



CONGRESSO NACIONAL DE MEDICINA LEGAL E CIÊNCIAS FORENSES

RESUMO

Título	Estimativa da idade epigenética em ossos: avaliação dos níveis de metilação de DNA no gene FHL2 por droplet digital PCR
Tipo de resumo	Comunicação Oral
Tema	Genética e Biologia Forenses
Palavras-chave	idade epigenética; ossos; droplet digital PCR

SECÇÕES

Subtítulo	Resumo Geral
Conteúdo	A estimativa da idade epigenética é uma abordagem inovadora em contextos forenses, sendo os ossos uma das amostras mais relevantes no campo legal. Nos últimos anos, o nosso grupo construiu vários modelos de predição de idade (age prediction models, APMs), em diferentes tecidos biológicos, usando diferentes metodologias para a análise dos níveis de metilação de DNA (DNAm), nomeadamente sequenciação de Sanger e SNaPshot. Contudo, a avaliação dos níveis de metilação pode ser influenciada pelo método, com consequências na precisão da estimativa da idade. Recentemente, o nosso grupo desenvolveu diversos APMs específicos para amostras de sangue de indivíduos vivos e mortos, utilizando a técnica de droplet digital PCR (ddPCR). O presente trabalho teve como objetivo avaliar os níveis de DNAm do gene FHL2 em ossos de indivíduos portugueses usando a técnica de ddPCR com vista a desenvolver um APM aplicável a laboratórios forenses. Foram recolhidas 26 amostras de ossos (4 mulheres, 22 homens, com idades entre 26 a 80 anos) durante autópsias médico-legais no Serviço de Patologia Forense da Delegação do Centro e do Sul do Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, depois de consultar o Registo Nacional de Não Dadores, durante o período de 2018 a 2020. Após extração, o DNA foi submetido a conversão por bissulfito de sódio, a que se seguiu a análise com um ensaio duplex-ddPCR visando o DNA metilado e o DNA não-metilado do CpG cg06639320 localizado no gene FHL2, durante o ano de 2024. Os ensaios foram realizados no sistema QX100™ Droplet Digital™ PCR (Bio-Rad, CA, USA). A relação entre a idade cronológica e os níveis de DNAm foi avaliada por regressão linear simples recorrendo ao software IBM SPSS, v.27. Foi obtida uma forte correlação entre os níveis de DNAm e a idade ($R = 0,849$; $P = 4,136 \times 10^{-8}$), explicando 71% da variação na idade (R^2 ajustado). O APM construído com os coeficientes estatísticos revelou um valor médio do desvio entre a idade cronológica e prevista, [mean absolute deviation between chronological and predicted ages (MAD)], de 6,09 anos. A precisão do APM foi avaliada através de 3-fold cross validation obtendo-se uma MAD média de 6,44 anos. Comparando estes resultados com os previamente publicados pelo nosso grupo em ossos para o mesmo CpG usando as técnicas de sequenciação de Sanger e SNaPshot observou-se neste estudo um valor superior de correlação DNAm vs. idade e um valor de MAD inferior, evidenciando um aumento na



CONGRESSO NACIONAL DE MEDICINA LEGAL E CIÊNCIAS FORENSES

precisão dos APMs construídos por ddPCR. Os resultados obtidos reforçam a utilidade da ddPCR para a estimativa da idade epigenética. O APM desenvolvido revela melhor precisão na estimativa da idade comparativamente à precisão reportada previamente usando a mesma amostra com diferentes métodos, podendo colocar a técnica de ddPCR como uma das mais promissoras para avaliação de níveis de DNAm a ser implementada em laboratórios forenses.