados atualmente usadas nos casos forenses do Acre, correspondentes à população brasileira em geral e à população do estado do Amapá.

MATERIAL E MÉTODOS

1. COLETA E AMOSTRAGEM POPULACIONAL

O material biológico coletado foi sangue periférico (100 a 200µl), através da punção de um dos dedos da mão com lanceta. O sangue foi recolhido e armazenado em papel Whatman FTA.

As amostras utilizadas para este estudo foram coletadas nas 5 regiões do estado do Acre, com a seguinte distribuição (**Fig. 6 e Tabela 2**):

- 151 na região do Baixo Acre: 101 de Rio Branco (capital), 9 de Porto Acre, 9 de Plácido de Castro, 8 de Acrelândia, 8 de Bujari, 8 de Senador Guiomard e 8 de Capixaba.
- 110 na região do Juruá: 76 de Cruzeiro do Sul, 20 de Mâncio Lima e 14 de Rodrigues Alves.
- 82 na região do Purus: 61 em Sena Madureira e 21 em Manoel Urbano.
- 80 na região do Tarauacá-Envira: 40 em Tarauacá, 39 em Feijó e 1 em Jordão.
- 80 na região do Alto Acre: 25 em Xapuri, 24 em Brasiléia, 19 em Eptaciolândia e 12 em Assis Brasil.

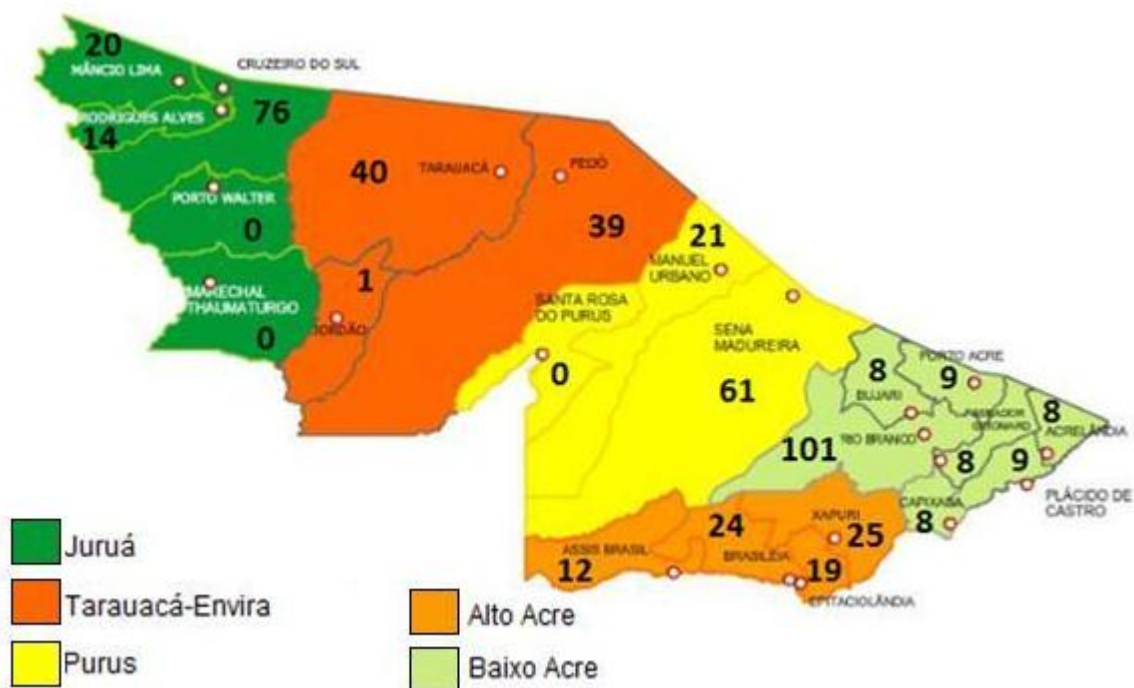


Fig. 6. Mapa do Acre com indicação da quantidade de amostras coletadas em cada município. Adaptado de As Novidades.

No total foram coletadas 503 amostras compostas por 266 mulheres (52.9%) e 237 homens (47.1%), com idades entre 18 e 70 anos. O critério para a coleta foi aleatório, considerando apenas indivíduos não aparentados com idade superior a 18 anos, com plena capacidade de auto determinação, nascidos no Acre e com residência fixa no estado. Os indivíduos pertencentes a grupos indígenas não foram considerados por encontrarem-se sob proteção especial.

Todos os voluntários foram esclarecidos verbalmente sobre os objetivos da pesquisa e metodologia de coleta, e assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (**Anexos**). Em paralelo à coleta do material biológico, foram registrados na ficha de identificação (**Anexos**) dados pessoais como idade, sexo, naturalidade, naturalidade dos pais, naturalidade dos avós, ascendência e município de residência.

Tabela 2

Indicação do número de habitantes à época da coleta das amostras e do número de amostras coletadas em cada um dos municípios pertencentes às 5 regiões do Acre

Regional	Município	Núm. de Habitantes (Fonte: IBGE)	Núm. de amostras
Baixo Acre	Rio Branco	336.038	101
	Porto Acre	14.880	9
	Plácido de Castro	17.209	9
	Acrelândia	12.538	8
	Bujari	8.471	8
	Senador Guiomard	20.179	8
	Capixaba	8.798	8
Juruá	Cruzeiro do Sul	78.507	76
	Mâncio Lima	15.206	20
	Rodrigues Alves	14.389	14
	Porto Walter	9.176	0
	Marechal Thaumaturgo	14.227	0
Purus	Sena Madureira	38.029	61
	Manoel Urbano	7.981	21
	Santa Rosa do Purus	4.691	0
Tarauacá/Envira	Tarauacá	35.590	40
	Feijó	32.412	39
	Jordão	6.577	1
Alto Acre	Xapuri	16.091	25
	Brasiléia	21.398	24
	Epitaciolândia	15.100	19
	Assis Brasil	6.072	12
TOTAL	22	733.559	503

Os indivíduos foram agrupados de acordo com o município onde possuem residência fixa, pois muitos nasceram em outro município por não haver condições hospitalares na

cidade de origem (informação dada pelos próprios voluntários). A coleta e a utilização do material para os objetivos definidos neste trabalho foram aprovadas pela Comissão de Ética da Universidade do Porto (CEUP), pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Acre (CEP-UFAC) e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa do Brasil (CONEP) (**Anexos**).

2. EXTRAÇÃO DO DNA

O DNA foi extraído da mancha de sangue no cartão FTA pela técnica de extração por Chelex, após adaptações feitas ao método descrito por Lareu *et al.* (1994). Esta técnica compreende os seguintes passos:

1. Cortar um quadrado com cerca de 3 mm x 3 mm para um tubo de 1,5 ml;
2. Adicionar 1 ml de água ultrapura e incubar durante 30 minutos à temperatura ambiente, agitando de vez em quando no vortex ou manualmente;
3. Centrifugar a 18620 xg durante 4 minutos e descartar quase todo o sobrenadante;
4. Adicionar 200 µl da resina Chelex 100 (200-400 *mesh*, solução a 5%) e agitar os tubos no vortex;
5. Incubar a 100°C durante 8 minutos;
6. Agitar cada tubo no vortex e centrifugar a 18620 xg durante 4 minutos.

3. AMPLIFICAÇÃO DO DNA

Esta etapa foi realizada usando o kit AmpF ℓ STR® Identifiler® Plus, seguindo o protocolo do fabricante, ajustando o volume final para 10 µl. A **Tabela 3** mostra o volume dos reagentes na mistura para a reação de amplificação.

Tabela 3
Quantidade de cada um dos reagentes utilizada em cada reação de amplificação de DNA com o kit AmpF ℓ STR® Identifiler® Plus

Reagentes	Volume por reação (µl)
AmpF ℓ STR® Identifiler® Plus Master Mix	4
AmpF ℓ STR® Identifiler® Plus Primer Set	2
Água desionizada	3,5
DNA molde	0,5 ($\pm$ 0,5-4ng/µl)
TOTAL	10

A cada conjunto de reações foi incluído um controle negativo, ou seja, um tubo apenas com a mistura para amplificação (DNA ausente), como controle de contaminação, e o controle positivo 9947A, linha celular integrante do kit. Os marcadores analisados foram: D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818 e FGA, além da Amelogenina. O programa usado no termociclador está representado no esquema da **Tabela 4**.

Tabela 4

Configurações estabelecidas no termociclador para a PCR com o kit AmpF ℓ STR ® Identifier ® Plus

Desnaturação Inicial	28 Ciclos		Extensão Final
	Desnaturação	Anelamento/Extensão	
95°C 11 min	94°C 20 seg	59°C 3 min	60°C 10 min

Com a finalidade de confirmar alguns eletroferogramas, algumas amostras foram submetidas a uma segunda amplificação, com o kit PowerPlex ® 16 HS (Promega, Madison, WI, USA), conforme o protocolo do fabricante. Novamente o volume final foi alterado para 10 μ l, e o procedimento posterior foi o mesmo aplicado com o kit AmpF ℓ STR ® Identifier ® Plus. Inclusive o controle positivo também foi o 9947A. Os reagentes foram misturados de acordo com as concentrações apresentadas na **Tabela 5**. Este kit permite a coamplificação dos seguintes loci: Penta E, D18S51, D21S11, TH01, D3S1358, FGA, TPOX, D8S1179, vWA, D5S818, Penta D, CSF1PO, D16S539, D7S820, D13S317 e Amelogenina. Porém, apenas os loci também incluídos no kit AmpF ℓ STR ® Identifier ® Plus foram analisados. O termociclador foi programado segundo o esquema representado na **Tabela 6**.

Tabela 5

Quantidade de cada um dos reagentes utilizada em cada reação de amplificação de DNA com o kit PowerPlex ® 16 HS

Reagentes	Volume por reação (μ l)
PowerPlex HS 5X Master Mix	2
PowerPlex 16 HS 10X Primer Pair Mix	1
Água desionizada	6,5
DNA molde	0,5 ($\pm$ 0,5-4ng/ μ l)
TOTAL	10

Tabela 6

Configurações estabelecidas no termociclador para a PCR com o kit PowerPlex ® 16 HS

Desnaturação Inicial	10 Ciclos			22 Ciclos			Extensão Final
	Desnat.	Anel.	Ext.	Desnat.	Anel.	Ext.	
96°C 2 min	94°C 30 seg	60°C 30 seg	70°C 45 seg	90°C 30 seg	60°C 30 seg	70°C 45 seg	60°C 30 min

4. SEPARAÇÃO E GENOTIPAGEM DOS STRS

Os fragmentos de DNA amplificados foram separados por meio de eletroforese capilar num analisador automático ABI PRISM® 3130 (Applied Biosystems), de 4 capilares. As amostras foram preparadas adicionando-se 0,5 µl do DNA amplificado a 10 µl de uma mistura de Formamida Hi-Di e GeneScan 500 LIZ Size Standard (Applied Biosystems), numa proporção de 55:1.

Para garantir a qualidade da genotipagem e designação alélica, em cada placa, juntamente com as amostras a serem analisadas, foram inseridos os controles negativo e positivo previamente amplificados e uma amostra da escada alélica (AmpFISTR® Identifiler® Plus Allelic Ladder) incluída no kit de amplificação.

As amostras amplificadas com o kit PowerPlex® 16 HS foram submetidas à separação dos fragmentos no mesmo analisador automático descrito acima. Neste caso, as amostras foram preparadas adicionando-se 0,5 µl do DNA amplificado, ou 1 µl da escada alélica fornecida com o kit, a uma mistura de 0,5 µl de ILS 600 Size Standard (Promega) e 9,5 µl de Formamida Hi-Di.

A genotipagem automática dos perfis alélicos foi feita por meio do programa GeneMapper™ versão 3.2 (Applied Biosystems).

5. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As amostras com trialelia foram desconsideradas nos cálculos estatísticos, pois as análises feitas consideram apenas 2 alelos para cada locus, que é a condição esperada para cada indivíduo. O objetivo das análises estatísticas foi verificar a aderência da população ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg, comparar as 5 regiões do Acre par a par, estimar as frequências alélicas e parâmetros forenses na população geral, e comparar o Acre com os outros estados brasileiros bem como com os países fronteiriços com o Brasil, com populações indígenas e com as bases de dados utilizadas atualmente nos casos forenses do estado.

As frequências alélicas para cada loci foram determinadas no programa Genepop versão 4.1.0 [Rousset, 2008], de acordo com a fórmula:

$$P_i = n_i / 2n,$$

sendo n_i o número de vezes que o alelo i foi encontrado na amostra e n o número total de indivíduos amostrados. Também com o Genepop foram obtidos os valores de heterozigotia esperada e observada em cada locus, tanto em cada uma das 5 regiões do Acre como na

população como um todo. Ainda com o Genepop foi feito o teste exato de Equilíbrio de Hardy-Weinberg com cada região do Acre separadamente e também em conjunto.

A fim de comparar com resultados obtidos com o Genepop, o teste de Equilíbrio de Hardy-Weinberg foi também realizado com o programa Arlequin versão 3.5 [Excoffier & Lischer, 2010]. Também no Arlequin foi feita comparação interpopulacional locus a locus com as 5 regiões do Acre, que forneceu o índice de estruturação populacional F_{ST} , além do teste de diferenciação populacional entre as mesmas, em cada locus. Nos testes de comparação e diferenciação populacional, assim como no teste de Equilíbrio de Hardy-Weinberg foi aplicada a correção de Bonferroni sob o valor de significância (P). Esta correção assume que um nível de significância de 0,05 obtido para 15 testes (um por locus) produz um limiar de significância real de 0,0033 [Weir, 1996].

Os parâmetros forenses utilizados foram a Probabilidade de Exclusão (PE) para trios, Probabilidade de Exclusão combinada (PEc), Poder de Discriminação (PD), Poder de Discriminação combinado (PDc) e Conteúdo Informativo de Polimorfismo (PIC), que foram calculados de acordo com as seguintes equações:

$$PE = \sum_{i=1}^n p_i(1 - p_i + p_i^2)(1 - p_i)^2 + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n p_i p_j (1 - p_i + p_j^2)(p_i p_j)$$

onde p_i e p_j são as frequências para os alelos i e j [Ohno *et al.*, 1982];

$$PEc = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - PE_i)$$

onde PE_i é a probabilidade de exclusão para o locus i [Huston, 1998];

$$PD = 1 - PM \text{ [Tillmar, 2010],}$$

onde PM é a probabilidade de coincidência e

$$PM = \sum_{i=1}^n f_i^4 + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 4f_i^2 f_j^2$$

onde f_i e f_j são as frequências para os alelos i e j [Fisher, 1951];

$$PDc = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - PD_i)$$

onde PD_i é o poder de discriminação para cada locus [Goodwin *et al.*, 2007]; e

$$PIC = 1 - \left(\sum_{i=1}^n p_i^2 \right) - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2p_i^2 p_j^2$$

onde p_i e p_j são as frequências para os alelos i e j [Tillmar, 2010].

Através do programa PHYLIP versão 3.64 [Felsenstein, 2005] foi elaborada a matriz de distância genética de Nei entre as populações a partir das frequências alélicas nelas observadas. Quatro foram as matrizes geradas: a primeira entre Acre, as populações brasileiras estudadas por Poiars *et al.* (2010), e as populações do México [Juárez-Cedillo *et al.*, 2008], Espanha [Coudray *et al.*, 2007], Itália [Brisighelli *et al.*, 2009], Portugal [Amorim *et al.*, 2006], Ruanda [Tofanelli *et al.*, 2003], Moçambique [Alves *et al.*, 2004], Tanzânia [Forward *et al.*, 2008], Cabinda (Angola) [Beleza *et al.*, 2004], Guiné Equatorial [Alves *et al.*, 2005] e Uganda [Gomes *et al.*, 2009] com o intuito de contextualizar o estado do Acre; a segunda entre Acre e outros estados do Brasil bem como países fronteiriços com o Brasil, com o objetivo de verificar as populações mais próximas geneticamente; a terceira entre Acre e as bases de dados utilizadas atualmente na resolução dos casos forenses do estado, a fim de avaliar se são adequadas para a população em questão; e a quarta entre Acre, uma base de dados geral da população brasileira e duas populações de ameríndios, uma do Peru e outra da Amazônia brasileira, para verificar se Acre está mais próximo dos ameríndios que o Brasil em geral.

As duas primeiras matrizes foram utilizadas para construir uma árvore *Neighbor-Joining*, também no programa PHYLIP. O programa TreeView versão 1.6.6 [Page, 1996] foi utilizado para visualizar estas árvores. Essas matrizes de distância genética também foram utilizadas na elaboração de gráficos de escalonamento multidimensional (MDS) com o programa SPSS Statistics [IBM].

Por último foi feita comparação populacional locus a locus entre as bases de dados do Acre, Brasil e Amapá com o programa Arlequin, que forneceu o índice de estruturação populacional F_{ST} . Neste teste foi aplicada a correção de Bonferroni, assumindo que um valor de significância (P) de 0.05 obtido para 36 testes (12 loci e 3 combinações das bases de dados duas a duas) produz um limiar de significância real de 0,00139.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este trabalho de pesquisa permitiu gerar uma base de dados forense para a população do estado do Acre – Brasil, cuja história da formação populacional é distinta das outras regiões do país, visto ter sido a última região a ser habitada por não indígenas, já após a fase da escravidão e das grandes migrações europeias para o Brasil, e ter sido destino de grandes migrações nacionais, principalmente nordestinas.

Um total de 503 indivíduos não relacionados da população do Acre foram tipados para os 15 loci STR do kit de amplificação AmpF $\mathbb{L}$ STR® Identifier® Plus, resultando em eletroferogramas claros, com poucos artefatos como *stutter*, picos divididos e *pull-ups*.

Destas amostras, 501 foram utilizadas para gerar resultados estatísticos. As 2 amostras remanescentes foram excluídas das análises por apresentarem trialelia, uma do tipo 1 no marcador D18S51 (12,13,14), que ainda não havia sido descrita, e outra do tipo 2 no marcador TPOX (8,10,11), já descrita [STRBase] (**Fig. 7**). Os dois indivíduos são do sexo feminino.

1. PADRÕES TRIALÉLICOS

As trialelias podem ter várias causas, como: presença de células cancerosas na amostra [Filippini *et al.*, 2004; Vauhkonen *et al.*, 2004], quimerismo [Glock *et al.*, 2003; Rodriguez Cardozo *et al.*, 2004] ou mutações cromossômicas [Immel *et al.*, 2004]. Padrões trialélicos têm sido reportados no STRBase para todos os loci analisados nesta pesquisa.

De acordo com Clayton *et al.* (2004), há dois tipos de trialelia: o tipo 1, mais frequente, onde há um desbalanço no tamanho dos picos, sendo a soma da intensidade dos picos das variantes do alelo afetado equivalente à intensidade do alelo não mutado, e o tipo 2, onde os picos têm intensidade balanceada.

As trialelias do tipo 1 indicam mutação somática de um alelo num locus heterozigótico durante o desenvolvimento do indivíduo, resultando em quimerismo. Geralmente o evento mutacional é a adição ou perda de uma unidade repetitiva. Os padrões trialélicos do tipo 2 indicam evento de duplicação localizada no mesmo cromossomo ou translocada ou aneuploidia cromossômica (trissomia). Quando se trata de duplicação localizada, é provável que os dois alelos sejam herdados juntos, pois estarão fortemente ligados [Clayton *et al.*, 2004].

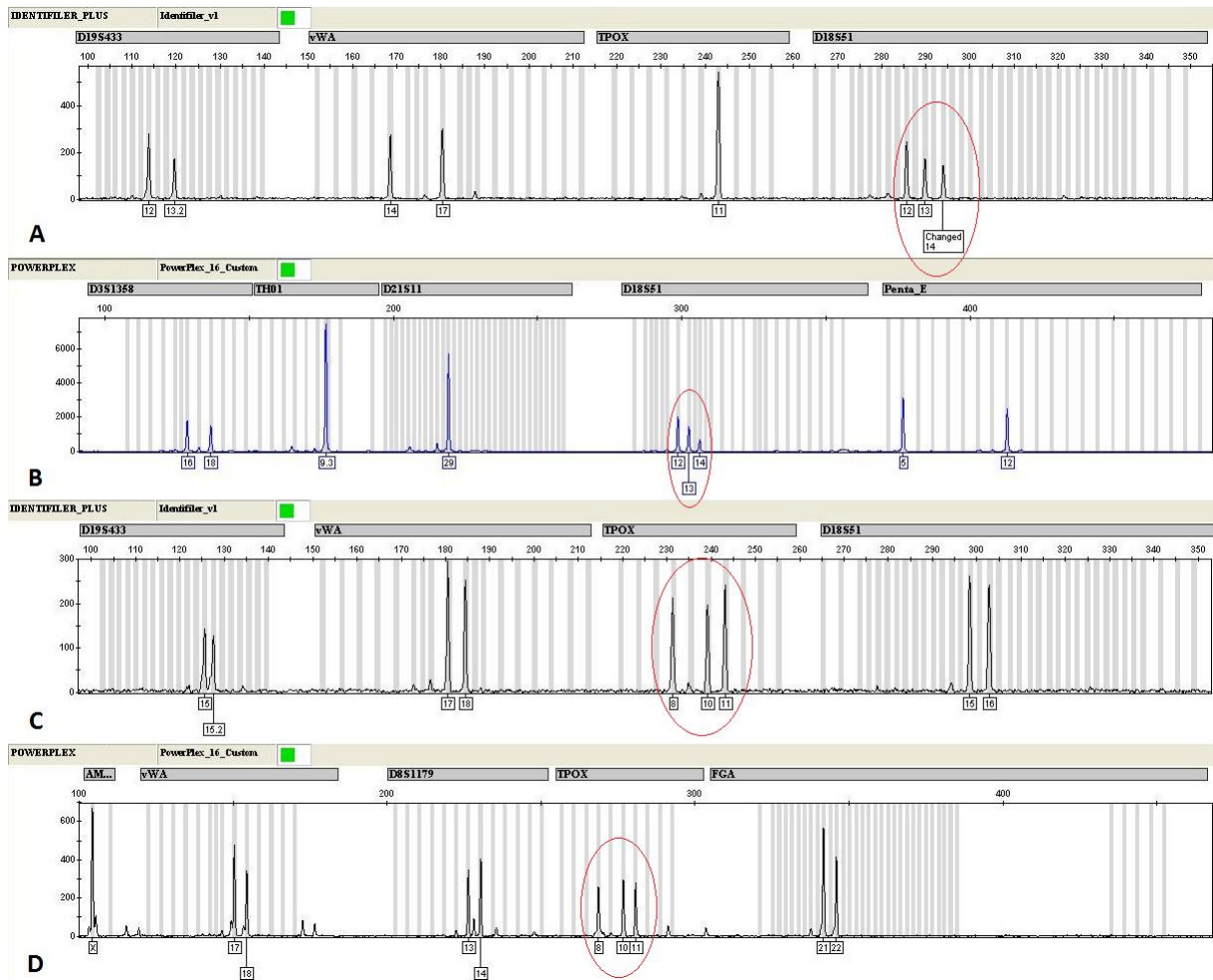


Fig. 7 - Partes dos eletroferogramas contendo os padrões trialélicos nos marcadores STRs D18S51 (A e B) e TPOX (C e D) produzidos com o uso dos kits de amplificação AmpFtSTR® Identifiler® Plus (A e C) e PowerPlex® 16 HS (B e D) na população do estado do Acre.

As trissomias autossômicas geralmente são prejudiciais ao feto, mas algumas como as do cromossomos 13, 18 e 21 resultam em nascidos vivos. Porém, como os indivíduos tipados eram adultos aparentemente saudáveis, o padrão trialélico observado nesta pesquisa para locus D18S51 não teria a trialelia cromossômica como causa, pois esta, conhecida como síndrome de Edwards, impede que o indivíduo afetado alcance a idade adulta [Janvier *et al.*, 2012].

Até abril de 2005 a maioria das trialelias reportadas para o loco TPOX era do tipo 2 [Butler, 2006]. Portanto, como o TPOX ocorre próximo à extremidade do cromossomo 2, é mais provável que ocorra duplicação para manutenção do telômero, a fim de manter intacta a extremidade cromossômica [Chakhparonian & Wellinger, 2003; Louis & Vershinin, 2005]. Outra característica interessante é que a grande maioria das trialelias reportadas para o TPOX envolve o alelo 10 e o genótipo mais reportado (26 vezes) é o 8;10;11 [STRBase], igual ao encontrado nesta pesquisa. Lane (2008), em seu trabalho com populações africanas mostrou que o alelo extra nas trialelias deste loco era quase sempre o 10, com

segregação aparentemente independente, e que aproximadamente o dobro de mulheres em relação aos homens mostrava este padrão, sugerindo que o alelo extra estaria no cromossomo X.

As amostras que apresentaram trialelias, bem como as que apresentaram alelos fora do *bin* no GeneMapper, assim como as que ficaram confusas para interpretação devido a artefatos da PCR foram submetidas a nova genotipagem com o kit PowerPlex® 16 HS, para conferência dos dados.

2. ANÁLISES INTRAPOPULACIONAIS

As bases de dados de STRs são elaboradas em função da frequência com que cada alelo de cada marcador aparece na amostra populacional em questão. Muitos estudos populacionais possuem apenas 100-150 amostras, porém quanto maior a base de dados, mais acurada é a estimativa das frequências alélicas reais. Relativo aos alelos comuns, as frequências raramente mostram diferenças significativas entre bases de dados pequenas e grandes [Butler, 2006]. Entretanto, uma base de dados de tamanho limitado pode facilmente não representar muitos alelos raros, levando a uma inexata representação das frequências ao se estimar a significância de uma evidência forense [Griffiths *et al.*, 2008].

O presente trabalho possui um número amostral elevado, o que garante uma excelente representatividade da população total. Além disso, representa todas as classes sociais, pois as coletas foram realizadas em universidades (alunos, professores e funcionários), escolas (professores e funcionários), hospitais e postos de saúde (pacientes e funcionários), secretarias municipais, postos policiais e em residências particulares.

Os dados coletados permitiram verificar que a maioria dos doadores nasceu na cidade onde reside (**Fig. 8**), e que a grande maioria possui pai e mãe acrianos (**Fig. 9**). O fato de muitos indivíduos não residirem no local de nascimento não pode ser interpretado unicamente como reflexo da migração, pois até há pouco tempo muitas mulheres buscavam outro município apenas para terem seus filhos, por falta de condições hospitalares no município de residência.

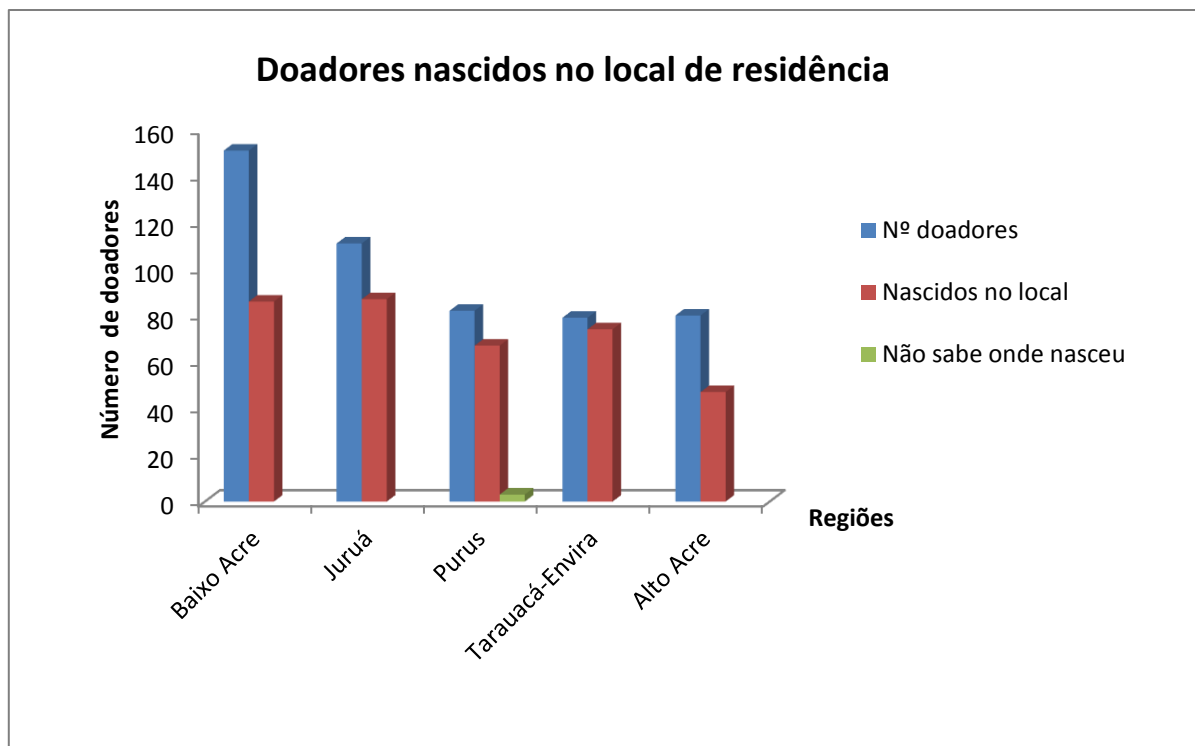


Fig. 8 - Gráfico da proporção de doadores que nasceu no local onde reside.

As frequências alélicas observadas na população do Acre estão apresentadas na **Tabela 7**. Os loci que apresentam mais alelos são o D21S11 e o FGA com 22 alelos; em seguida está o D18S51 com 18 alelos; D19S433 com 15 alelos; D2S1338 com 12 alelos; D8S1179 com 11 alelos; D3S1358 com 10 alelos; D7S820, CSF1PO e vWA com 9 alelos cada; D13S317, TPOX e D5S818 com 8 alelos cada; e por último os loci TH01 e o D16S539, com apenas 7 alelos cada.

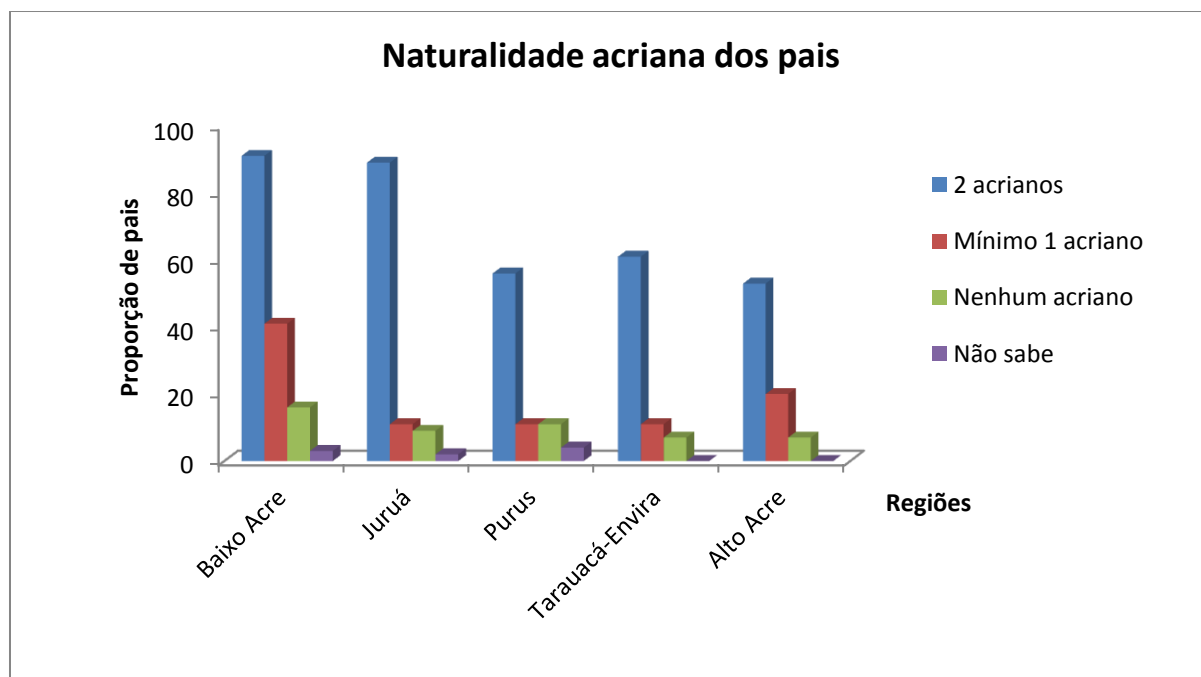


Fig. 9 - Gráfico da proporção de pais dos doadores com naturalidade acriana.

Os alelos raros podem aumentar bastante o poder de discriminação em comparações de DNA. A menor frequência alélica encontrada na população acriana foi 0,001. Considerando apenas os alelos com esta frequência, o locus que mostra mais alelos raros é o FGA, com 8 alelos; seguido do locus D21S11 com 6 alelos raros; o D18S51 com 3 alelos; o D3S1358 com 2 alelos; e por último os loci D8S1179, D7S820, D13S317, D19S433 e TPOX com 1 alelo raro cada. Os loci CSF1PO, TH01, D16S539, D2S1338, vWA e D5S818 não apresentam nenhum alelo raro nesta amostra populacional.

Quanto aos alelos não consensuais, o locus que apresenta mais alelos é o D21S11 (10 alelos), seguido do FGA (9 alelos) e do D19S433 (7 alelos). Os marcadores D7S820, CSF1PO, TH01 e D18S51 apresentam apenas 1 alelo não consensual, e os loci D8S1179, D3S1358, D13S317, D16S539, D2S1338, vWA, TPOX e D5S818 não apresentam nenhum. Em toda a amostragem, foi encontrado apenas um alelo, não consensual, não descrito na literatura até o momento. Trata-se do alelo 30.1 no locus FGA, que foi observado apenas uma vez na amostragem, e em seguida foi confirmado com o segundo kit utilizado.

Após a interpretação de cada eletroferograma, os genótipos dos indivíduos de cada uma das 5 regiões do Estado do Acre foram submetidos ao teste exato do Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW) locus a locus no programa GenePop versão 4.1.0 [Rousset, 2008]. Com este teste pode-se detectar uma possível subestruturação populacional ou ocorrência de alelos nulos, o que não foi encontrado, visto não terem sido observados desvios significativos do EHW, após a correção de Bonferroni (**Tabela 8**). O teste do Equilíbrio de Hardy-Weinberg locus a locus foi confirmado com o programa Arlequin versão 3.5 [Excoffier & Lischer, 2010], que mostrou resultados muito similares, não havendo desvios significativos, após correção de Bonferroni.

Os pequenos desvios do EHW encontrados nas populações geralmente são consequência da mistura dos alelos não ser completamente aleatória, visto que os pais geralmente partilham algum ancestral comum [Applied Biosystems, 2009-2011]. Além disso, os requisitos necessários para que uma população esteja em EHW não podem ser perfeitamente verificados em populações humanas reais [Evetts & Buckleton, 1996], levando a alguma variação na heterozigotia/homozigotia encontrada. Ainda assim, os testes de EHW são importantes por garantirem a qualidade das bases de dados, além de auxiliarem na detecção de alelos nulos [Butler, 2005].

Tabela 7

Frequências alélicas e parâmetros estatísticos estimados para a população do estado do Acre para os 15 marcadores STR do kit de amplificação AmpFSTR® Identifier® Plus

	D8	D21	D7	CSF	D3	TH01	D13	D16	D2	D19	VWA	TPOX	D18	D5	FGA
5	-	-	-	-	-	0,0020	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	0,2445	-	-	-	-	-	0,0150	-	-	-
7	-	-	0,0140	0,0100	-	0,2565	-	-	-	-	-	0,0030	-	0,0519	-
8	0,0090	-	0,1766	0,0170	-	0,1257	0,0888	0,0120	-	-	-	0,4481	-	0,0190	-
9	0,0070	-	0,1018	0,0200	0,0010	0,1387	0,1168	0,1886	-	-	-	0,0998	-	0,0259	-
9.3	-	-	-	-	-	0,2236	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	0,0808	-	0,2515	0,2645	-	0,0090	0,0449	0,1108	-	0,0040	-	0,0419	0,0030	0,0709	-
10.3	-	-	0,0010	0,0030	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	0,0659	-	0,2495	0,2884	-	-	0,2455	0,2754	-	0,0210	0,0060	0,3104	0,0020	0,3194	-
11.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0040	-	-	-	-	-
12	0,1178	-	0,1727	0,3252	0,0030	-	0,3194	0,2515	-	0,0988	-	0,0808	0,0918	0,3282	-
12.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0170	-	-	-	-	-
13	0,3013	-	0,0269	0,0639	0,0070	-	0,1327	0,1457	-	0,2415	0,0060	0,0010	0,1228	0,1747	-
13.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0549	-	-	0,0010	-	-
14	0,2625	-	0,0060	0,0080	0,0758	-	0,0509	0,0160	-	0,2794	0,0609	-	0,1686	0,0100	-
14.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0349	-	-	-	-	-
15	0,1198	-	-	-	0,2984	-	0,0010	-	-	0,1367	0,1188	-	0,1657	-	-
15.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0599	-	-	-	-	-
16	0,0329	-	-	-	0,2954	-	-	-	0,0309	0,0269	0,2784	-	0,1327	-	-
16.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0160	-	-	-	-	-
17	0,0020	-	-	-	0,1737	-	-	-	0,2136	0,0010	0,3123	-	0,1367	-	-
17.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0040	-	-	-	-	-
18	0,0010	-	-	-	0,1337	-	-	-	0,0888	-	0,1457	-	0,0808	-	0,0090
18.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0100
19	-	-	-	-	0,0110	-	-	-	0,1347	-	0,0619	-	0,0499	-	0,0749
20	-	-	-	-	0,0010	-	-	-	0,1277	-	0,0100	-	0,0200	-	0,0988
20.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0010
21	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0559	-	-	-	0,0130	-	0,1367
22	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0709	-	-	-	0,0040	-	0,1446
22.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0030
23	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1208	-	-	-	0,0030	-	0,1446
24	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0808	-	-	-	0,0010	-	0,1637
24.2	-	0,0040	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0010
24.3	-	0,0010	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	-	0,0010	-	-	-	-	-	-	0,0659	-	-	-	0,0030	-	0,1178
25.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0010
26	-	0,0030	-	-	-	-	-	-	0,0080	-	-	-	-	-	0,0679
27	-	0,0259	-	-	-	-	-	-	0,0020	-	-	-	-	-	0,0120
28	-	0,1466	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0010	-	0,0070
29	-	0,1986	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0020
30	-	0,2405	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0010
30.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0010
30.2	-	0,0210	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0010
31	-	0,0629	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31.1	-	0,0010	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31.2	-	0,1238	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0010
32	-	0,0070	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32.2	-	0,1108	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0010
33	-	0,0010	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33.1	-	0,0020	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33.2	-	0,0299	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	-	0,0010	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34.2	-	0,0080	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	-	0,0080	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35.1	-	0,0020	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	-	0,0010	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trialelias	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,10,11	12,13,14	-	-
PE	0,61544	0,69859	0,60810	0,49661	0,55507	0,58165	0,60457	0,58860	0,75509	0,66394	0,58199	0,44301	0,74711	0,53105	0,75427
PD	0,93362	0,95888	0,93135	0,88434	0,91092	0,92198	0,92955	0,92472	0,97277	0,94900	0,92122	0,85075	0,97091	0,89905	0,97249
PIC	0,77379	0,82916	0,77248	0,69040	0,73381	0,75549	0,76587	0,75976	0,86483	0,80489	0,75083	0,63484	0,86090	0,71212	0,86531
HE	0,80040	0,84830	0,80240	0,73653	0,77046	0,79042	0,79441	0,79241	0,87824	0,82635	0,78244	0,68463	0,87625	0,75250	0,88024
HO	0,82236	0,86826	0,80240	0,73253	0,77046	0,78443	0,80838	0,78244	0,87026	0,82435	0,75250	0,66267	0,87026	0,74850	0,89621
P	0,73703	0,31734	0,92661	0,07432	0,28683	0,90663	0,97509	0,49862	0,29281	0,47289	0,48250	0,86284	0,60132	0,12232	0,21517
PEC: 0,9999996 PDc: 0,99999999999999990															

PE: Probabilidade de Exclusão; PD: Poder de Discriminação; PIC: Conteúdo Informativo de Polimorfismo; HE: Heterozigotia Esperada; HO: Heterozigotia Observada; P: valor de p para o teste exato de equilíbrio de Hardy-Weinberg baseado em 10.000 permutações; PEC: Probabilidade de Exclusão combinada; PDc: Poder de Discriminação combinado.

Os loci cuja heterozigotia observada é maior que a esperada são o D8S1179, D21S11, D13S317 e o FGA. Os loci TH01, D16S539, vWA e TPOX apresentaram heterozigotia menor que a esperada, sendo vWA o locus cuja diferença entre a heterozigotia esperada e a observada é maior, variando em apenas 3%. Os loci D7S820, CSF1PO, D3S1358, D2S1338, D19S433, D18S51 e D5S818 não apresentaram diferenças entre as heterozigotias. O locus mais heterozigótico é o FGA (90%), enquanto o que apresentou menor valor foi o TPOX (66%). Os valores de heterozigotia esperada e observada estão na **Tabela 7**.

Tabela 8

Valor de *P* para o teste exato de Equilíbrio de Hardy-Weinberg baseado em 10.000 permutações para as cinco regiões do Acre com os 15 marcadores do kit de amplificação AmpFtSTR® Identifier® Plus

	D8	D21	D7	CSF	D3	TH01	D13	D16	D2	D19	vWA	TPOX	D18	D5	FGA
Baixo Acre	0,54768	0,56141	0,68858	0,04527	0,81614	0,66092	0,71572	0,48115	0,11440	0,52611	0,62437	0,78428	0,32110	0,85784	0,17030
Juruá	0,75171	0,42420	0,32454	0,51744	0,98263	0,88718	0,30134	0,23886	0,38822	0,82737	0,83362	0,69043	0,88886	0,48511	0,73230
Purus	0,59562	0,99887	0,64071	0,99472	0,48837	0,84891	0,42629	0,84572	0,25795	0,51564	0,75001	0,52099	0,26452	0,45863	0,99190
Tarauacá-Envira	0,69669	0,00418	0,53757	0,03643	0,02826	0,08053	0,65765	0,09081	0,10091	0,16183	0,59276	0,87060	0,47625	0,28473	0,43655
Alto Acre	0,34985	0,45042	0,88764	0,86830	0,29944	0,13667	0,07354	0,18822	0,45094	0,48070	0,12218	0,20358	0,56620	0,19395	0,51224

Em vermelho estão os valores inferiores a 0,05. Nenhum valor é significativo após a correção de Bonferroni ($P < 0,00333$).

Além do teste de EHW, outros testes estatísticos foram feitos a fim de validar esta base de dados para uso forense. Os valores referentes aos parâmetros forenses encontram-se na **Tabela 7**. Para a Probabilidade de Exclusão (PE) os valores variam entre 0,44301 no locus TPOX a 0,75509 no D2S1338. O Poder de Discriminação (PD) apresentou valores altos, variando entre 0,85075 no TPOX a 0,97277 no D2S1338. Em relação ao Conteúdo Informativo de Polimorfismo (PIC), o locus TPOX apresenta o menor valor, 0,63484, e o locus FGA o maior, 0,86531.

A heterozigotia observada média na população é de 80%, o que é consistente com muitas outras bases de dados de populações brasileiras, onde varia entre 79% e 81% [Francez *et al.*, 2011; Poiares *et al.*, 2010; Nascimento *et al.*, 2011; Rodrigues *et al.*, 2007; Wolfgramm *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2004; del Castillo *et al.*, 2009; Poiares *et al.*, 2009; Rodrigues *et al.*, 2009; Chula *et al.*, 2009; Ocampos *et al.*, 2009]. A heterozigotia esperada média também é de 80%. A Probabilidade de Exclusão combinada (PEc) e o Poder de Discriminação combinado (PDc) apresentam valor igual a 99,999996% e 99,9999999999999990%, respectivamente.

Tendo apresentado o menor valor para a probabilidade de exclusão, poder de discriminação, conteúdo informativo de polimorfismo e heterozigotia, o locus TPOX se mostra como o menos informativo para a população em questão, o que também foi observado em outras bases de dados brasileiras [Francez *et al.*, 2011; Poiares *et al.*, 2010; Nascimento *et al.*, 2011; Rodrigues *et al.*, 2007; Wolfgramm *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2004; del Castillo *et al.*, 2009; Poiares *et al.*, 2009; Chula *et al.*, 2009; Ocampos *et al.*, 2009; Godinho, 2008; São Bento *et al.*, 2008]. Os loci mais discriminatórios são o FGA e o

D2S1338, que apresentam os mais altos valores nos parâmetros forenses, e no caso do FGA, mostrou maior quantidade de alelos raros e comuns, além de ter uma grande variedade de alelos não consensuais. Estes loci também mostram-se ideais na maioria das bases de dados brasileiras analisadas [Francez *et al.*, 2011; Poiares *et al.*, 2010; Rodrigues *et al.*, 2007; Wolfgramm *et al.*, 2011; del Castillo *et al.*, 2009; Poiares *et al.*, 2009; Chula *et al.*, 2009].

Tabela 9
Valores de F_{ST} na análise de comparação populacional entre as cinco regiões do Acre par a par

	BA vs. JU	BA vs. PU	BA vs. EN	BA vs. AA	JU vs. PU	JU vs. EN	JU vs. AA	PU vs. EN	PU vs. AA	EN vs. AA
D8S1179	-0,00113	-0,00148	0,00218	-0,00012	0,00068	-0,00107	-0,00268	0,00560	0,00346	-0,00507
D21S11	-0,00134	0,00431	-0,00112	0,00201	-0,00051	-0,00079	-0,00192	0,00142	-0,00087	-0,00288
D7S820	-0,00182	-0,00244	0,00361	-0,00342	-0,00280	0,00372	-0,00162	-0,00318	-0,00423	-0,00097
CSF1PO	0,00196	-0,00173	0,00723	0,00401	-0,00067	0,01675	0,00530	0,00150	-0,00395	-0,00165
D3S1358	-0,00231	0,00035	-0,00100	-0,00201	0,00616	-0,00332	-0,00132	0,00843	0,00119	0,00444
TH01	-0,00342	-0,00156	0,00196	-0,00363	-0,00133	-0,00094	-0,00388	-0,00005	-0,00330	0,00155
D13S317	0,00088	0,00103	-0,00240	-0,00160	0,00286	-0,00234	-0,00154	-0,00206	0,00060	-0,00129
D16S539	0,00369	0,00743	0,00137	-0,00001	0,00156	-0,00209	-0,00301	0,00224	-0,00267	-0,00231
D2S1338	0,00194	0,00222	0,00134	0,00094	0,00283	0,00143	0,00284	-0,00391	-0,00473	-0,00149
D19S433	0,00359	-0,00235	-0,00355	-0,00355	0,00277	0,00518	-0,00030	-0,00227	-0,00212	-0,00362
vWA	0,00508	-0,00277	-0,00418	-0,00323	-0,00176	0,00105	0,00697	-0,00539	-0,00266	-0,00477
TPOX	0,01111	0,01026	-0,00282	0,01024	-0,00120	0,01152	-0,00308	0,01427	-0,00100	0,01330
D18S51	-0,00013	0,00160	-0,00097	-0,00227	0,00041	-0,00159	0,00096	-0,00463	0,00612	0,00251
D5S818	-0,00133	-0,00300	-0,00322	0,01180	-0,00400	0,00075	0,01781	-0,00312	0,00976	0,00262
FGA	0,00134	0,00235	-0,00154	0,00261	0,00078	0,00325	0,00000	-0,00172	-0,00155	-0,00047
Todos	0,00113	0,00092	-0,00022	0,00064	0,00044	0,00198	0,00091	0,00028	-0,00041	-0,00013

BA: Baixo Acre; JU: Juruá; PU: Purus; EN: Tarauacá-Envira; AA: Alto Acre.

A fim de confirmar que não há subestruturação na população, foi feita a comparação populacional locus a locus, no programa Arlequin, para cada par de população. Nenhum valor de F_{ST} foi significativo (**Tabelas 9 e 10**), após a correção de Bonferroni, mostrando grande semelhança entre as regiões consideradas. Este teste foi realizado também com todos os loci simultaneamente, e novamente o resultado não foi significativo, com a correção de Bonferroni (**Tabela 11**). O mesmo observou-se no teste de diferenciação populacional, cujos resultados não foram significativos (**Tabela 12**). Por não haver sido detetada diferenciação entre nenhuma das regiões do Acre em nenhum dos loci analisados, passou-se a considerar estas 5 regiões como uma única população.

No estado do Acre, por muito tempo a maneira mais eficiente de deslocamento era pelos rios, em viagens que duravam dias. Hoje já há estradas interligando a maioria das cidades, e também conexão aérea entre algumas delas. Porém até há pouco ainda havia certa barreira geográfica, principalmente entre as regiões Tarauacá-Envira e Purus, onde a pavimentação da única via de conexão terrestre está em fase de conclusão. Por esse motivo, esperava-se encontrar alguma diferenciação pelo menos entre as regiões

localizadas nos dois lados desta barreira, que se situa no centro do estado. Porém, o que se verificou foi uma população homogênea em todo o Acre.

Este resultado se deve provavelmente ao fato de a maioria dos imigrantes que lá chegaram, nomeadamente os nordestinos que foram para o trabalho no seringal no final do século XIX e princípio do século XX não poder escolher a região onde residiriam, nem agruparem-se em uma ou outra região, sendo distribuídos pelos diversos seringais existentes às margens dos principais rios. Como foi nas margens destes rios que nasceram os municípios, pode ser essa a razão pela qual a população não se encontra diferenciada.

Tabela 10

Valores de P e erro padrão para o F_{ST} na análise de comparação populacional entre as cinco regiões do Acre par a par

	BA vs. JU	BA vs. PU	BA vs. EN	BA vs. AA	JU vs. PU	JU vs. EN	JU vs. AA	PU vs. EN	PU vs. AA	EN vs. AA
D8S1179	0,58885+-0,0052	0,62222+-0,0048	0,20493+-0,0039	0,39719+-0,0051	0,30482+-0,0049	0,50243+-0,0051	0,74567+-0,0042	0,09801+-0,0031	0,14900+-0,0037	0,96951+-0,0018
D21S11	0,69627+-0,0054	0,06069+-0,0027	0,58450+-0,0051	0,18454+-0,0035	0,46718+-0,0049	0,50837+-0,0056	0,67973+-0,0051	0,24592+-0,0043	0,48084+-0,0046	0,76695+-0,0042
D7S820	0,73052+-0,0046	0,77329+-0,0041	0,13197+-0,0033	0,91298+-0,0029	0,76616+-0,0040	0,15810+-0,0038	0,60152+-0,0042	0,76289+-0,0036	0,88199+-0,0035	0,49500+-0,0049
CSF1PO	0,22136+-0,0042	0,57974+-0,0046	0,07059+-0,0027	0,13266+-0,0034	0,44451+-0,0045	0,00822+-0,0008	0,10148+-0,0033	0,29057+-0,0044	0,79309+-0,0038	0,52955+-0,0052
D3S1358	0,77685+-0,0039	0,34601+-0,0049	0,51926+-0,0051	0,66033+-0,0052	0,07088+-0,0025	0,81131+-0,0036	0,53519+-0,0047	0,06702+-0,0026	0,30720+-0,0045	0,17573+-0,0036
TH01	0,97396+-0,0016	0,60489+-0,0045	0,23631+-0,0045	0,90763+-0,0030	0,55876+-0,0048	0,53143+-0,0050	0,88882+-0,0034	0,41372+-0,0045	0,74983+-0,0041	0,31304+-0,0048
D13S317	0,28255+-0,0048	0,28571+-0,0046	0,75715+-0,0041	0,61509+-0,0049	0,17751+-0,0039	0,71141+-0,0047	0,59568+-0,0049	0,61093+-0,0047	0,33630+-0,0046	0,50173+-0,0054
D16S539	0,11613+-0,0035	0,03831+-0,0019	0,26671+-0,0045	0,42055+-0,0048	0,26908+-0,0043	0,65974+-0,0046	0,78685+-0,0040	0,20196+-0,0039	0,66954+-0,0046	0,64301+-0,0045
D2S1338	0,14068+-0,0029	0,16058+-0,0041	0,24275+-0,0042	0,28591+-0,0046	0,14820+-0,0039	0,25968+-0,0044	0,15395+-0,0029	0,94179+-0,0024	0,98634+-0,0014	0,65003+-0,0048
D19S433	0,07821+-0,0030	0,81824+-0,0035	0,96664+-0,0019	0,97000+-0,0017	0,15632+-0,0035	0,07504+-0,0030	0,42392+-0,0046	0,69003+-0,0050	0,66607+-0,0047	0,87655+-0,0032
vWA	0,06326+-0,0027	0,83348+-0,0041	0,98525+-0,0012	0,89793+-0,0033	0,62103+-0,0050	0,30353+-0,0052	0,06485+-0,0024	0,98406+-0,0012	0,71369+-0,0043	0,94614+-0,0024
TPOX	0,01505+-0,0012	0,03812+-0,0019	0,76339+-0,0050	0,04297+-0,0024	0,48787+-0,0056	0,02228+-0,0015	0,72518+-0,0042	0,03633+-0,0020	0,48154+-0,0050	0,03831+-0,0020
D18S51	0,46867+-0,0056	0,22315+-0,0042	0,60440+-0,0055	0,83833+-0,0040	0,35224+-0,0049	0,66756+-0,0047	0,31759+-0,0049	0,97624+-0,0015	0,04415+-0,0019	0,19820+-0,0040
D5S818	0,59113+-0,0051	0,83269+-0,0036	0,85011+-0,0032	0,01366+-0,0012	0,92040+-0,0029	0,31007+-0,0046	0,00792+-0,0009	0,71508+-0,0046	0,04920+-0,0022	0,23532+-0,0043
FGA	0,20444+-0,0038	0,13177+-0,0038	0,68003+-0,0046	0,12118+-0,0037	0,32413+-0,0046	0,13019+-0,0033	0,42897+-0,0049	0,65231+-0,0045	0,63231+-0,0046	0,48530+-0,0057
Todos	0,06395+-0,0024	0,13118+-0,0035	0,58925+-0,0052	0,22057+-0,0039	0,27334+-0,0046	0,03069+-0,0017	0,16305+-0,0039	0,36175+-0,0047	0,60499+-0,0047	0,53292+-0,0051

Em vermelho estão os valores inferiores a 0,05. Nenhum valor é significativo após correção de Bonferroni ($P < 0,00333$). BA: Baixo Acre; JU: Juruá; PU: Purus; EN: Tarauacá-Envira; AA: Alto Acre.

Tabela 11

Valores de F_{ST} (diagonal abaixo) e de P e erro padrão (diagonal acima) na análise de comparação populacional entre as cinco regiões do Acre

	Baixo Acre	Juruá	Purus	Tarauacá-Envira	Alto Acre
Baixo Acre		0,06395+0,0024	0,13118+0,0035	0,58925+0,0052	0,22057+0,0039
Juruá	0,00113		0,27334+0,0046	0,03069+0,0017	0,16305+0,0039
Purus	0,00092	0,00044		0,36175+0,0047	0,60499+0,0047
Tarauacá-Envira	-0,00022	0,00198	0,00028		0,53292+0,0051
Alto Acre	0,00064	0,00091	-0,00041	-0,00013	

Em vermelho está o único valor inferior a 0,05. Nenhum valor é significativo, segundo o valor de P , após correção de Bonferroni ($P < 0,00333$).

Além disso, essa migração é relativamente recente, e poucas gerações separam a época da migração massiva para o estado da época atual. Agora, com a grande mobilidade geográfica favorecida pela melhoria nos acessos rodoviários e aéreos e o crescimento dos centros urbanos, é bastante improvável que ocorra subestruturação entre a população acriana não-indígena.

Tabela 12

Valores de P do teste de diferenciação populacional entre as cinco regiões do Acre par a par

	BA vs. JU	BA vs. PU	BA vs. EN	BA vs. AA	JU vs. PU	JU vs. EN	JU vs. AA	PU vs. EN	PU vs. AA	EN vs. AA
D8S1179	0,42395	0,76820	0,77946	0,41149	0,16233	0,35895	0,54382	0,72363	0,20997	0,65290
D21S11	0,75196	0,44451	0,19346	0,24435	0,76718	0,05248	0,07286	0,13159	0,74406	0,46135
D7S820	0,64938	0,62719	0,68596	0,93222	0,48002	0,25916	0,19969	0,94870	0,98420	0,76258
CSF1PO	0,04074	0,37335	0,08161	0,10711	0,95430	0,01497	0,41007	0,25868	0,96626	0,47765
D3S1358	0,97422	0,54686	0,73164	0,47676	0,29028	0,31274	0,62085	0,14616	0,22159	0,15813
TH01	0,92252	0,55655	0,10275	0,29082	0,84771	0,43709	0,57140	0,26407	0,26037	0,59628
D13S317	0,14284	0,34411	0,51999	0,56355	0,62827	0,18082	0,04096	0,37908	0,15865	0,45136
D16S539	0,28219	0,07072	0,02088	0,11327	0,21077	0,22141	0,55660	0,06149	0,13505	0,59551
D2S1338	0,06310	0,03743	0,61010	0,10378	0,23981	0,12921	0,42251	0,01338	0,63766	0,44495
D19S433	0,30943	0,50662	0,75161	0,59391	0,85749	0,63721	0,91012	0,57020	0,93870	0,41543
vWA	0,24682	0,89804	0,96370	0,86193	0,84229	0,29006	0,21116	0,91351	0,92852	0,85309
TPOX	0,05763	0,51578	0,93507	0,11711	0,25569	0,18236	0,33521	0,50710	0,66212	0,09814
D18S51	0,60972	0,13358	0,43567	0,56064	0,68963	0,61784	0,86557	0,42547	0,18185	0,79629
D5S818	0,64849	0,69219	0,84852	0,23473	0,88959	0,56702	0,13557	0,90789	0,50149	0,70625
FGA	0,54225	0,28263	0,50922	0,00530	0,83866	0,79229	0,59694	0,67912	0,84798	0,81769

Em vermelho estão os valores inferiores a 0,05. Nenhum valor é significativo após correção de Bonferroni ($P < 0,00333$). BA: Baixo Acre; JU: Juruá; PU: Purus; EN: Tarauacá-Envira; AA: Alto Acre.

Algumas regiões possuem uma maior presença de populações indígenas (**Fig. 5**), além de estas populações serem de origem diferente nos diversos locais do Acre, como abordado anteriormente no texto introdutório. Assim, era esperado haver alguma diferenciação na população devido à presença destes povos nativos. É importante frisar que ainda que algumas destas populações interajam constantemente com a população não autóctone, e que à época do seringalismo as indígenas muitas vezes casavam-se à força com homens não indígenas, entre os ameríndios os casamentos têm sido preferenciais entre membros das comunidades. Estes resultados sugerem que talvez não haja diferença genética significativa entre as populações que contribuíram para a mistura populacional no Acre.

3. ANÁLISES INTERPOPULACIONAIS

Com a finalidade de confirmar se a população do Acre se encaixa no contexto brasileiro, e também de verificar a distância genética entre esta população e as cinco mesorregiões brasileiras, nomeadamente Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sul e Sudeste, foi calculada a distância genética de Nei entre as frequências alélicas da população acriana e as frequências das populações brasileiras utilizadas por Poiares *et al.* (2010), além das frequências encontradas para o México [Juárez-Cedillo *et al.*, 2008], Espanha [Coudray *et al.*, 2007], Itália [Brisighelli *et al.*, 2009], Portugal [Amorim *et al.*, 2006], Ruanda [Tofanelli *et al.*, 2003], Moçambique [Alves *et al.*, 2004], Tanzânia [Forward *et al.*, 2008], Cabinda (Angola) [Beleza *et al.*, 2004], Guiné Equatorial [Alves *et al.*, 2005] e Uganda [Gomes *et al.*, 2009]. Para este teste foram considerados apenas 12 loci, pois o D2S1338 e o D19S433 não constam em todas as bases de dados utilizadas, e o D5S818 apresenta a soma das frequências alélicas igual 1,2665 para a população do Norte do Brasil [Poiares *et al.*, 2010].

Assim como todas as regiões brasileiras, Acre ficou mais próximo dos países europeus do que do México e da África. Entre as regiões brasileiras, Acre ficou mais próximo do Norte e Nordeste (**Tabela 13, e Fig. 10 e 11**). Este resultado já era esperado, visto terem sido estas as populações que mais contribuíram na composição populacional acriana. O gráfico da **Fig. 12** fornece um panorama sobre a ascendência dos indivíduos tipados para este estudo.

Tendo confirmado que o Acre se insere no contexto brasileiro, uma nova análise de distância genética de Nei par a par foi realizada, desta vez entre Acre e os demais estados brasileiros, além dos países da América do Sul fronteiriços com o Brasil, quando da existência e disponibilidade da base de dados. Foram considerados os seguintes estados brasileiros: Rio Grande do Sul [Chula *et al.*, 2009], Paraná [Poiares *et al.*, 2009], Minas Gerais [del Castillo *et al.*, 2009], Santa Catarina [Ocampos *et al.*, 2009], Rio de Janeiro [Rodrigues *et al.*, 2009], Bahia [Nascimento *et al.*, 2011], Pará [Rodrigues *et al.*, 2007], Mato Grosso do Sul [Silva *et al.*, 2004], Espírito Santo [Wolfgramm *et al.*, 2011], São Paulo [São-Bento *et al.*, 2008] e Goiás [Godinho, 2008]; e países da América do Sul vizinhos do Brasil: Bolívia [Rocabado *et al.*, 2009], Peru [Pérez *et al.*, 2003], Colômbia [Sánchez-Diz *et al.*, 2009], Paraguai [Martinez-Espin *et al.*, 2003], Uruguai [Sóñora *et al.*, s.d.], Argentina [Toscanini *et al.*, 2007] e Venezuela [Chiurillo *et al.*, 2003]. Os resultados dessa nova análise são apresentados na **Tabela 14**.

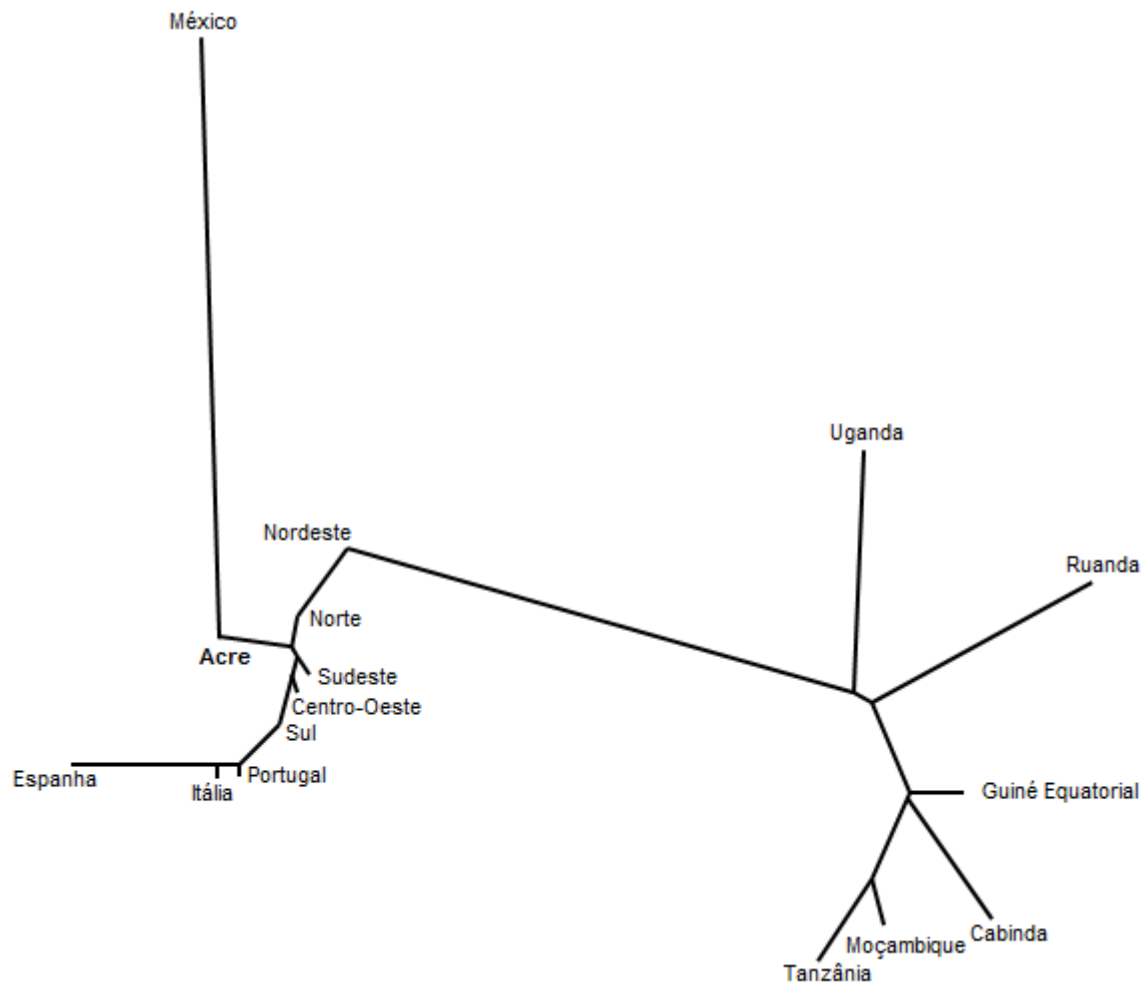


Fig. 10 - Árvore *neighbor-joining* baseada na distância genética de Nei calculada entre a população do Acre e as populações brasileiras estudadas por Poiares *et al.* (2010), além das populações do México, Espanha, Itália, Portugal, Ruanda, Moçambique, Tanzânia, Cabinda (Angola), Guiné Equatorial e Uganda. Referências para os dados populacionais usados: Sul, Sudeste, Centro-Oeste, Nordeste e Norte do Brasil [Poiares *et al.*, (2010)]; México [Juárez-Cedillo *et al.*, 2008]; Espanha [Coudray *et al.*, 2007]; Itália [Brisighelli *et al.*, 2009]; Portugal [Amorim *et al.*, 2006]; Ruanda [Tofanelli *et al.*, 2003]; Moçambique [Alves *et al.*, 2004]; Tanzânia [Forward *et al.*, 2008]; Cabinda (Angola) [Beleza *et al.*, 2004]; Guiné Equatorial [Alves *et al.*, 2005]; Uganda [Gomes *et al.*, 2009].

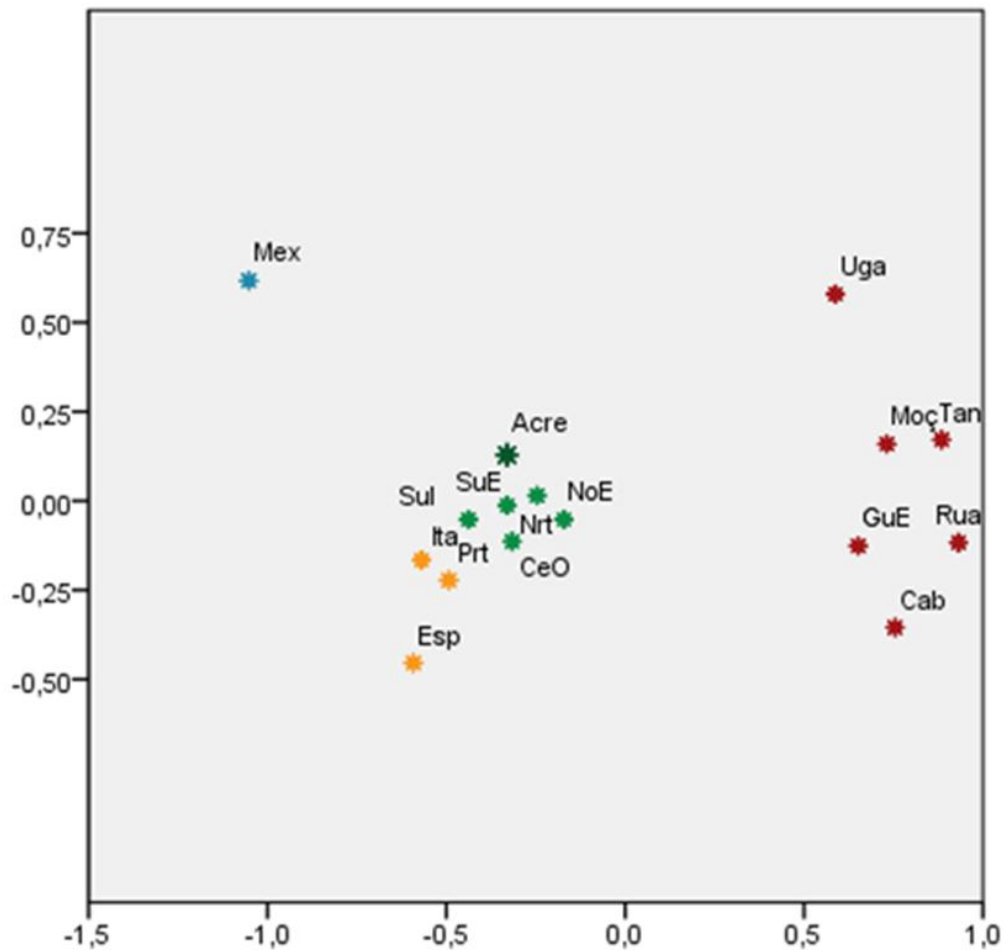


Fig. 11 - Gráfico de escalonamento multidimensional (MDS) baseado na distância genética de Nei calculada entre a população do Acre e as populações brasileiras estudadas por Poiaries *et al.* (2010), além das populações do México, Espanha, Itália, Portugal, Ruanda, Moçambique, Tanzânia, Cabinda (Angola), Guiné Equatorial e Uganda.

Amarelo: Europa; Verde: regiões brasileiras; Vermelho: África. Mex: México; Nrt: Norte; NoE: Nordeste; SuE: Sudeste; CeO: Centro-Oeste; Ita: Itália; Prt: Portugal; Esp: Espanha; Uga: Uganda; Moç: Moçambique; Tan: Tanzânia; GuE: Guiné Equatorial; Rua: Ruanda; Cab: Cabinda. Referências para os dados populacionais usados: Sul, Sudeste, Centro-Oeste, Nordeste e Norte do Brasil [Poiaries *et al.* (2010)]; México [Juárez-Cedillo *et al.*, 2008]; Espanha [Coudray *et al.*, 2007]; Itália [Brisighelli *et al.*, 2009]; Portugal [Amorim *et al.*, 2006]; Ruanda [Tofanelli *et al.*, 2003]; Moçambique [Alves *et al.*, 2004]; Tanzânia [Forward *et al.*, 2008]; Cabinda (Angola) [Beleza *et al.*, 2004]; Guiné Equatorial [Alves *et al.*, 2005]; Uganda [Gomes *et al.*, 2009].

Tabela 13

Matriz da distância genética de Nei calculada entre a população do Acre e as populações brasileiras estudadas por Poiars *et. al.* (2010), além das populações do México, Espanha, Itália, Portugal, Ruanda, Moçambique, Tanzânia, Cabinda (Angola), Guiné Equatorial e Uganda

	Acre	NorteBR	NordesteBR	Centro-OesteBR	SudesteBR	SulBR	México	Portugal	Espanha	Itália	Guiné Eq.	Cabinda	Uganda	Ruanda	Tanzânia	Moçambique
Acre	0	0.004292	0.005830	0.008494	0.009210	0.008035	0.050977	0.017720	0.038328	0.018740	0.078311	0.088848	0.088832	0.104433	0.096388	0.084822
NorteBR	0.004292	0	0.002719	0.005055	0.005310	0.004301	0.060944	0.011707	0.031343	0.015254	0.071484	0.080335	0.086377	0.092247	0.090122	0.076776
NordesteBR	0.005830	0.002719	0	0.006927	0.006162	0.004739	0.068264	0.010623	0.029382	0.014656	0.063196	0.072457	0.072799	0.080917	0.080504	0.071278
C-OesteBR	0.008494	0.005055	0.006927	0	0.006402	0.005570	0.063805	0.010496	0.028398	0.012336	0.079884	0.093174	0.096706	0.097778	0.098379	0.087510
SudesteBR	0.009210	0.005310	0.006162	0.006402	0	0.004682	0.062595	0.010789	0.028908	0.012883	0.081223	0.090441	0.092555	0.094362	0.096422	0.087949
SulBR	0.008035	0.004301	0.004739	0.005570	0.004682	0	0.066398	0.003440	0.021096	0.008100	0.094742	0.103389	0.100505	0.103408	0.112055	0.102474
México	0.050977	0.060944	0.068264	0.063805	0.062595	0.066398	0	0.088007	0.117255	0.087634	0.179057	0.191538	0.156220	0.198546	0.198799	0.174677
Portugal	0.017720	0.011707	0.010623	0.010496	0.010789	0.003440	0.088007	0	0.015978	0.007532	0.108181	0.116383	0.115876	0.115367	0.126220	0.117245
Espanha	0.038328	0.031343	0.029382	0.028398	0.028908	0.021096	0.117255	0.015978	0	0.017912	0.122739	0.131815	0.131212	0.128407	0.139169	0.135946
Itália	0.018740	0.015254	0.014656	0.012336	0.012883	0.008100	0.087634	0.007532	0.017912	0	0.111725	0.126777	0.116161	0.113104	0.127122	0.120574
Guiné Eq.	0.078311	0.071484	0.063196	0.079884	0.081223	0.094742	0.179057	0.108181	0.122739	0.111725	0	0.020247	0.044310	0.046764	0.023013	0.025523
Cabinda	0.088848	0.080335	0.072457	0.093174	0.090441	0.103389	0.191538	0.116383	0.131815	0.126777	0.020247	0	0.054842	0.054872	0.029639	0.031729
Uganda	0.088832	0.086377	0.072799	0.096706	0.092555	0.100505	0.156220	0.115876	0.131212	0.116161	0.044310	0.054842	0	0.050199	0.047594	0.063229
Ruanda	0.104433	0.092247	0.080917	0.097778	0.094362	0.103408	0.198546	0.115367	0.128407	0.113104	0.046764	0.054872	0.050199	0	0.036656	0.054391
Tanzânia	0.096388	0.090122	0.080504	0.098379	0.096422	0.112055	0.198799	0.126220	0.139169	0.127122	0.023013	0.029639	0.047594	0.036656	0	0.014230
Moçambique	0.084822	0.076776	0.071278	0.087510	0.087949	0.102474	0.174677	0.117245	0.135946	0.120574	0.025523	0.031729	0.063229	0.054391	0.014230	0

Azul: menor valor entre continentes; Vermelho: maior valor entre continentes. Referências para os dados populacionais usados: Sul, Sudeste, Centro-Oeste, Nordeste e Norte do Brasil [Poiars *et. al.* (2010)]; México [Juárez-Cedillo *et al.*, 2008]; Espanha [Coudray *et al.*, 2007]; Itália [Brisighelli *et al.*, 2009]; Portugal [Amorim *et al.*, 2006]; Ruanda [Tofanelli *et al.*, 2003]; Moçambique [Alves *et al.*, 2004]; Tanzânia [Forward *et al.*, 2008]; Cabinda (Angola) [Beleza *et al.*, 2004]; Guiné Equatorial [Alves *et al.*, 2005; Uganda [Gomes *et al.*, 2009].

Como se observa na **Tabela 13**, a distância de Nei entre os países da Europa, África e o México, que são populações bastante diferenciadas geneticamente, variou de 0.087634 entre México e Itália e 0.198799 entre México e Tanzânia. Portanto, este intervalo de valores foi tomado como indicativo de grande divergência genética entre populações, visto que se referem a distâncias entre grupos de continentes diferentes.

Assim sendo, relativo à comparação entre Acre e América do Sul, os únicos valores bastante altos foram encontrados na comparação com Bolívia (0,109442) e Peru (0,062788). Quanto aos outros países e estados brasileiros comparados, o Acre apresentou distância genética não muito elevada, e isto pode ser melhor observado nas **Fig. 13 e 14**, que mostram todos os estados e países agrupados, com exceção da Bolívia e do Peru, que se encontram bastante distantes. É interessante observar que os países fronteiriços com o Brasil, que foram colonizados pela Espanha, se localizam às margens deste agrupamento, o que pode ser reflexo da diferente história de colonização. As populações da Bolívia e do Peru ainda se mostram bastante conservadas geneticamente, com forte presença do componente nativo no seu conjunto genético, justificando as grandes distâncias encontradas em relação às outras populações.

Convém salientar que apesar de o território do Acre haver pertencido à Bolívia antes de se tornar brasileiro, e de ser fronteiriço com este e com o Peru, a presença de bolivianos e peruanos não veio influenciar significativamente o conjunto genético da população acriana. Mesmo quando pertencente à Bolívia, o território hoje acriano nunca foi densamente habitado por indivíduos dessas nacionalidades, como já foi discutido na introdução.

Ainda em comparação com a América do Sul, esperava-se encontrar uma maior proximidade com os estados nordestinos, porém, como a Bahia é o único estado com dados genéticos disponíveis para comparação, e não tendo sido este um dos estados de origem das ondas migratórias para o norte, tal proximidade não pôde ser confirmada.

Estudos comparativos como este, realizados com as populações de Santa Catarina [Ocampos *et al.*, 2009] e Rio Grande do Sul [Chula *et al.*, 2009], encontraram maior distância genética com a população da Amazônia, e atribuem parte desta distância genética à distância geográfica. Porém, no presente estudo, não foi possível verificar correlação positiva entre as distâncias geográfica e genética em relação ao Acre e os estados brasileiros considerados. Isto é claramente observado na **Figura 15**, onde o valor de R^2 mostrou-se negativo.

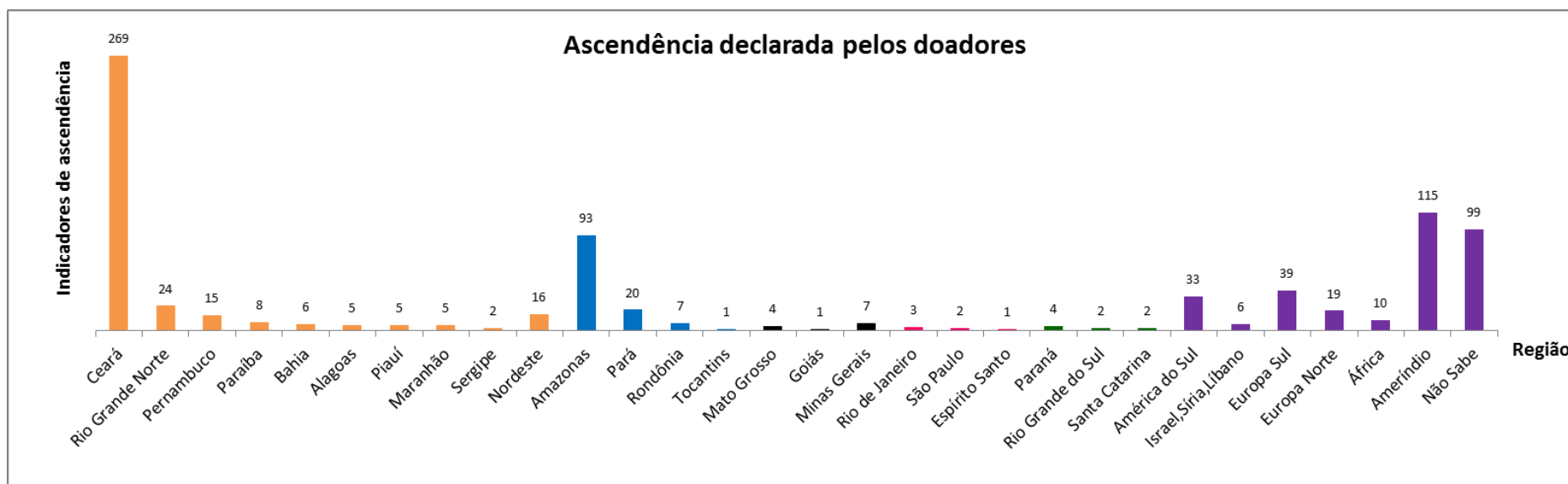


Fig. 12 - Gráfico da ascendência declarada pelos doadores participantes deste estudo. Laranja: Nordeste do Brasil; Azul: Norte do Brasil; Preto: Centro-Oeste do Brasil; Rosa: Sudeste do Brasil; Verde: Sul do Brasil; Violeta: outros.

Tabela 14

Matriz da distância genética de Nei calculada entre a população do Acre e de outros estados brasileiros e países fronteiriços com o Brasil

	Acre	Pará	Bahia	Goiás	Minas Gerais	Mato do Sul	G. Paulo	São Paulo	Rio de Janeiro	Espírito Santo	Paraná	Santa Catarina	Rio Grande Sul	Uruguai	Argenti-na	Paraguai	Bolívia	Peru	Colômbia	Venezue-la
Acre	0	0.011326	0.010515	0.017439	0.008458	0.011371	0.015053	0.009913	0.012051	0.007465	0.008481	0.006595	0.015263	0.008980	0.018711	0.109442	0.062788	0.019680	0.008208	
Pará	0.011326	0	0.016753	0.022461	0.014283	0.018998	0.019930	0.015445	0.015545	0.013571	0.014106	0.013179	0.019273	0.019038	0.029666	0.137148	0.084295	0.031315	0.013052	
Bahia	0.010515	0.016753	0	0.013783	0.002230	0.014522	0.013965	0.007223	0.007683	0.009996	0.009982	0.008274	0.019041	0.020898	0.035019	0.145906	0.090995	0.038417	0.014222	
Goiás	0.017439	0.022461	0.013783	0	0.007638	0.020502	0.008155	0.008840	0.014169	0.007944	0.006887	0.007651	0.012198	0.022237	0.043112	0.163630	0.114541	0.044789	0.018229	
Minas Gerais	0.008458	0.014283	0.002230	0.007638	0	0.011475	0.008099	0.003829	0.007333	0.005313	0.005435	0.004388	0.013482	0.017471	0.033197	0.147594	0.096233	0.036670	0.012937	
Mato G. do Sul	0.011371	0.018998	0.014522	0.020502	0.011475	0	0.014303	0.013590	0.017593	0.009692	0.010748	0.010739	0.016646	0.015987	0.027796	0.139789	0.089287	0.033829	0.013851	
São Paulo	0.015053	0.019930	0.013965	0.008155	0.008099	0.014303	0	0.009426	0.015697	0.003751	0.004127	0.005186	0.012664	0.015529	0.031209	0.153887	0.106456	0.034597	0.014901	
Rio de Janeiro	0.009913	0.015445	0.007223	0.008840	0.003829	0.013590	0.009426	0	0.011689	0.006621	0.006382	0.005560	0.011794	0.016819	0.032867	0.143987	0.093047	0.035261	0.014829	
Espírito Santo	0.012051	0.015545	0.007683	0.014169	0.007333	0.017593	0.015697	0.011689	0	0.009283	0.009302	0.008903	0.017091	0.017653	0.031272	0.139190	0.087633	0.037901	0.016786	
Paraná	0.007465	0.013571	0.009996	0.007944	0.005313	0.009692	0.003751	0.006621	0.009283	0	0.000724	0.001033	0.008780	0.008292	0.021823	0.135966	0.087522	0.025671	0.009557	
Santa Catarina	0.008481	0.014106	0.009982	0.006887	0.005435	0.010748	0.004127	0.006382	0.009302	0.000724	0	0.001116	0.008403	0.008881	0.023969	0.136134	0.088680	0.026414	0.010417	
Rio Grande Sul	0.006595	0.013179	0.008274	0.007651	0.004388	0.010739	0.005186	0.005560	0.008903	0.001033	0.001116	0	0.010490	0.007869	0.022078	0.129771	0.082706	0.023465	0.008056	
Uruguai	0.015263	0.019273	0.019041	0.012198	0.013482	0.016646	0.012664	0.011794	0.017091	0.008780	0.008403	0.010490	0	0.015920	0.033605	0.143968	0.097355	0.039052	0.017820	
Argentina	0.008980	0.019038	0.020898	0.022237	0.017471	0.015987	0.015529	0.016819	0.017653	0.008292	0.008881	0.007869	0.015920	0	0.011478	0.084912	0.048251	0.010986	0.007024	
Paraguai	0.018711	0.029666	0.035019	0.043112	0.033197	0.027796	0.031209	0.032867	0.031272	0.021823	0.023969	0.022078	0.033605	0.011478	0	0.094315	0.049387	0.015468	0.017261	
Bolívia	0.109442	0.137148	0.145906	0.163630	0.147594	0.139789	0.153887	0.143987	0.139190	0.135966	0.136134	0.129771	0.143968	0.084912	0.094315	0	0.022987	0.079401	0.104663	
Peru	0.062788	0.084295	0.090995	0.114541	0.096233	0.089287	0.106456	0.093047	0.087633	0.087522	0.088680	0.082706	0.097355	0.048251	0.049387	0.022987	0	0.039475	0.059919	
Colômbia	0.019680	0.031315	0.038417	0.044789	0.036670	0.033829	0.034597	0.035261	0.037901	0.025671	0.026414	0.023465	0.039052	0.010986	0.015468	0.079401	0.039475	0	0.014364	
Venezuela	0.008208	0.013052	0.014222	0.018229	0.012937	0.013851	0.014901	0.014829	0.016786	0.009557	0.010417	0.008056	0.017820	0.007024	0.017261	0.104663	0.059919	0.014364	0	

Referências para os dados populacionais usados: Acre [este estudo], Rio Grande do Sul [Chula *et al.*, 2009], Paraná [Poiares *et al.*, 2009], Minas Gerais [del Castillo *et al.*, 2009], Santa Catarina [Ocampos *et al.*, 2009], Rio de Janeiro [Rodrigues *et al.*, 2009], Bahia [Nascimento *et al.*, 2011], Pará [Rodrigues *et al.*, 2007], Mato grosso do Sul [Silva *et al.*, 2004], Espírito Santo [Wolfgramm *et al.*, 2011], São Paulo [São-Bento *et al.*, 2008], Goiás [Godinho, 2008], Bolívia [Rocabado *et al.*, 2009], Peru [Pérez *et al.*, 2003], Colômbia [Sánchez-Diz *et al.*, 2009], Paraguai [Martinez-Espin *et al.*, 2003], Uruguai [Sóñora *et al.*, s.d.], Argentina [Toscanini *et al.*, 2007] e Venezuela [Chiurillo *et al.*, 2003].

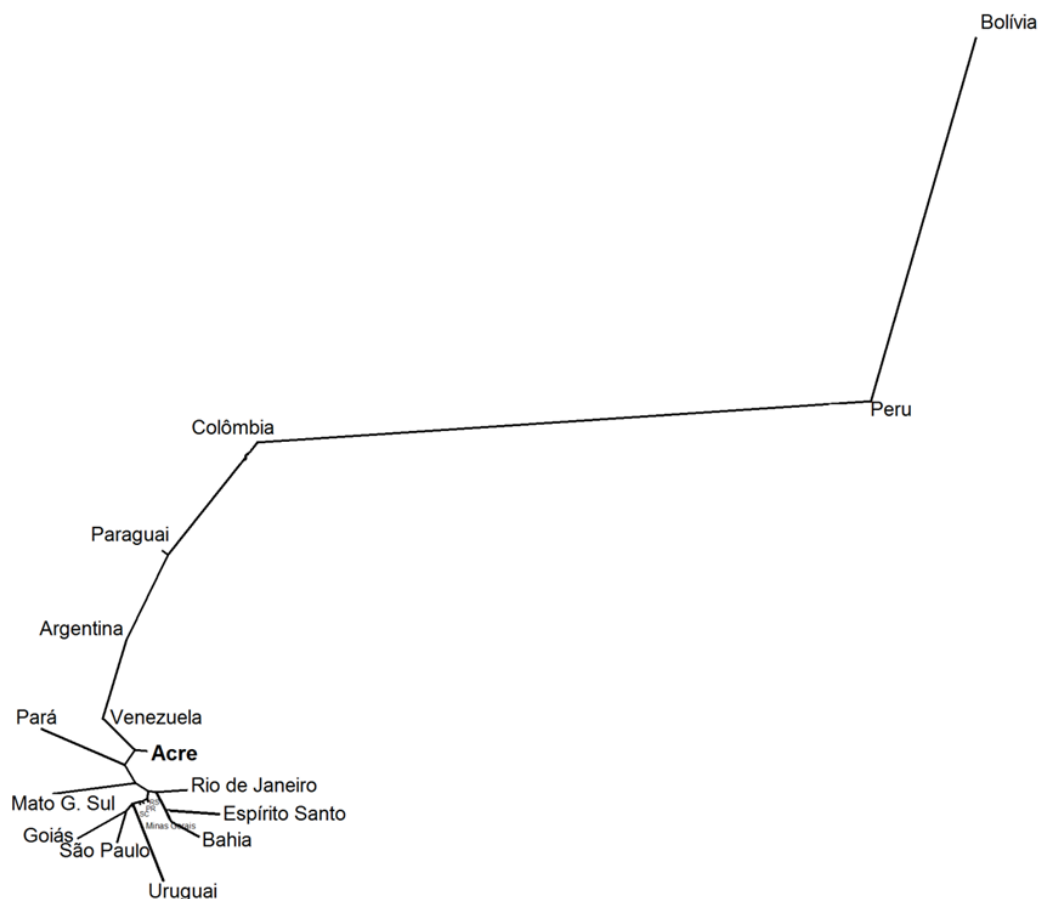


Fig. 13 - Árvore *neighbor-joining* baseada na distância genética de Nei calculada entre a população do Acre e de outros estados brasileiros e países fronteiriços com o Brasil.

Em letras minúsculas estão: RS = Rio Grande do Sul; PR = Paraná; SC = Santa Catarina e Minas Gerais. Referências para os dados populacionais usados: Acre [este estudo], Rio Grande do Sul [Chula *et al.*, 2009], Paraná [Poiars *et al.*, 2009], Minas Gerais [del Castillo *et al.*, 2009], Santa Catarina [Ocampos *et al.*, 2009], Rio de Janeiro [Rodrigues *et al.*, 2009], Bahia [Nascimento *et al.*, 2011], Pará [Rodrigues *et al.*, 2007], Mato grosso do Sul [Silva *et al.*, 2004], Espírito Santo [Wolfgramm *et al.*, 2011], São Paulo [São-Bento *et al.*, 2008], Goiás [Godinho, 2008], Bolívia [Rocabado *et al.*, 2009], Peru [Pérez *et al.*, 2003], Colômbia [Sánchez-Diz *et al.*, 2009], Paraguai [Martinez-Espin *et al.*, 2003], Uruguai [Sóñora *et al.*, s.d.], Argentina [Toscanini *et al.*, 2007] e Venezuela [Chiurillo *et al.*, 2003].

Deve-se levar em conta que a maioria das bases de dados brasileiras utilizadas para verificar a distância genética foi elaborada a partir de DNA de indivíduos que se submeteram a testes de vínculo genético, e portanto não representam todas as classes sociais da população. A maior parte das bases de dados brasileiras não deixa claro se a amostragem engloba indivíduos de todo o estado ou região a que se referem ou se a coleta foi restrita a algumas áreas.

Além disso, em algumas das bases de dados utilizadas foram detetados pequenos desvios na soma das frequências alélicas, provavelmente devido a falha de arredondamento: na base de dados do Amapá [Francez *et al.*, 2011] a soma das frequências no locus CSF1PO é 1,02; na de São Paulo [São-Bento *et al.*, 2008] a soma das frequências no locus D13S317 é 1,01001; e a soma das frequências do locus D18S51 na base de dados do Mato Grosso do Sul [Silva *et al.*, 2004] é 1,015.

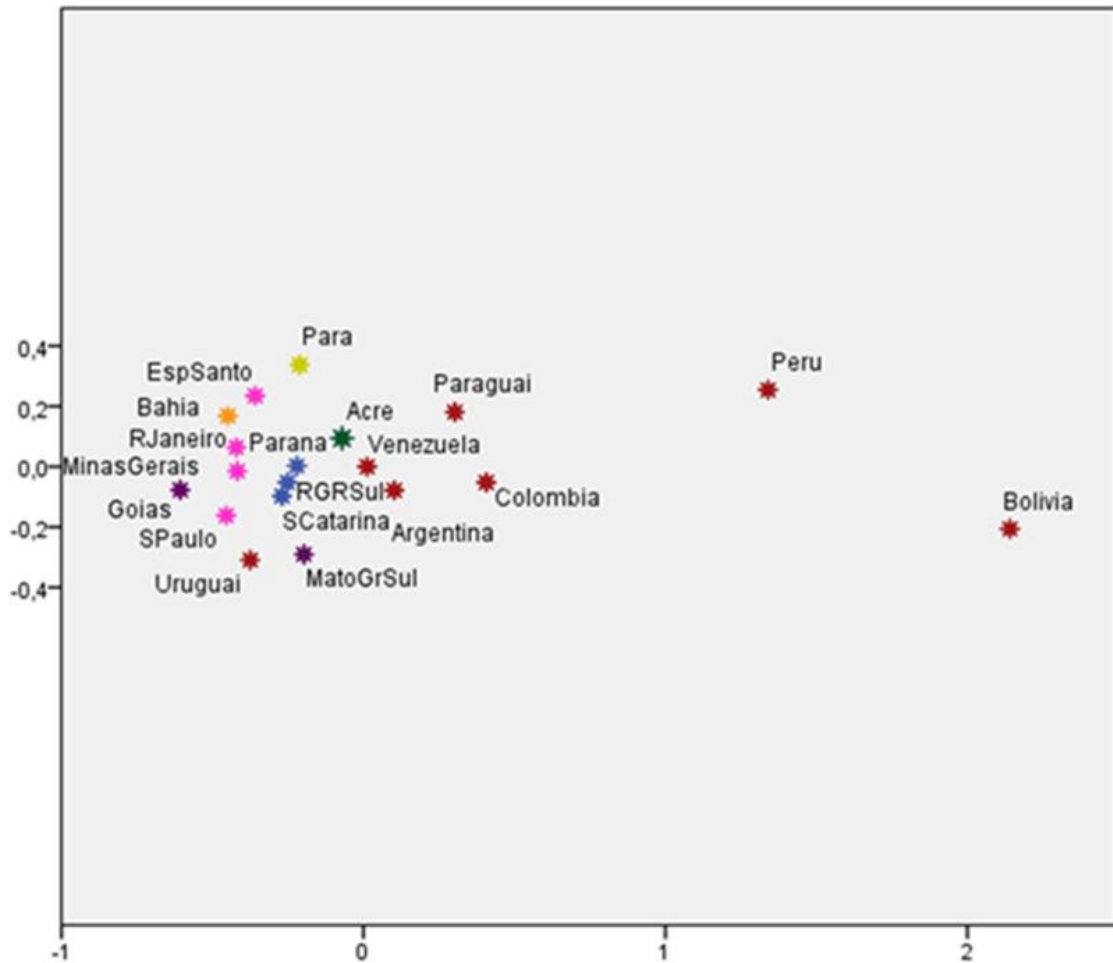


Fig. 14 - Gráfico de escalonamento multidimensional (MDS) baseado na distância genética de Nei calculada entre a população do Acre e de outros estados brasileiros e países fronteiriços com o Brasil. Verde claro: norte do Brasil; Amarelo: nordeste do Brasil; Rosa: sudeste do Brasil; Violeta: centro-oeste do Brasil; Azul: sul do Brasil; Vermelho: países fronteiriços com o Brasil. Referências para os dados populacionais usados: Acre [este estudo], Rio Grande do Sul [Chula *et al.*, 2009], Paraná [Poiares *et al.*, 2009], Minas Gerais [del Castillo *et al.*, 2009], Santa Catarina [Ocampos *et al.*, 2009], Rio de Janeiro [Rodrigues *et al.*, 2009], Bahia [Nascimento *et al.*, 2011], Pará [Rodrigues *et al.*, 2007], Mato grosso do Sul [Silva *et al.*, 2004], Espírito Santo [Wolfgramm *et al.*, 2011], São Paulo [São-Bento *et al.*, 2008], Goiás [Godinho, 2008], Bolívia [Rocabado *et al.*, 2009], Peru [Pérez *et al.*, 2003], Colômbia [Sánchez-Diz *et al.*, 2009], Paraguai [Martinez-Espin *et al.*, 2003], Uruguai [Sóñora *et al.*, s.d.], Argentina [Toscanini *et al.*, 2007] e Venezuela [Chiurillo *et al.*, 2003].

Não se observaram distâncias genéticas grandes entre Acre e os demais estados e países fronteiriços com o Brasil com os 12 loci utilizados. Isto porque estes marcadores apresentam baixo valor de F_{ST} entre populações de grupos étnicos diversos [Francez *et al.*, 2011]. Porém, é exatamente por não apresentarem diferenças significativas nas frequências gênicas entre diferentes grupos populacionais que foram eleitos para serem empregados em investigações civis e criminais, a fim de reduzir o risco de erros estatísticos [Francez *et al.*, 2011].

Atualmente os casos forenses no estado do Acre contam com duas bases de dados para os testes genéticos, uma geral da população brasileira [Grattapaglia *et al.*, 2001] e outra da população de Macapá, no estado do Amapá, norte do Brasil [Francez *et al.*, 2011] (Comunicação pessoal Pablo Francez). Com o objetivo de verificar a

adequabilidade das bases de dados utilizadas atualmente nos casos forenses estaduais, foi medida a distância entre os dados de frequência alélica da população do Acre e os dados da população brasileira e os da população de Macapá.

Convém ressaltar que esta medida de distância foi realizada com apenas 12 loci, correspondentes aos loci representados na base de dados do Amapá, e que esta foi elaborada a partir de amostras oriundas de laboratório de análises clínicas, como muitas outras bases de dados brasileiras já discutidas anteriormente.

As distâncias de Nei entre Acre e as duas bases de dados foram muito semelhantes e pequenas: 0,007614 com Brasil e 0,00785 com Amapá, e as três populações apresentam praticamente a mesma diversidade genética (**Tabela 15**). Os valores de F_{ST} também foram baixos, apresentando valores de P significativos apenas entre Brasil e Amapá (**Tabela 16**). Ou seja, as três bases de dados são apropriadas para auxiliar na resolução dos casos forenses do Acre. Uma alternativa interessante seria compilar os dados das três bases de dados, resultando em uma base de dados comum.

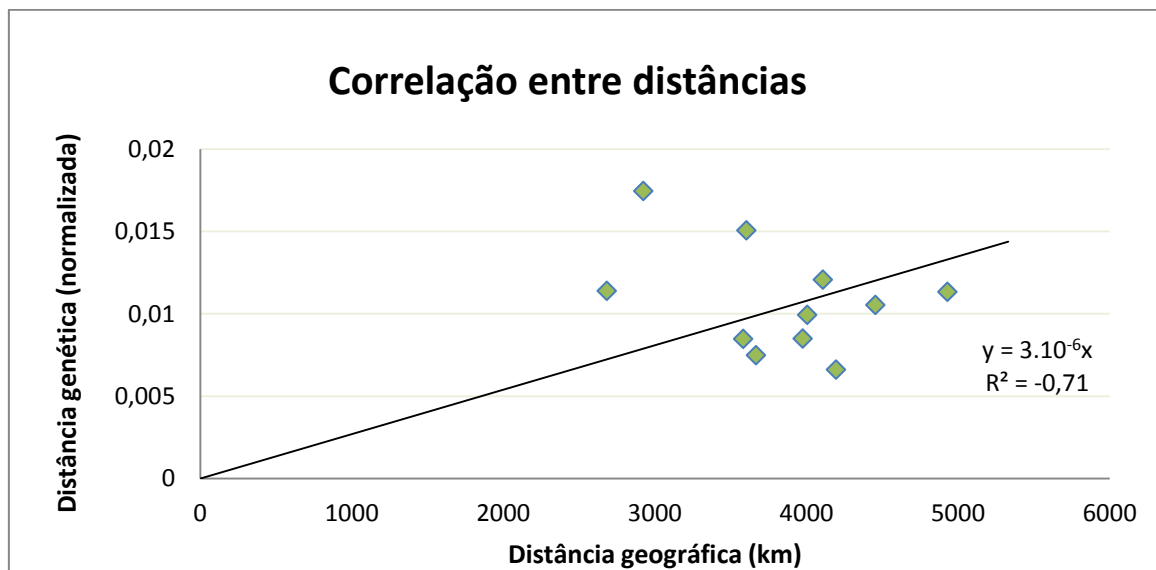


Fig. 15 - Gráfico de correlação entre distância genética de Nei e distância geográfica entre as capitais do estado do Acre e dos demais estados brasileiros considerados neste estudo. Estados considerados: Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Rio Grande do Sul, Bahia e Pará.

Apesar de não ser de fundamental importância haver uma base de dados específica para o estado do Acre - em função da pequena distância genética observada em relação às duas bases de dados -, esta é uma opção muito útil, já que contém dois loci que estão ausentes nas outras duas bases de dados. Trata-se dos loci D19S433 e D2S1338, tendo sido verificado que o último é um dos loci mais informativos para cálculos estatísticos na população do Acre.

Tabela 15

Matriz da distância genética de Nei calculada entre a população do Acre e as bases de dados utilizadas nos casos criminalísticos do estado do Acre, e Heterozigotias observada e esperada médias para os 12 loci considerados

	Acre	Brasil	Amapá	Hom	Hem
Acre	0			79,4%	79,5%
Brasil	0,007614	0		79,1%	79,5%
Amapá	0,007785	0,016513	0	79,6%	80,0%

Hom: Heterozigotia observada média; Hem: Heterozigotia esperada média.

A última análise de distância genética de Nei foi realizada entre os dados do Acre, do Brasil [Aguiar *et al.*, 2011], dos ameríndios brasileiros Parakanã [dos Santos *et al.*, 2009] e dos ameríndios peruanos Quechua [Callegari-Jacques *et al.*, 2011], a fim de verificar se o Acre se apresenta mais próximo dos indígenas que a população brasileira em geral. Esta medida foi feita considerando os 11 loci presentes nas bases de dados ameríndias.

A tribo Parakanã, do grupo linguístico tupi, habita o sul do rio Amazonas [dos Santos *et al.*, 2009], no sudeste do estado do Pará, no norte do Brasil. Seu contato com não ameríndios é recente e possui pequena mistura genética com estes [Callegari-Jacques & Salzano, 1999]. Os Quechua amostrados no estudo acima são do grupo linguístico de mesmo nome e habitam a região Andina [Callegari-Jacques *et al.*, 2011]. Sua história e biodemografia indicam um baixo nível de mistura interétnica [Luiselli *et al.*, 2000]. Nenhum destes grupos está representado no estado do Acre.

Tabela 16

Valores de F_{ST} , valor de P e erro padrão da análise de comparação populacional entre as bases de dados do Acre, do Brasil e do Amapá par a par

	Acre vs. Brasil		Acre vs. Amapá		Brasil vs. Amapá	
	F_{ST}	Valor de P	F_{ST}	Valor de P	F_{ST}	Valor de P
D8S1179	-0,00009	0.47777+-0.0053	0.00005	0.36887+-0.0054	0.00044	0.15464+-0.0039
D21S11	0.00015	0.29779+-0.0048	0.00037	0.20057+-0.0046	0.00150	0.00881+-0.0009
D7S820	-0,00022	0.57866+-0.0041	0.00207	0.00970+-0.0010	0.00111	0.03604+-0.0019
CSF1PO	-0,00050	0.77032+-0.0044	0.00006	0.35482+-0.0049	0.00130	0.04376+-0.0019
TH01	0.00249	0.00257+-0.0005	0.00095	0.08801+-0.0031	0.00904	0.00000+-0.0000
D13S317	0.00312	0.00139+-0.0004	0.00125	0.03871+-0.0018	0.00336	0.00089+-0.0003
D16S539	0.00068	0.11999+-0.0033	0.00027	0.26255+-0.0041	0.00387	0.00010+-0.0001
VWA	0.00208	0.00594+-0.0007	0.00300	0.00297+-0.0006	0.00416	0.00020+-0.0001
TPOX	0.00149	0.03703+-0.0020	-0,00020	0.50045+-0.0053	0.00048	0.15830+-0.0033
D18S51	0.00148	0.00713+-0.0009	-0.00002	0.43045+-0.0055	0.00265	0.00000+-0.0000
D5S818	0.00132	0.04871+-0.0022	0.00332	0.00277+-0.0005	0.00546	0.00000+-0.0000
FGA	0.00105	0.02831+-0.0018	0.00162	0.00455+-0.0007	0.00648	0.00000+-0.0000

Em vermelho estão os valores significativos após correção de Bonferroni ($P < 0,00139$).

O que se observa nos resultados apresentados na **Tabela 17** é que quanto à população Parakanã, esta se diferencia bastante de todas as outras, estando menos distante do Acre. Quanto aos Quechua, mostram-se menos distantes do Acre que do Brasil. Os valores de distância genética são bastante altos, variando de 14,4% entre Acre e Quechua e 22,8% entre Brasil e Parakanã. Com isso, pode-se inferir que a população do Acre, tem uma menor distância genética com indígenas que o Brasil em geral, pelo menos no que se refere aos grupos ameríndios e marcadores genéticos em questão.

Tabela 17

Matriz da distância genética de Nei calculada entre a população do Acre, uma base de dados da população brasileira e bases de dados de duas populações ameríndias

	Acre	Brasil	Parakanã	Quechua
Acre	0			
Brasil	0,005589	0		
Parakanã	0,203742	0,228172	0	
Quechua	0,144009	0,170588	0,228300	0

Como já foi discutido anteriormente, e é confirmado pelas **Figs. 5 e 12**, há uma considerável participação indígena na composição genética dos acrianos auto-declarados não indígenas. E a grande maioria dos indígenas acrianos pertencem a etnias de origem peruana (família linguística Pano) [FUNTAC, 2008]. Ainda que as etnias da família linguística Quechua não estejam representadas no Acre, pode haver uma maior proximidade genética das etnias acrianas da família Pano com os Quechua que com os Parakanã, já que a distância geográfica é bastante menor entre Peru e Acre que entre o estado do Pará e Acre (**Fig. 1**). Dos Santos e colaboradores (2009) observaram que a similaridade genética é menor quanto maior a distância geográfica linear entre as tribos até 300 km.

Contudo, não é possível tirar conclusões em relação aos resultados referentes às distâncias genéticas entre Acre e outros estados do país e países fronteiriços com o Brasil, bem como entre Acre e grupos indígenas. Os dados disponíveis para tais comparações apenas permitem fazer as inferências já discutidas.

CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS

Este estudo teve como objetivo gerar uma base de dados de DNA para uso forense na população do estado do Acre através da análise de uma amostra de indivíduos não aparentados bastante representativa. Em posse das frequências alélicas e genotípicas, foi possível avaliar se há subestruturação nesta população e calcular os parâmetros estatísticos de uso forense para esta amostragem populacional.

Além da base de dados, como ainda não há estudos desta categoria para esta população, também foram feitas comparações intra e interpopulacionais que nos permitiram avaliar a estruturação da população e a relação genética desta com outras regiões do Brasil e da América Latina, bem como com populações europeias, africanas e ameríndias. Com isso, contribuiu-se com o conhecimento sobre a diversidade da população brasileira.

Mediante os objetivos que haviam sido delineados, foi possível concluir que:

1. Não foi encontrado desvio significativo do equilíbrio de Hardy-Weinberg nos STRs analisados na população acriana, validando a base de dados gerada.
2. Não foi encontrada diferenciação populacional entre as 5 regiões do estado. Isto, juntamente com o fato de não haver sido observado desvio significativo do equilíbrio de Hardy-Weinberg, indica que não há subestrutura populacional e que, portanto, esta base de dados pode ser utilizada em todo o estado;
3. Os parâmetros forenses apresentaram valores altos, indicando que se trata de uma população geneticamente diversa, e que todos os loci analisados são potencialmente informativos para análises no âmbito forense, principalmente os loci FGA e D2S1338, que se destacaram com os mais altos valores;
4. Assim como os outros estados brasileiros, o Acre encontra-se geneticamente mais próximo dos países europeus do que dos africanos;
5. O Acre está geneticamente mais próximo das regiões Norte e Nordeste do Brasil, o que se deve à sua peculiar história de povoamento;
6. Não foi possível observar correlação entre distância genética e distância geográfica entre o Acre e os demais estados brasileiros;
7. Devido à pequena distância genética e pouca diferença em relação à diversidade genética entre a base de dados acriana e as bases de dados atualmente utilizadas nos casos criminalísticos do estado, qualquer uma delas pode ser utilizada nas análises genéticas de indivíduos acrianos. Porém, a base de dados acriana apresenta dois loci a mais que a base de dados brasileira e três a mais que a do Amapá.
8. A população do Acre mostrou mais proximidade genética com populações indígenas do que a população brasileira geral.

Diante dos resultados obtidos com esta pesquisa, para dar sequência ao estudo com o intuito de melhor compreender a estrutura da população do estado do Acre, o passo seguinte seria incluir as comunidades indígenas na análise dos marcadores autossômicos. Além disso, dada a grande mistura populacional presente nesta região, seria interessante um estudo focado nos marcadores informativos de ancestralidade (AIMs), que permitiriam avaliar a diversidade genética relacionada com estes marcadores. A análise do cromossomo Y e do DNA mitocondrial também seria importante, pois além de gerar bases de dados específicas, possibilitaria estimar o grau de contribuição dos grandes grupos populacionais na formação da população acriana.

REFERÊNCIAS

- V.R.C. Aguiar, E.V. Wolfgramm, F.S.V. Malta, A.G. Bosque, A.C. Mafia, V.C.O. Almeida, F.A. Caxito, V.C. Pardini, A.C.S. Ferreira, I.D. Louro, Updated Brazilian STR allele frequency data using over 100,000 individuals: An analysis of CSF1PO, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11, FGA, Penta D, Penta E, TH01, TPOX and vWA loci, *Forensic Science International: Genetics* 6 (4) (2011) 504-509.
- C. Alves, L. Gusmão, A. Damasceno, B. Soares, A. Amorim, Contribution for an African STR database (AmpFISTR Identifiler and PowerPlex 16 System) and a report on genotypic variations, *Forensic Science International* 139 (2004) 201-205.
- C. Alves, L. Gusmão, A.M. López-Parra, M.S. Mesa, A. Amorim, E. Arroyo-Pardo, STR allelic frequencies for an African population sample (Equatorial Guinea) using AmpFISTR Identifiler and PowerPlex 16 Systems, *Forensic Science International* 148 (2005) 239-242.
- A. Amorim, C. Alves, L. Gusmão, L. Pereira, Extended Northern Portuguese database on 21 autosomal STRs in genetic identification, *International Congress Series* 1288 (2006) 364-366.
- Applied Biosystems. AmpFISTR® Identifiler® Plus: PCR Amplification Kit, User Guide, Life Technologies (2009-2011).
- As novidades. Disponível em: <http://asnovidades.com.br/mapa-do-acre-para-colorir/> (Acessado em 03 de setembro de 2012).
- S. Beleza, C. Alves, F. Reis, A. Amorim, A. Carracedo, L. Gusmão, 17 STR data (AmpFISTR Identifiler and PowerPlex 16 System) from Cabinda (Angola), *Forensic Science International* 141 (2004) 193-196.
- B. Brinkmann, M. Klitsch, F. Neuhuber, J. Hühne, B. Rolf, Mutation rate in human microsatellites: influence of the structure and length of the tandem repeat, *American Journal of Human Genetics* 62 (1998) 1408-1415.
- F. Brisighelli, C. Capelli, I. Boschi, P. Garagnani, M.V. Lareu, V.L. Pascali, A. Carracedo, Allele frequencies of fifteen STRs in a representative sample of the Italian population, *Forensic Science International: Genetics* 3 (2009) e29-e30.
- J.M. Butler, *Forensic DNA Typing: Biology, Technology, and Genetics of STR Markers* (2th ed), Elsevier Academic Press, New York, USA (2005).
- J.M. Butler, Genetics and Genomics of Core Short Tandem Repeat Loci Used in Human Identity Testing, *Journal of Forensic Science* 51 2 (2006) 253-265.
- S.M. Callegari-Jacques, F.M. Salzano, Brazilian Indian/nonIndian interactions and their effects, *Ciência e Cultura*, São Paulo, 51 (1999) 166-174. In: S.E.B. dos Santos, E.M. ribeiro-Rodrigues, A.K.C. Ribeiro-dos-Santos, M.H. Hutz, L. Tovo-Rodrigues, F.M. Salzano, S.M. Callegari-Jacques, Autosomal STR analyses in native Amazonian tribes suggest a population structure driven by isolation by distance, *Human Biology* 81 (1) (2009) 71-88.
- S.M. Callegari-Jacques, S.G. Crossetti, F.B. Kohlrausch, F.M. Salzano, L.T. Tsuneto, M.L. Petzl-Erler, K. Hill, A.M. Hurtado, M.H. Hutz, The β -globin gene cluster distribution revisited – patterns in Native American populations, *American Journal of Physical Anthropology* 134 (2007) 190-197. In: S.M. Callegari-Jacques, E.M. Tarazona-Santos, R.H. Gilman, P. Herrera, L. Cabrera, S.E.B. dos Santos, L. Morés, M.H. Hutz, F.M. Salzano, Autosomal STRs in Native

South America – Testing Models of Association With Geography and Language, *American Journal of Physical Anthropology* 145 (2011) 371-381.

- S.M. Callegari-Jacques, E.M. Tarazona-Santos, R.H. Gilman, P. Herrera, L. Cabrera, S.E.B. dos Santos, L. Morés, M.H. Hutz, F.M. Salzano, Autosomal STRs in Native South America – Testing models of association with geography and language, *American Journal of Physical Anthropology* 145 (2011) 371-381.

- D.M. del Castillo, C. Perone, A.R. de Queiroz, P.H.O. Mourão, L.S. Vasconcellos, M.A. do Nascimento, J.N. Januario, Populational genetic data for 15 STR markers in the Brazilian population of Minas Gerais, *Legal Medicine* 11 (2009) 45-47.

- M. Chakhparonian, R.J. Wellinger, Telomere maintenance and DNA replication: how closely are these two connected? *Trends in Genetics* 2003 19 (8) (2003) 439-446. In: J.M. Butler, *Genetics and Genomics of Core Short Tandem Repeat Loci Used in Human Identity Testing*, *J Forensic Sci* Vol. 51 N° 2 (2006) 253-265.

- M.A. Chiurillo, A. Morales, A.M. mendes, N. Lander, F. Tovar, A. Fuentes, J.L. Ramírez, Genetic profiling of a central Venezuelan population using 15 STR markers that may be of forensic importance, *Forensic Science International* 136 (2003) 99-101.

- F.G.L. Chula, R. Rodenbusch, S. Schumacher, T. Grandi, C.T. Michelon, A.Z. Gastaldo, C. Costi, B. Carvalho, C.M.D. da Silva, 15 STR loci frequencies with mutation rates in the population from Rio Grande do Sul, Southern Brazil, *Forensic Science International: Genetics* 3 (2009) e35-e38.

- T.M. Clayton, J.L. Guest, A.J. Urquhart, P.D. Gill, A genetic basis for anomalous band patterns encountered during DNA STR profiling, *Journal of Forensic Science* 49 (2004) 1207-1214.

- Correio do Povo. <http://www.correiodopovo.com.br/Noticias/?Noticia=427730> (Acessado em 09 de julho de 2012).

- C. Coudray, R. Calderon, E. Guitard, B. Ambrosio, A. González-Martín, J. Dugoujon, Allele frequencies of 15 tetrameric short tandem repeats (STRs) in Andalusians from Huelva (Spain), *Forensic Science International* 168 (2007) e21-e24.

- M.C. Cunha (Org.), História dos índios do Brasil, Companhia das Letras: FAPESP (1992). Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/tendencia_demografica/indigenas/indigenas.pdf (Acessado em 16 de julho de 2012).

- E. Dellalibera, M.L.B. Havro, M. Souza, K. Kajihara, L. Mauricio-da-Silva, R.S. Silva, Genetic analysis of 13 STR loci in the population from the State of Pernambuco, northeast Brazil, *Forensic Science International* 146 (2004) 57-59.

- I.W. Evett, J.S. Buckleton, Statistical analysis of STR data (1996), In: A. Carracedo, B. Brinkmann, W. Bar (Eds), *Advances in Forensic Haemogenetics* 6, New York: Springer-Verlag, pp. 79–86.

- L. Excoffier and H.E. L. Lischer, Arlequin suite ver. 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows, *Molecular Ecology Resources* 10 (2010) 564-567.

- J. Felsenstein, PHYLIP (Phylogeny Inference Package) (3.64 ed). Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle (2005).
- F.L. Ferreira, E.R. Leal-Mesquita, S.E.B. dos Santos, A.K.C. Ribeiro-dos-Santos, Genetic characterization of the population of São Luís, MA, Brazil, *Genetics and Molecular Biology*, 28 (1) (2005) 22-31.
- S. Filippini, G. Jankilevich, M. Barugel, O. Santapá, S. Valente, E. Roca, A.M. Di Lonardo, Microsatellite instability detection in hereditary colorectal cancer: is it possible in a public hospital?, *International Congress Series* 1261 (2004) 505-507.
- R.A. Fisher, Standard calculations for evaluating a blood-group system, *Heredity* 5 (1951) 95-102.
- B.W. Forward, M.W. Eastman, T.B. Nyambo, R.E. Ballard, AmpFISTR Identifier STR allele frequencies in Tanzania, Africa, *Journal of Forensic Science* 53 (2008) 245.
- P.A.C. Francez, E.M.R. Rodrigues, G.F. Frazão, N.D.R. Borges, S.E.B. dos Santos, Allelic frequencies and statistical data obtained from 12 codis STR loci in an admixed population of the Brazilian Amazon, *Genetics and Molecular Biology*, 34 (1) (2011) 35-39.
- P.A.C. Francez, E.M. Ribeiro-Rodrigues, S.E.B. dos Santos, Allelic frequencies and statistical data obtained from 48 AIM INDEL loci in a admixed population from the Brazilian Amazon, *Forensic Science International: Genetics* 6 (2012) 132-135.
- FUNAI (Fundação Nacional do Índio). <http://www.funai.gov.br/> (Acessado em 16 de julho de 2012).
- FUNTAC (Fundação de Tecnologia do Estado do Acre), Atlas do Estado do Acre. (2008). Disponível em: <http://www.acre.ac.gov.br/> (Acessado em 17 de abril de 2010).
- GHEP-ISFG (Grupo de Línguas Espanhola e Portuguesa da International Society for Forensic Genetics). <http://www.gep-isfg.org/ISFG/Portugues/portada.php> (Acessado em 24 de julho de 2012).
- T. Glick, The Rockefeller Foundation and the emergence of genetics in Brazil, (1994) 1943-1960. In: M. Cueto (Ed.), *Missionaries of Science: The Rockefeller Foundation and Latin America*. Indiana University Press, Bloomington, p. 149-164.
- Globo TV. <http://globo.globo.com/rede-globo/mgtv-2a-edicao/t/edicoes/v/presidente-dilma-rousseff-sanciona-lei-que-cria-banco-de-dados-geneticos-no-pais/1969555/> (Acessado em 09 de julho de 2012).
- B. Glock, T. Wagner, E.M. Dauber, R.B.K. Reisacher, S. Stadlbacher, D. Tröscher, S.O. Rennhofer, G. Lanzer, W.R. Mayr, Investigation of chimerism in a healthy, adult female by means of minisatellite and microsatellite typing, *International Congress Series* 1239 (2003) 561-563.
- N.M.O. Godinho, O impacto das migrações na constituição genética das populações latino-americanas, Tese de doutorado, UnB, Brasília (2008).

- A.V. Gomes, L. Mauricio-da-Silva, G. Raposo, J.R.C. Vieira, R.S. Silva, 13 STR loci frequencies in the population from Paraíba, Northeast Brazil, *Forensic Science International* 173 (2007) 231-234.
- V. Gomes, P. Sánchez-Diz, C. Alves, I. Gomes, A. Amorim, A. Carracedo, L. Gusmão, Population data defined by 15 autosomal STR loci in Karamoja population (Uganda) using AmpFISTR Identifiler kit, *Forensic Science International: Genetics* 3 (2009) e55-e58.
- W.A. Goodwin, A. Linacre, S. Hadi, *An Introduction to Forensic Genetics*, John Wiley & Sons Ltd, England (2007).
- Governo do Estado do Acre, *Acre em Números 2011*, Secretaria de Estado de Planejamento – SEPLAN, Rio Branco – Acre (2011). Disponível em: <http://www.ac.gov.br> (Acessado em 16 de julho de 2012).
- D. Grattapaglia, A.B. Schmidt, C. Costa e Silva, C. Stringher, A.P. Fernandes, M.E. Ferreira, Brazilian population database for the 13 STR loci of the AmpFISTR® Profiler® Plus™ and Cofiler™ multiplex kits, *Forensic Science International* 118 (2001) 91-94.
- A.J.F. Griffiths, S.R. Wessler, R.C. Lewontin, S.B. Carroll, *Introduction to Genetic Analysis* (9th ed), W. H. Freeman, New York (2008).
- K.A. Huston, *Statistical Analysis of STR Data, Technical Tips, Profiles in DNA*, Promega (1998) 14-15.
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=ac> (Acessado em: 25 de julho de 2012).
- IBM Corporation, *IBM SPSS Statistics for Windows, Version 19.0*. Armonk, NY.
- U.-D. Immel, M. Kleiber, M. Neerman-Arbez, M. Klitschar, An isolated exclusion in the FGA system, *International Congress Series* 1261 (2004) 148-150.
- A. Janvier, B. Farlow, B.S. Wilfond, The experiences of families with children with trisomy 13 and 18 in social networks, *Pediatrics* 130 (2) (2012) 293-298.
- M.A. Jobling, M.E. Hurles, C. Tyler-Smith, *Human Evolutionary Genetics: origins, peoples & Disease*, Garland Science, New York (2004).
- C.M. Jr Lewis, B. Lizárraga, R.Y. Tito, P.W. López, G.C. Iannacone, A. Medina, R. Martínez, S.I. Polo, A.F. de la Cruz, A.M. Cáceres, A.C. Stone, Mitochondrial DNA and the peopling of South America, *Human Biology* 79 (2007) 159-178. In: S.M. Callegari-Jacques, E.M. Tarazona-Santos, R.H. Gilman, P. Herrera, L. Cabrera, S.E.B. dos Santos, L. Morés, M.H. Hutz, F.M. Salzano, *Autosome STRs in Native South America – Testing Models of Association With Geography and Language*, *American Journal of Physical Anthropology* 145 (2011) 371-381.
- T. Juárez-Cedillo, J. Zuñiga, V. Acuña-Alonzo, N. Pérez-Hernández, J.M. Rodríguez-Pérez, R. Barquera, G.J. Gallardo, R. Sánchez-Arenas, C. García-Peña Mdel, J. Granados, G. Vargas-Alarcón, Genetic admixture and diversity estimations in the Mexican Mestizo population from Mexico City using 15 STR polymorphic markers, *Forensic Science International: Genetics* 2 (2008) e37-e39.

- H.S. Klein, O Comércio Atlântico de Escravos: quatro séculos de comércio escravagista (1ª edição), Editora Replicação, Lisboa (2002).
- A.B. Lane, The nature of tri-allelic TPOX genotypes in African populations, *Forensic Science International: Genetics* 2 (2008) 134-137.
- M.V. Lareu, C.P. Phillips, A. Carracedo, A.J. Lincoln, D. Syndercombe Court, J.A. Thomson, Investigation of the STR locus HUMTH01 using PCR and two electrophoresis formats: UK and Galician Caucasian population surveys and usefulness in paternity investigations, *Forensic Science International* 66 (1994) 41-52.
- E.J. Louis, A.V. Vershinin, Chromosome ends: different sequences may provide conserved functions, *BioEssays* 27 (2005) 685-697. **In:** J.M. Butler, *Genetics and Genomics of Core Short Tandem Repeat Loci Used in Human Identity Testing*, *Journal of Forensic Science* Vol. 51 Nº 2 (2006) 253-265.
- D. Luiselli, L. Simoni, E. tarazona-Santos, S. Pastor, D. Pettener, Genetic structure of Quechua-speakers of the Central Andes and geographic patterns of gene frequencies in South Amerindian populations, *American Journal of Physical Anthropology* 113 (2000) 5-17. **In:** S.M. Callegari-Jacques, E.M. Tarazona-Santos, R.H. Gilman, P. Herrera, L. Cabrera, S.E.B. dos Santos, L. Morés, M.H. Hutz, F.M. Salzano, Autosomal STRs in native South America – Testing models of association with geography and language, *American Journal of Physical Anthropology* 145 (2011) 371-381.
- E. Martinez-Espin, F. Fernández-Rosado, M.C. Alvarez, C. Entrala, J.A. Lorente, M. Oviedo de Duarte, E. Villanueva, B. Budowle, Paraguayan population data on the fifteen STR loci included in the PowerPlex 16™ kit, *Journal of Forensic Science* 48 (1) (2003) 253-255.
- E. Nascimento, E. Cerqueira, L. Gusmão, Population database defined by 13 autosomal STR loci in a representative sample from Bahia, Northeast Brazil, *Forensic Science International: Genetics* 5 (2011) e38-e40.
- National Research Council, The evaluation of forensic DNA evidence, National Academy press, Washington, D.C. (1996).
- M.V. Neves, Uma breve história da luta acreana, in: *Caderno Povos da Floresta*, Ed. Carlos Carvalho, Rio Branco – Acre (s.d.) p. 12-20.
- M. Ocampos, R.C. Fernandes, A.F.S. Latorre, C.M.D. da Silva, F.P. Korndorfer, A.C. Giamarusti, M.E. Menezes, 15 STR loci frequencies in the population from Santa Catarina, Southern Brazil, *Forensic Science International: Genetics* 3 (2009) e129-e131.
- Y. Ohno, I.M. Sebetan, S. Akaishi, A simple method for calculating the probability of excluding paternity with any number of codominant alleles, *Forensic Science International* 19 (1982) 93-98.
- L.A.P. Oliveira, O sertanejo, o brabo e o posseiro (Os cem anos de andanças da população acreana), Belo Horizonte: UFMG (1982).
- R.D.M. Page, Treeview: An application to display phylogenetic trees on personal computers, *Comput Appl Biosci* 12(4) (1996) 357-358.

- S.D.J. Pena, Homo brasilis: Aspectos Genéticos, Lingüísticos, Históricos e Socioantropológicos da Formação do Povo Brasileiro (2ª edição), FUNPEC-Editora, Ribeirão Preto - SP (2002).
- L. Pérez, J. Hau, F. Izarra, O. Ochoa, U. Zubiarte, O. García, Allele frequencies for the 13 CODIS STR loci in Peru, Forensic Science International 132 (2003) 164-165.
- B.J. Pimentel, D.A. de Azevedo, L.A.F. da Silva, Population Genetics of Eleven STR Loci in the State of Sergipe, Northeastern Brazil, Journal of forensic Science 49 (2) (2004) 1-2.
- L.A. Poiares, P.S. Osorio, F.A. Spanhol, S.C. Coltre, R. Rodenbusch, C.C. Branco, P.R. Pacheco, L. Mota-Vieira, A. Largura, F. Sandrini, C.M.D. da Silva, 15 STR loci frequencies in the population from Paraná, Southern Brazil, Forensic Science International: Genetics 4 (2009) e23-e24.
- L.A. Poiares, P.S. Osorio, F.A. Spanhol, S.C. Coltre, R. Rodenbusch, L. Gusmão, A. Largura, F. Sandrini, C.M.D. da Silva, Allele frequencies of 15 STRs in a representative sample of the Brazilian population, Forensic Science International: Genetics 4 (2010) e61-e63.
- Portal do Governo do Acre. Disponível em: <http://www.ac.gov.br> (Acessado em 27 de julho de 2012).
- Presidência da República Federativa do Brasil. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2011-2014/2012/Lei/L12654.htm (Acessado em 06 de setembro de 2012).
- C.M.D. Ranzi, Raízes do Acre (3ª edição), Rio Branco: Editora UFAC (2008).
- A.C.F. Reis, A conquista do Acre, in: Anais do III Congresso Sul-Riograndense de história e Geografia, Globo, Porto Alegre (1940) p. 2065-2094. In: C.M.D. Ranzi, Raízes do Acre (3ª edição), Rio Branco: Editora UFAC (2008).
- O. Rocabado, P. Taboada, F.J. Inda, I. Yurrebaso, O. García, Population genetic data for 15 STR loci (Identifiler™ kit) in Bolivia, Legal Medicine 11 (2009) 302-304.
- M.B. Rodriguez Cardozo, M.V. Colica, M.A. Abovich, A. Szöcs, A.M. Di Lonardo, Maternity testing in a chimerical child, International Congress Series 1261 (2004) 502-504.
- E.M.R. Rodrigues, T.J.B.F. Palha, S.E.B. dos Santos, Allele frequencies data and statistic parameters for 13 STR loci in a population of the Brazilian Amazon Region, Forensic Science International 168 (2007) 244-247.
- E.L. Rodrigues, F.B. Machado, M.M. Arruda, R.S. de Moura-Neto, E. Medina-Acosta, Genetic data on 15 STR autosomal loci for a sample population of the Northern Region of the State of Rio de Janeiro, Brazil, Forensic Science International: Genetics 4 (2009) e25-e26.
- F. Rothhammer, C. Silva, Peopling of Andean South America, American Journal of Physical Anthropology 78 (1989) 403-410. In: S.M. Callegari-Jacques, E.M. Tarazona-Santos, R.H. Gilman, P. Herrera, L. Cabrera, S.E.B. dos Santos, L. Morés, M.H. Hutz, F.M. Salzano, Autosome STRs in Native South America – Testing Models of Association With Geography and Language, American Journal of Physical Anthropology 145 (2011) 371-381.

- F. Rothhammer, C. Silva, S.M. Callegari-Jacques, E. Llop, F.M. Salzano, Gradients of HLA diversity in South American Indians, *Annals of Human Biology* 24 (1997) 197-208. **In:** S.M. Callegari-Jacques, E.M. Tarazona-Santos, R.H. Gilman, P. Herrera, L. Cabrera, S.E.B. dos Santos, L. Morés, M.H. Hutz, F.M. Salzano, Autosome STRs in Native South America – Testing Models of Association With Geography and Language, *American Journal of Physical Anthropology* 145 (2011) 371-381.
- F. Rothhammer, T.D. Dillehay, The Late Pleistocene Colonization of South America: Na Interdisciplinary Perspective, *Annals of Human Genetics* 73 (2009) 540-549.
- F. Rousset, Genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux, *Molecular Ecology Resources* 8 (2008) 103–106.
- C.M. Ruitberg, D.J. Reeder, J.M. Butler, STRBase: a short tandem repeat DNA database for the human identity testing community, *Nucleic Acids Research* 29 (19) (2001) 320-322.
- F.M. Salzano, S.M. Callegari-Jacques, South American Indians: a case study in evolution, Clarendon Press, Oxford (1988). **In:** S.M. Callegari-Jacques, E.M. Tarazona-Santos, R.H. Gilman, P. Herrera, L. Cabrera, S.E.B. dos Santos, L. Morés, M.H. Hutz, F.M. Salzano, Autosome STRs in Native South America – Testing Models of Association With Geography and Language, *American Journal of Physical Anthropology* 145 (2011) 371-381.
- F.M. Salzano, S.L. Bonato, S.M. Callegari-Jacques, Genetic variability in Andean and non-Andean populations and its interpretation (1997). **In:** S.M. Callegari-Jacques, E.M. Tarazona-Santos, R.H. Gilman, P. Herrera, L. Cabrera, S.E.B. dos Santos, L. Morés, M.H. Hutz, F.M. Salzano, Autosome STRs in Native South America – Testing Models of Association With Geography and Language, *American Journal of Physical Anthropology* 145 (2011) 371-381.
- P. Sánchez-Diz, M.A. Acosta, D. Fonseca, M. Fernández, Y. Gómez, M. Jay, J. Alape, M.V. Lareu, A. Carracedo, C.M. Restrepo, Population data on 15 autosomal STRs in a sample from Colombia, *Forensic Science International: Genetics* 3 (2009) e81-e82.
- H.A. de Sant'Ana Júnior, Florestania: a saga acreana e os povos da floresta, Rio Branco: Editora UFAC (2004).
- S.E.B. dos Santos, E.M. ribeiro-Rodrigues, A.K.C. Ribeiro-dos-Santos, M.H. Hutz, L. Tovo-Rodrigues, F.M. Salzano, S.M. Callegari-Jacques, Autosomal STR analyses in native Amazonian tribes suggest a population structure driven by isolation by distance, *Human Biology* 81 (1) (2009) 71-88.
- M. São-Bento, M. Carvalho, L. Andrade, V. Lopes, A. Serra, J.J. Gamero, F. Corte-Real, M.C. Vide, M.J. Anjos, STR data for the 15 AmpFISTR® Identifiler™ loci in the Brazilian population of São Paulo State, *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 1 (2008) 367-369.
- T. Schiocchet, Bancos de perfis genéticos para fins de persecução criminal: reflexões a partir do Direito brasileiro, Seminário, Porto (2012).
- E.B. da Silva, E. Dellalibera, M. Souza, R.S. Silva, L. Mauricio-da-Silva, Population genetics of eight STR loci – CSF1PO, TPOX, TH01, D16S359, D7S820, D13S317, F13B and LPL in a Brazilian population from the State of Piauí, Northeast Brazil, *Forensic Science International* 126 (2002) 90-92.

- F.F.M. da Silva, E. Dellalibera, P. Nigam, L. Maurício-da-Silva, R.S. Silva, Microsatellite Markers in the Population from Rio Grande Do Norte, Northeastern Brazil, *Journal of Forensic Science*, 48 (5) (2003) 1-2.
- D.A. Silva, C.A. Crouse, R. Chakraborty, A.C.S. Góes, E.F. Carvalho, Statistical analyses of 14 short tandem repeat loci in Brazilian populations from Rio de Janeiro and Mato Grosso do Sul states for forensic and identity testing purposes, *Forensic Science International* 139 (2004) 173-176.
- M.B. Silva, D.M. Silva, R.G. Rodovalho, A.D. da Cruz, Allele frequencies of fifteen STR loci in a population from Central Brazil, *Forensic Science International: Genetics* 4 (2010) e151-e152.
- S. Sónora, V. Domínguez, S. Pagano, SLAGF (Sociedad Latinoamericana de Genética Forense) (s.d.) Disponível em: <http://www.slagf.org.ar/a2/index.cfm?aplicacion=pak004&cnl=14&opc=19> Acessado em 30/08/2012.
- C.A.A. de Souza, História do Acre: novos temas, nova abordagem (1ª ed). Rio Branco: Editor Carlos Alberto Alves de Souza (2002).
- STRBase. Disponível em: http://www.cstl.nist.gov/strbase/tri_tab.htm. (Acessado em 29 de agosto de 2012).
- K. Tamaki, A.J. Jeffreys, Human tandem repeat sequences in forensic DNA typing, *Legal Medicine* 7 (2005) 244-250.
- A. Tillman, Populations and statistics in forensic genetics, PhD Thesis, Linköping University, Sweden (2010).
- L. Tocantins, Formação histórica do Acre, Rio de Janeiro: Civilização Brasileira; Brasília: INL/Conselho Federal de Cultura; Rio Branco: Governo do Estado do Acre, vol.II (1979).
- S. Tofanelli, I. Boschi, S. Bertoneri, V. Coia, L. Taglioli, M.G. Franceschi, G. Destro-Bisol, V. Pascali, G. Paoli, Variation at 16 STR loci in Rwandans (Hutu) and implications on profile frequency estimation in Bantu-speakers, *International Journal of Legal Medicine* 117 (2003) 121-126.
- U. Toscanini, L. Gusmão, G. Berardi, A. Amorim, A. Carracedo, A. Salas, E. Raimondi, Testing for genetic structure in different urban Argentinian populations, *Forensic Science International* 165 (2007) 35-40.
- O.R. Tucunduva Netto, D.A. Silva, M.T.D. Silva, F.S.N. Manta, L.S.D. Azevedo, A.C.S. Nunes, E.F. Carvalho, M.M.F. Moura, Statistical analyses of 10 short tandem repeat loci in Brazilian populations from Porto Velho City, Rondonia State for forensic purposes, *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 1 (2008) 375-377.
- H. Vauhkonen, M. Hedman, M. Vauhkonen, M. Kataja, P. Sipponen, A. Sajantila. Evaluation of gastrointestinal cancer tissues as a source of genetic information for forensic investigations by using STRs, *Forensic Science International* 139 (2004) 159-167.
- B.S. Weir, Multiple tests, in: *Genetic Data Analysis II*, Sinauer Associates, USA (1996).

- Wikitravel. Disponível em: [http://wikitravel.org/shared/File:Image-Brazil_regions\(pt\).png](http://wikitravel.org/shared/File:Image-Brazil_regions(pt).png) (Acessado em 31 de agosto de 2012).
- E.V. Wolfgramm, B.C. Silva, V.R.C. Aguiar, F.S.V. Malta, A.M. de Castro, A.C.S. Ferreira, A.N.L. Prezoti, F. de Paula, I.D. Louro, Genetic analysis of 15 autosomal and 12 Y-STR loci in the Espírito Santo State population, Brazil, Forensic Science International: Genetics 5 (2011) e41-e43.
- X. Xu, M. Peng, Z. Fang, X. Xu, The direction of microsatellite mutations is dependent upon allele length, Nature Genetics 24 (2000) 396-399.

ANEXOS



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado a participar como informante-chave do projeto de pesquisa "Análise genética de 15 loci STR (Repetições Curtas em Tandem) na população do Estado do Acre, norte do Brasil", que é um projeto da Universidade do Porto – Portugal, com cooperação da Universidade Federal do Acre - UFAC. O objetivo é caracterizar geneticamente a população acriana, fornecendo dados estatísticos que poderão ajudar a construir uma base de dados a ser utilizada na realização de testes de parentesco (paternidade) e na identificação de pessoas pelo DNA (Ácido Desoxirribonucleico).

1. A coleta será feita através de picada em um dos dedos para retirar cerca de 2 gotas de sangue. O material de coleta é esterilizado e individual, para evitar qualquer risco de contaminação.
2. O sangue solicitado nesta coleta será utilizado para extrair DNA.
3. O benefício oferecido é apenas coletivo, e se trata da formação de uma base de dados para testes de identificação pessoal, criminal e testes de parentesco no Estado do Acre.
4. Você é livre para participar do estudo ou não. As informações obtidas e o sangue coletado **não** serão identificados com seu nome. A vantagem disso é a garantia de manter sua privacidade e confidencialidade dos dados, e a desvantagem é que, se você aceitar participar, não poderá retirar seu consentimento para a pesquisa após a coleta.
5. As amostras e os dados gerados nesse estudo serão guardados de modo confidencial pelos pesquisadores envolvidos no projeto.
6. Os resultados serão publicados em revista científica. Qualquer informação divulgada em relatório ou publicação garantirá a confidencialidade de seus dados pessoais.
7. Você poderá obter esclarecimentos antes, durante e depois do estudo. O Coordenador local do projeto é o Dr. Gilson Mesquita, da UFAC, que pode ser contactado pelo e-mail: mesquitaagg@yahoo.com.br, ou pelo fone: (68) 92830448. Também pode ser contactada a pesquisadora responsável Lídia Muniz Bez Birolo, da Universidade do Porto – UP, pelo e-mail: lidiabb@bol.com.br.
8. A sua participação é voluntária, não incorrerá em custos pessoais nem em qualquer remuneração.
9. Completado este estudo, tanto o sangue coletado, quanto o DNA e os perfis genéticos individuais serão destruídos, impossibilitando sua utilização para outros objetivos.

Eu, _____, afirmo que li o texto acima e compreendi a natureza e o objetivo do estudo do qual fui convidado a participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios do estudo. Eu compreendi que não poderei interromper minha participação no estudo. Eu concordo voluntariamente em participar do estudo, autorizando a utilização do DNA para este projeto de pesquisa.

Assinatura do voluntário

Data: ____/____/____

Assinatura do pesquisador

Data: ____/____/____

Cópia para o voluntário.



N/Ref: _____ / _____

FICHA DE DADOS

Idade: _____ Sexo: () Feminino () Masculino

Naturalidade: _____

Naturalidade dos pais: _____

Naturalidade dos avós paternos: _____

Naturalidade dos avós maternos: _____

Ascendência: _____

Município de residência: _____



CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE
COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA

PARECER 198/2011

Registro CONEP 16354 (Este nº deve ser citado nas correspondências referentes a este projeto)

CAAE – Não Há

Processo nº 25000.012709/2011-40

Projeto de Pesquisa: "Análise genética de 15 loci STR (repetições curtas em tandem) na população do Estado do Acre, norte do Brasil"

Pesquisador Responsável: Lídia Muniz Bez Birolo

Instituição: Universidade do Porto (1º CENTRO)

CEP de origem: Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Acre

Área Temática Especial: Genética Humana, Pesquisa com cooperação estrangeira

Patrocinador: Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto

Sumário geral do protocolo

Os loci STR estão associados com alta heterozigosidade em populações humanas, com notáveis diferenças entre os grupos populacionais em frequências alélicas e heterozigosidade. O conhecimento das frequências alélicas e genotípicas é um requisito essencial para a utilização de qualquer polimorfismo genético humano no trabalho forense. Por esta razão, os geneticistas forenses precisam direcionar seus esforços para investigar e relatar dados de marcadores genéticos em populações de referência.

Alguns grupos estão se dedicando à pesquisa de polimorfismos genéticos localizados nos autossomos, assim como de outros específicos do cromossomo Y e do DNA mitocondrial, na população brasileira. No trabalho de Poiars et al. 2010, com marcadores autossômicos, diferenças estatísticas foram observadas entre as cinco regiões do Brasil. O grupo que mostrou a maior diferenciação foi o do Norte, muito provavelmente devido à grande contribuição Nativo Americana. Foi estimado que para a população do Norte do Brasil como um todo, houve uma contribuição genética de 60.6% de origem Européia, 21.3% Africana e 18.1% Ameríndia. Essas diferenças mostram a importância de obter dados de frequência e parâmetros forenses específicos para cada região do Brasil, onde as diferentes contribuições étnicas são bastante notórias. Algumas bases de dados brasileiras estão atualmente disponíveis. No entanto, estas são restritas a um baixo número de indivíduos ou representadas por poucas populações, apenas parcialmente representando a diversidade total presente no Brasil. Estudos desse tipo já foram realizados especificamente em alguns Estados, como Alagoas, Mato Grosso do Sul, Pará, Pernambuco, Piauí, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, São Paulo e Sergipe. Porém, ainda não foram analisados polimorfismos na população acriana, cuja estrutura genética dos habitantes pode ser considerada complexa, dada a história migratória da região. Este estudo fornecerá dados importantes para a discriminação individual por DNA na resolução de problemas forenses e testes de parentesco na referida população.

Os objetivos do presente trabalho são: caracterizar geneticamente cada região do Estado do Acre, para construir uma base de dados para testes de identificação criminal, testes de

Cont. Parecer CONEP nº 198/2011

vínculo genético e de identificação pessoal (de desaparecidos, cadáveres ou partes de cadáver) – Objetivo geral. E como objetivos específicos têm-se: (1) Para as cinco regiões do Estado, analisar uma amostra de indivíduos não aparentados para os 15 loci de STRs (short tandem repeats) autossômicos contidos no kit AmpFISTR® Identifier Direct (D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818, FGA); (2) Estimar as frequências alélicas nas amostras das diferentes regiões do Estado, para os loci em estudo; (3) Verificar se as distribuições dos genótipos estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg; (4) Avaliar a heterozigosidade nos diferentes grupos populacionais; (5) Verificar se há subestruturação populacional no Estado do Acre; (6) Avaliar o poder informativo para os 15 loci de STR; (7) Analisar comparativamente os resultados obtidos com os de estudos realizados com outras populações brasileiras e países vizinhos; (8) Estimar a contribuição européia, africana e ameríndia na atual constituição genética acriana; (9) Avaliar a eficácia do kit AmpFISTR® Identifier Direct para uso forense, comparando os resultados obtidos com este e com o kit já amplamente usado AmpFISTR® Identifier, que utiliza os mesmos loci STR.

Desenho experimental que contará com o seguintes procedimentos: Coleta de sangue periférico de indivíduos voluntários não aparentados, das 5 regiões do Estado (50 a 100 por região), registrando dados pessoais como idade, sexo, naturalidade, naturalidade dos pais, naturalidade dos avós, ascendência e município de residência, mediante assinatura de consentimento livre e esclarecido (o voluntário recebe uma cópia). Características como cor, estado geral de saúde, classes e grupos sociais não são importantes para a pesquisa. Esta será realizada em indivíduos com idade superior a 18 anos, com plena capacidade de auto determinação, excluindo-se indivíduos pertencentes a grupos indígenas. O número de amostras está relacionado com a diversidade dos marcadores genéticos em questão. Isto é, com base no valor das frequências alélicas que habitualmente se observam nestes marcadores, pretende-se estudar uma amostra suficientemente grande para que os desvios padrão obtidos para os diferentes índices de diversidade não sejam demasiado elevados. Será realizada coleta nos municípios de Cruzeiro do Sul, Mâncio Lima e Rodrigues Alves (Regional do Juruá); provavelmente Feijó e Tarauacá (Regional do Tarauacá/Envira), dependendo das condições de acesso; Manuel Urbano e Sena Madureira (Regional do Purus); Assis Brasil, Brasiléia, Epitaciolândia e Xapuri (Regional do Alto Acre); Porto Acre, Acrelândia, Plácido de Castro, Capixaba, Senador Guiomard, Bujari e Rio Branco (Regional do Baixo Acre). O material será coletado pela pesquisadora responsável pelo projeto. Em Rio Branco, parte da coleta será realizada no CAD (Centro de Apoio e Diagnóstico). As pessoas que lá chegam serão convidadas a participar voluntariamente deste estudo, sem ligação alguma com os serviços prestados pelo CAD. O propósito é evitar, para os voluntários, o desconforto da punção para coleta, visto que se pode coletar do sangue retirado para as análises laboratoriais no CAD. Mesmo assim, o voluntário dará seu consentimento para a coleta. Ainda em Rio Branco, assim como nos outros municípios, será realizada coleta junto aos servidores docentes e técnico-administrativos, bem como discentes dos Campi e Núcleos da Universidade Federal do Acre – UFAC. Também em todos os municípios haverá coleta junto aos servidores lotados nos Batalhões e Companhias sob responsabilidade da Polícia Militar do Acre – PMAC e nos órgãos superiores e de execução da Polícia Civil do Estado do Acre. Além das instituições acima citadas, será realizada coleta nas Unidades Laboratoriais das Unidades de Saúde da Secretaria de Estado de Saúde do Estado. Nos municípios Plácido de Castro e Rodrigues Alves também haverá coleta nas Unidades Laboratoriais e Postos de Saúde sob responsabilidade das Secretarias de Saúde locais. Todas as instituições onde haverá coleta forneceram documento de autorização escrita. Os locais acima citados como pontos de coleta foram escolhidos por concentrarem

Cont. Parecer CONEP nº 198/2011

indivíduos de famílias diferentes, requisito necessário para o presente trabalho, mas não será considerada a instituição onde o material biológico foi coletado para gerar resultados. Coleta: será coletada uma gota (100 a 200µl) de sangue de um dos dedos das mãos, com lanceta esterilizada e descartável, que será armazenado em papel Whatman FTA® identificado por código de letras e números. O mesmo código constará na ficha de dados. O termo de consentimento livre e esclarecido não conterá código ou dados associáveis à ficha de dados ou ao papel Whatman FTA®. A cada procedimento serão utilizadas luvas descartáveis, e será cedido curativo adesivo a cada voluntário. Extração: As amostras em papel FTA® terão o DNA extraído com o kit QIAamp blood (Qiagen), de acordo com as instruções do fabricante. PCR: será realizada no termociclador, de acordo com o manual de recomendações ao usuário do kit AmpFISTR® Identifiler® Direct PCR Amplification (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Tipagem: a separação dos produtos de PCR será executada por eletroforese capilar em um ABI 3130xl Genetic Analyzer. A genotipagem será feita por comparação com os ladders alélicos sequenciados fornecidos com o kit, usando o software GeneMapper® ID.

Os riscos que a pesquisa oferece, sejam individuais ou coletivos, são praticamente nulos, visto que o material a ser utilizado para a coleta é esterilizado e individual, e que os dados gerados serão utilizados de maneira confidencial e dissociados do doador, e apenas para o objetivo deste estudo. O objetivo essencial da pesquisa é puramente científico e sem valor direto diagnóstico ou terapêutico para a pessoa sujeita à pesquisa. O estudo é feito com regiões de DNA não codificantes. Portanto, não será possível observar anomalias relacionadas com o estado de saúde ou quaisquer outras características físicas ou fisiológicas do voluntário. Finalizado este estudo, tanto o material biológico coletado (sangue e DNA) quanto os perfis genéticos individuais serão destruídos, impossibilitando sua utilização para outros objetivos. O termo de consentimento livre e esclarecido será obtido antes da coleta pela pesquisadora responsável, que prestará esclarecimentos sobre o estudo e sobre a metodologia da coleta ao voluntário participante. Os resultados obtidos serão tornados públicos, nacional e internacionalmente, sejam eles favoráveis ou não. O benefício oferecido é coletivo, e se trata do estabelecimento de uma base de dados de frequências alélicas aplicáveis em testes de parentesco e identificação pessoal e criminal. O material biológico será armazenado no Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto, onde será realizada a pesquisa, e assim como os dados gerados no estudo, estarão sob custódia dos pesquisadores envolvidos. O estudo será realizado em Portugal por se tratar de um projeto de mestrado de uma aluna da Universidade do Porto.

Local de realização

Trata-se de um projeto internacional, unicêntrico e com cooperação estrangeira. Além do Brasil, Portugal participará (Lídia Muniz Bez Birolo, Dr. António Amorim e Dra. Leonor Gusmão). O país de origem do estudo é Portugal e foi apresentada carta de aprovação do país de origem (página 87, numeração do CEP). O pesquisador co-responsável pela pesquisa no Brasil é Prof. Dr. António Gilson Gomes Mesquita da Universidade Federal do Acre. Além das duas instituições supracitadas e seus respectivos pesquisadores, foram citadas como instituições parceiras: CAD (Centro de Apoio e Diagnóstico), PMAC (Polícia Militar do Acre), Secretaria de Estado da Polícia Civil do Estado do Acre, Secretaria de Estado de Saúde do Acre, Secretaria Municipal de Saúde de Plácido de Castro e Secretaria Municipal de Saúde de Rodrigues Alves. A coleta de amostras de sangue retirado no CAD será realizada com micropipeta. O papel com o sangue coletado, armazenado em embalagem apropriada, será enviado ao Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto, onde a fase laboratorial será realizada. A ficha de dados será enviada separadamente. O material coletado estará sob

Cont. Parecer CONEP nº 196/2011

custódia dos pesquisadores envolvidos. O total de sujeitos de pesquisa ficará entre 250 e 500.

Apresentação do protocolo

A Folha de Rosto foi apresentada na página 96, numeração do CEP. O cronograma está na página 007 e repete-se na página 60 (numeração do CEP). O orçamento financeiro detalhado foi apresentado nas páginas 57 e 58 (numeração do CEP). O endereço para o currículo da pesquisadora principal é: <http://lattes.cnpq.br/3635166919061493>, sendo que os demais pesquisadores do estudo apresentaram seus currículos entre as páginas 14 e 54. Foi apresentada justificativa para dissociação irreversível dos dados genéticos individuais.

Comentários/ Considerações

1. Além da Universidade do Porto (proponente e sediadora) e da Universidade Federal do Acre, seis outras instituições brasileiras serão parceiras nesse projeto (cartas de autorização citadas entre as páginas 76 e 81, numeração do CEP), no entanto, os termos do acordo de cooperação não foram explicitados. Solicita-se esclarecimento.
2. Com relação ao TCLE:
 - a) Não consta o endereço e telefone do CEP, caso se faça necessário o contato do participante com o mesmo. Solicita-se adequação.
 - b) Não estão descritas as formas de ressarcimento das despesas (transporte e alimentação) decorrentes da participação na pesquisa (devido locomoção para coleta do sangue). Solicita-se adequação, em conformidade com a Res. CNS 196/96, item IV.h.
 - c) Não constam os desconfortos e riscos possíveis (por exemplo, com a coleta de sangue e outros) aos sujeitos de pesquisa. Solicita-se adequação, de acordo com a definição de risco da pesquisa proposto na Res. CNS 196/96, item II.8

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto, devendo o CEP verificar o cumprimento das questões acima, antes do início do estudo.

Situação: Protocolo aprovado com recomendação.

Brasília, 01 de março de 2011.


Gyselle Saddi Tannous
 Coordenadora da CONEP/CNS/MS

