

# UNHAS: UMA ALTERNATIVA PARA A IDENTIFICAÇÃO HUMANA

T. Ribeiro, I. Lucas, C. Vieira-Silva, C. Cruz e R. Espinheira  
Serviço de Genética e Biologia Forense, Delegação de Lisboa, Instituto Nacional de Medicina Legal

## INTRODUÇÃO

Na identificação genética de restos cadavéricos humanos é fundamental a selecção do material biológico a submeter à análise genética, revestindo-se de importância relevante a escolha das amostras mais adequadas ao estado dos restos cadavéricos. A capacidade de estudar o ADN pela técnica de PCR (polimerase chain-reaction) permite analisar quantidades de ADN reduzidas, isoladas a partir de dentes e de fragmentos ósseos<sup>(1-3)</sup>, bem como a partir de unhas<sup>(4)</sup>. Contudo, o problema que surge quando se trabalha com ADN destas amostras é a degradação da cadeia de ADN que ocorre após a morte, a própria contaminação por ADN microbiano e/ou a presença de inibidores da PCR<sup>(4-5)</sup>.

Verificou-se que dos 4306 indivíduos estudados em polimorfismos de ADN, pertencentes a exames forenses no âmbito do foro cível, 67 eram indivíduos cadáveres, que necessitaram de esclarecimento da sua identidade ou que eram intervenientes em exames de investigação biológica de filiação e para tal houve necessidade de recorrer a exumação. Em 73% destes indivíduos não foi possível trabalhar com amostras de sangue porque o estado do cadáver não o permitia. Em alternativa, o estudo do perfil genético recaiu sobre outro material biológico disponível. Os perfis genéticos de 5 indivíduos foram estudados a partir de unhas, comparados com dentes e/ou ossos do próprio e identificados por análise comparativa com os perfis dos supostos familiares.

## MATERIAL E MÉTODOS

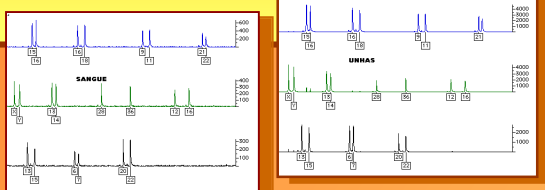
Estão apresentados 5 casos de identificação humana através de unhas arrancadas e limpas que chegaram ao laboratório e pertenciam a cadáveres caracterizados de acordo com o quadro:

Caso	Idade Aprox.	sexo	Intervalo Post-mortem	condições Post-mortem	local
1	?	?	2 meses	membro superior putrefacto	terreno
2	±20A	M	2 meses	putrefacto	água salgada
3	?	?	± 2 meses	Putrefacto	terraço
4	±60A	M	?	completamente courificado	casa abandonada
5	<35A	M	?	decomposição avançada com courificação e pés mumificados	terreno seco

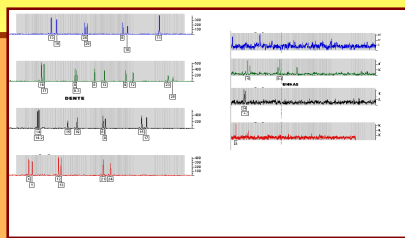
Foram retirados cerca de 4 mm da matriz de cada unha (2 a 3 por caso), lavadas em água destilada. As amostras foram depois digeridas em tampão de extracção com proteinase K. O ADN foi isolado pelo método de fenol- clorofórmio seguida de concentração com microcon - 100. Quando houve necessidade de trabalhar com ossos e/ou dentes, estes foram reduzidos a pó, antes de se iniciar o processo da digestão enzimática. O ADN dos possíveis familiares foi extraído de manchas de sangue ou zaragatoas bucais, pelo método de chelex -100. A amplificação do ADN foi efectuada num termociclador 9600 ou 9700 (Applied Biosystem), de acordo com as recomendações dos manuais dos Kits PowerPlex® 16 System (Promega, AmpF/str® Identifier e AmpF/str®SGM plus (Applied Biosystem). Os fragmentos de ADN obtidos foram detectados num sequenciador ABI PRISM 3100 e analisados pelo software Genescan®3.7 (Applied Biosystem). A leitura automática foi efectuada com o software Genotyper®3.7 (Applied Biosystem).

## RESULTADOS

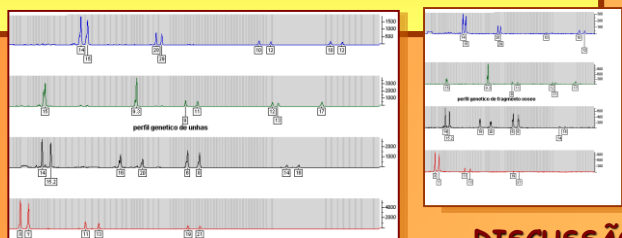
Caso 1 – Não encontramos nenhuma contradição entre os resultados genéticos obtidos nas unhas colhidas no membro superior, encontrado dois meses após a morte, e os resultados provenientes da amostra de sangue do mesmo indivíduo colhido durante a autópsia efectuada após o acidente.



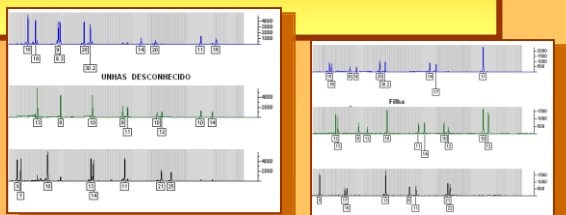
Caso 2 – Não foi possível obter o perfil de ADN a partir das unhas, contudo foi possível obter ADN em quantidade e qualidade suficiente a partir dos dentes para se proceder à comparação com os supostos progenitores.



Caso 3 – Comparação de resultados dos perfis entre as unhas e fragmentos ósseos. De notar que no perfil do osso a quantidade de ADN é menor resultando assim na perda de sensibilidade para serem detectados alguns alelos. Resultados semelhantes foram obtidos no caso 5



Caso 4 - Comparação entre o perfil de ADN da unhas do cadáver e o perfil genético de uma das filhas.



## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A identificação, pelas unhas, foi possível em 4 das 5 vítimas estudadas. O facto de não ter sido possível obter um perfil genético num dos casos, pode dever-se, provavelmente, à permanência do cadáver em água salgada (caso2). Nos dentes, foram obtidos resultados porque a dentina e o esmalte protegem a polpa, constituída por grande densidade celular e deste modo, a recuperação do ADN é maior.

As unhas oferecem uma oportunidade para identificar cadáveres, por análise genética comparativa com supostos familiares, contudo há que ter em atenção que a taxa de sucesso dos resultados depende do tipo de material biológico, do estado de cadáver, do local em que o mesmo foi encontrado, do intervalo post-mortem<sup>(4)</sup>. Por outro lado, verificou-se que, em alguns casos, os fragmentos amplificados de maiores dimensões são mais difíceis de detectar do que os de menores dimensões (caso 3), podendo este facto ser devido à molécula de ADN estar parcialmente fragmentada.

A metodologia de extracção de ADN das unhas torna-se vantajosa relativamente à usada para os dentes e ossos.

Antes de se proceder à digestão proteolítica, os ossos são laminados com auxílio de serra eléctrica, em finíssimas lascas, e posteriormente reduzidos a pó por acção de azoto líquido, num criotriturador 6750 freezer mill. No caso dos dentes, o procedimento é semelhante não havendo contudo necessidade de utilizar a serra. Relativamente às unhas o procedimento inicia-se com a digestão proteolítica, logo após a desinfecção inicial. Deste modo, o protocolo de extracção de ADN das unhas torna-se mais rápido e menos dispendioso. Além disso a manipulação do azoto líquido acarreta riscos para o técnico uma vez que se trata de um gás inodoro e liquefeito a uma temperatura de -210°C, provocando acidentalmente queimaduras graves, e intoxicação sem que possam ser perceptíveis.

As unhas são um meio alternativo para a identificação genética, contudo o perito médico-legal deverá ter em consideração que para além das unhas deve colher outro tipo de amostra biológica.

## BIBLIOGRAFIA

1- Wurb-Schuwerk et al Inter CongSeries 1261(2004):50-52; 2 – Valenzuela, A et al. Int J Legal Med (2000) 113:236-239; 3 – Alonso, A. Croatian Med Journal (2001)42(3):260-266; 4 Fijita, Y.et al (2004): 143-150; 5- Sorensen, E.Int J Legal Med (2003) 117: 245-247