



Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto
Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde

DENISE POLTRONIERI MARTINS

CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO DO
ESTADO DE MATO GROSSO, BRASIL PARA
MARCADORES STR DO CROMOSSOMO Y

São José do Rio Preto
2019

DENISE POLTRONIERI MARTINS

**CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO DO
ESTADO DE MATO GROSSO, BRASIL PARA
MARCADORES STR DO CROMOSSOMO Y**

Tese encaminhada à Faculdade de
Medicina de São José do Rio Preto
– FAMERP para obtenção do
título de Doutor no Curso de Pós-
Graduação em Ciências da Saúde,
Eixo Temático: Medicina e
Ciências Correlatas.

**Orientadora: Profa. Dra. Dorotéia Rossi da Silva
Souza**

**São José do Rio Preto
2019**

Martins, Denise Poltronieri

Caracterização da população do Estado de Mato Grosso, Brasil para marcadores STR do cromossomo Y / Denise Poltronieri Martins
São José do Rio Preto, 2019

76p.

Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP

Eixo Temático: Medicina e Ciências Correlatas

Orientadora: Profa. Dra. Dorotéia Rossi Silva Souza

1. Diversidade genética; 2. Genotipagem; 3. Y-STR; 4. Estrutura populacional.

DENISE POLTRONIERI MARTINS

**CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO DO
ESTADO DE MATO GROSSO, BRASIL PARA
MARCADORES STR DO CROMOSSOMO Y**

**BANCA EXAMINADORA
DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU
DE DOUTOR**

**Presidente e Orientadora: Profa. Dra. Dorotéia
Rossi Silva Souza**

2º Examinadora: Dra. Erika Cristina Pavarino.

**3º Examinadora: Dra. Márcia Maria Urbanin
Castanhole-Nunes.**

**4º Examinadora: Dra. Joyce Aparecida Martins
Lopes Ferraz.**

**5º Examinador: Dr. Rodrigo Henrique de
Oliveira Montes.**

**Suplentes: Dra. Eny Maria Goloni Bertollo,
Agnes Cristina Fett Conte, Juliana Martinez,
Fernanda Silva Polverani.**

São José do Rio Preto, 19/12/2019.

SUMÁRIO

Dedicatória	i
Agradecimentos	ii
Epígrafe	v
Lista de Figuras	vi
Lista de Tabelas	viii
Lista de Quadros	ix
Lista de Abreviaturas e Símbolos	x
Resumo	xii
Abstract.....	xiii
1.INTRODUÇÃO	1
1.1 Identificação Humana pela Análise do DNA	2
1.2 Cromossomos sexuais.....	4
1.3 Cromossomo Y.....	4
1.4 Aplicações dos Marcadores do Cromossomo Y (Y-STR)	6
1.4.1 Testes de parentesco	6
1.4.2 Testes de identidade	8
1.5 Interpretação da Evidência Genética	9
1.6 Banco de Dados de Y-STR	11
1.7 Panorama Brasileiro no YHRD	12
1.8 Objetivo Geral.....	15
1.8.1 Objetivos específicos	15
2. CASUÍSTICA E MÉTODOS	17
2.1 Aspectos Éticos	18
2.2 Casuística	18
2.3 Métodos	19
2.3.1 Extração do DNA genômico	19
2.3.2 Reação de amplificação dos marcadores Y-STR	20
2.3.3 Eletroforese capilar e genotipagem	21
2.3.4 Análise estatística	24
2.3.5 Disponibilização dos dados de marcadores Y-STR	25
3. RESULTADOS	27
4. DISCUSSÃO	46
5. CONCLUSÕES.....	52
6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
7. APÊNDICES	62

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus queridos e amados pais, **Carlos** e **Elisabete**, meus irmãos, **Junior** e **Daniele** e minhas sobrinhas maravilhosas, **Gabriela** e **Eloisa** que sem dúvida são as pessoas mais importantes da minha vida e que de alguma forma contribuíram com parte do meu aprendizado.

AGRADECIMENTOS

À Professora Dra. Dorotéia Rossi Silva Souza, pela competente orientação e pela grande oportunidade, por me transmitir conhecimentos profissionais e científicos com tanto entusiasmo, dedicação e, principalmente, ensinamentos pessoais, com tanta doçura, mostrando sua coragem, seu carinho e por ter confiado na minha capacidade durante meu estudo, por ter me acolhido e por ter aberto um horizonte em meu caminho que sem dúvida foi um grande passo na minha vida. Nunca me esquecerei de sua maneira de enxergar as pessoas, de seu caráter, sua humildade e otimismo!

À Dra. Joyce Aparecida Martins, pelos conselhos, atenção e paciência, por me explicar a mesma coisa diversas vezes. Por incansáveis conversas e discussões. Sempre muito sensata, direta, observadora, inteligente, questionadora, sem nunca perder sua ternura no olhar e humildade. Obrigada por todas as oportunidades que me proporcionou, pelas portas que se mantiveram sempre abertas a qualquer hora e por todo ensinamento que recebi, eles foram essenciais nesta incrível jornada. Obrigada principalmente pela sua enorme amizade, por ter me mostrado novos horizontes e ensinado novos caminhos em que pude me encontrar.

Aos meus pais, Carlos Martins e Elisabete Martins, que são meu alicerce, meus batalhadores, guerreiros, são meus tesouros, me educaram da melhor forma possível, transmitindo os valores essenciais para minha formação pessoal e meu caráter, tudo que tenho e sou devo a vocês. Sempre pacientes comigo, prestativos, se importando com meus estudos, meu crescimento e evolução. Tenho muito orgulho de vocês!

Aos meus irmãos, Daniele Martins e Carlos Martins Junior, que são meus pais de alma, me incentivam a crescer sempre, a buscar meus sonhos e torná-los reais, eu

aprendi muito com vocês, com o apoio, os conselhos, as dicas, tudo que fizeram por mim não tem preço. As minhas tão amadas sobrinhas Gabriela e Eloisa, que me fazem querer ser sempre melhor. Que o brilho e a inocência no olhar de vocês nunca se percam, obrigada por serem tão delicadas, sensíveis, amorosas comigo.

Ao meu namorado Fernando Teixeira, que surgiu na minha vida em um momento tão espetacular, de mudanças, de novas experiências, me mostrando que sou capaz de me superar, me reinventar, com todo apoio e paciência em situações que foram muito importantes para minha vida e meu crescimento, abrindo meus pensamentos para que eu conseguisse enxergar o caminho que deveria seguir.

Aos queridos, amados e inesquecíveis amigos dos Laboratórios NPBIM, pela imensurável parceria, Sabrina Cezário, Maria Clara Calastri, Graciele Tenani, Rafael Ferreira, Days Andrade, Tayane Carmo, Milton Pires, Angélica Lopes, Beatriz Brait, Ana Mansur, Franciana Aguiar, Lucas Poletto, Michele Gregório, Marcela Pinhel e Camila Oliveira agradeço pelo carinho, ensinamentos e ajuda durante meus estudos e acima de tudo pela amizade de todos. Seria muito mais difícil esta vitória sem vocês e sem dúvida formamos muito mais do que uma equipe. E agradeço principalmente à Maria Eduarda Lopes Baitello, pelo companheirismo, amizade, paciência e parceria durante todas as fases do projeto, pela humildade e dedicação que sempre teve.

À Professora Dra. Regina Maria Baretto Cicarelli, coordenadora do Laboratório de Investigação de Paternidade da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP de Araraquara/SP (FCFAR-UNESP) pela parceria, por todas as oportunidades e aprendizados proporcionados em seu laboratório e todo apoio. E a todos amigos e pesquisadores de seu laboratório Isabela Brunelli, Danilo Branganholi, Fernanda Polverani, que nos receberam tão bem sempre prestativos e prontos para ensinar e

principalmente a Juliana Martinez, por me auxiliar neste trabalho com tanta paciência e humildade.

À Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP) pelo núcleo profissional e estrutura de excelência. Aos funcionários da pós-graduação pela solicitude, respeito e paciência. Aos funcionários do Bloco U6, pelas gentilezas, risadas e momentos de distração. E a todos os outros funcionários da FAMERP pela grande amizade e ajuda.

Agradeço a todos que estiveram presentes nesta caminhada por tanto tempo ou brevemente, mas que de alguma forma me aconselharam, discordaram, apoiaram, desafiaram, incentivaram e me respeitaram em todas as escolhas, obrigada pelas palavras que foram ouvidas atentamente e que fizeram toda diferença para meu amadurecimento profissional e intelectual.

E finalmente, a Deus, essa energia tão presente na minha vida, por ter me guiado para o melhor caminho, por ter me dado forças, credibilidade, por ter enviado tantas pessoas iluminadas em minha vida e por ter me desafiado tantas vezes, pois só assim é que sabemos a potencialidade de nossa capacidade.

A todos, muito obrigada!

EPÍGRAFE

*Ninguém é tão grande que não possa aprender,
nem tão pequeno que não possa ensinar.
(Píndaro, poeta romano)*

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Estrutura e organização das diferentes regiões do cromossomo Y. a) Representação esquemática de todo o cromossomo, incluindo as regiões eucromáticas, pseudoautossômicas e heterocromáticas. b) Visualização ampliada da porção eucromática da região masculino específica (MSY), mostrando suas três sequências (sequência X-transposta, X-degenerada e amplicônica), bem como duas pequenas regiões heterocromáticas (centrômero e outra região que interrompe a porção eucromática no braço longo do cromossomo Y; Modificado de: Skaletsky et al..⁽¹⁸⁾)..... 6
- Figura 2 Mapa geográfico do Brasil mostrando a localização do estado de Mato Grosso (MT), Brasil 19
- Figura 3: Informações de cada marcador do sistema Power Plex Y23 (PPY23), demonstrando os tipos de sondas, a escala de tamanho dos fragmentos em pares de base (pb) e a escala do número de repetições. Modificado de: Promega Corporation.⁽⁶³⁾ 22
- Figura 4: Eletroferograma mostrando os alelos de cada marcador (DYS576, DYS389I, DYS448, DYS389II, DYS19, DYS391, DYS481, DYS549, DYS533, DYS438, DYS437, DYS570, DYS635, DYS390, DYS439, DYS392, DYS643, DYS393, DYS458, DYS385, DYS456 e Y-GATA-H4) do sistema *PowerPlex® Y23* (PPY23), representados em cor verde, de uma amostra de indivíduo do sexo masculino. Abaixo dos picos está representado a quantidade de pequenas repetições consecutivas (STRs) correspondente a cada alelo..... 23
- Figura 5: Diversidade gênica (DG) dos 23 marcadores Y-STRs inclusos no sistema PPY23 de 200 amostras do Estado de Mato Grosso, Brasil... 32
- Figura 6: Análise em Escala Multidimensional Não-Métrica (MDS) baseada na matriz de distância genética entre pares de regiões brasileiras e metapopulações europeia e nativa-americana, tipadas para o sistema Yfiler e disponíveis no banco de dados *Y-Chromosome STR Haplotype Reference Database* (YHRD).⁽³⁸⁾ Stress: 0,0002 41
- Figura 7: Análise em Escala Multidimensional Não-Métrica (MDS) baseada na matriz de distância genética entre pares de populações brasileiras miscigenadas, tipadas para o sistema Yfiler e disponíveis no banco de dados *Y-Chromosome STR Haplotype Reference Database* (YHRD).⁽³⁸⁾ Stress: 0,1994 42

- Figura 8: Análise em Escala Multidimensional Não-Métrica (MDS) baseada na matriz de distância genética disponível no banco de dados *Y-Chromosome STR Haplotype Reference Database* (YHRD) ⁽³⁸⁾ entre Mato Grosso (MT) e populações mundiais, tipadas para o sistema PPY23. Stress: 0,04028 43
- Figura 9: Submissão dos dados obtidos neste trabalho ao banco de dados internacional YHRD (<http://www.yhrd.org/>). ⁽³⁸⁾ 45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Frequência alélica para cada marcador do Sistema <i>PowerPlex</i> [®] Y23 na população do Estado de Mato Grosso, Brasil	29
Tabela 2:	Diversidade Haplotípica (DH) e Capacidade de Discriminação (CD) obtidos para os sistemas Mínimo, PPY, Yfiler e PPY23 na população do Estado de Mato Grosso (MT) comparado com populações brasileiras de origem miscigenada disponíveis no banco YHRD. ⁽³⁸⁾	33
Tabela 3:	Matriz de distância genética entre pares de metapopulações brasileiras miscigenadas agrupadas em regiões geográficas, nativas americanas e europeias, com valores de p (acima da diagonal) e distância genética (F_{ST} ou R_{ST} ; abaixo da diagonal)	36
Tabela 4:	Matriz de distância genética entre pares de populações brasileiras do grupo miscigenado, com valores de p (acima da diagonal) e distância genética (F_{ST}) (abaixo da diagonal)	38
Tabela 5:	Matriz de distância genética entre pares de populações brasileiras do grupo miscigenado, com valores de p (acima da diagonal) e distância genética (R_{ST}) (abaixo da diagonal)	39
Tabela 6	Matriz de distância genética entre pares de população de Mato Grosso e outras populações mundiais tipadas para o sistema PPY23 disponíveis no banco de dados <i>Y-Chromosome STR Haplotype Reference Database</i> (YHRD) com valores de p (acima da diagonal) e distância genética (R_{ST}) (abaixo da diagonal)	40
Tabela 7:	Análise de variação molecular (AMOVA) para o Sistema Yfiler em diferentes grupos de populações brasileiras.....	44

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Lista de populações brasileiras tipadas para o sistema <i>AmpF/STR</i> ® <i>Yfiler</i> ® (Yfiler) e suas respectivas metapopulações, regiões geográficas, número de haplótipos e referência na literatura.....	34
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AMOVA	Análise de variação molecular
AS	Cromossomo autossômico
CD	Capacidade de discriminação
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DG	Diversidade gênica
DH	Diversidade haplotípica
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNAmt	Ácido desoxirribonucleico mitocondrial
GHEP	Grupo de Línguas Espanhola e Portuguesa
H	Haplótipo
ISFG	Sociedade Internacional de Genética Forense (<i>International Society for Forensic Genetics</i>)
LD	Desequilíbrio de ligação (<i>Linkage Disequilibrium</i>)
LR	Razão de verossimilhança (<i>Likelihood Ratio</i>)
Mb	Milhões de pares de base
MDS	Escala multidimensional não-métrica (<i>Multidimensional scaling</i>)
MSY	Região masculino-específica do cromossomo Y
MT	Mato Grosso
PAR	Região pseudoautossômica
pb	Pares de base
POP	População
PPY	Sistema <i>PowerPlex® Y</i>
PPY23	Sistema <i>Powerplex® Y23</i>
SNP	Polimorfismo de nucleotídeo único (<i>Single nucleotide polymorphisms</i>)
STR	Repetições curtas consecutivas (<i>Short tandem repeats</i>)
VNTR	Número variável de repetições consecutivas (<i>Variant number of tandem repeats</i>)
XAR	Região adicionada ao cromossomo x
XTR	Região de transposição do cromossomo x

YAR	Região adicionada ao cromossomo Y
Y-STR	Repetições curtas consecutivas do cromossomo Y (<i>Y- Short tandem repeats</i>)
Yfiler	Sistema <i>AmpFLSTR® Yfiler®</i>
Yfiler Plus	Sistema <i>AmpFLSTR® Yfiler® Plus</i>
YHRD	Banco de dados referência de haplótipos STR do cromossomo Y (<i>Y-Chromosome STR Haplotype Reference Database</i>)
Yp	Braço curto do cromossomo Y
Yq	Braço longo do cromossomo Y

RESUMO

Introdução - A genotipagem de repetições curtas consecutivas do cromossomo Y (Y-STRs) constitui uma poderosa ferramenta na prática forense, complementando a análise dos tradicionais marcadores STR autossômicos (AS-STR). Considerando que os Y-STR constituem um haplótipo único cujos *loci* estão em forte desequilíbrio de ligação, faz-se necessário obter a frequência do haplótipo Y-STR diretamente na população referência da amostra em questão. Desse modo, é interessante a junção de amostras brasileiras de diferentes populações, para se obter um banco de dados brasileiro diversificado e representativo de haplótipos Y-STR. **Objetivos** - Caracterizar a população do Estado de Mato Grosso (MT), Brasil, para 23 marcadores Y-STR; disponibilizar tais dados em bancos forenses do cromossomo Y; avaliar a eficiência forense do referido sistema e a existência de subestrutura genética desta população, comparada as demais do Brasil. **Casística e Métodos** - Amostras de sangue de 200 homens residentes no Estado de MT foram coletadas, seguidas da extração de DNA. A amplificação dos 23 Y-STRs (DYS576, DYS389I, DYS448, DYS389II, DYS19, DYS391, DYS481, DYS549, DYS533, DYS438, DYS437, DYS570, DYS635, DYS390, DYS439, DYS392, DYS643, DYS393, DYS458, DYS385, DYS456 e Y-GATA-H4) foi realizada utilizando-se o sistema *PowerPlex®* Y23 (PPY23) e submetidas a eletroforese capilar e genotipagem para obtenção dos perfis haplotípicos. Foram estimadas frequências alélicas e haplotípicas, cálculo de distância genética par a par (F_{ST} e R_{ST}), análise de variação molecular (AMOVA), além de teste de eficiência forense do sistema utilizado (capacidade de discriminação e diversidade haplotípica). **Resultados** - Foram obtidos 197 haplótipos diferentes; 194 únicos e três observados duas vezes na população. Os marcadores DYS458 e DYS385 apresentaram alelos intermediários e a média da diversidade genética de todos os *loci* foi de 0,675. A análise de distância genética par a par realizada com 22 populações brasileiras de origem miscigenada mostrou que apenas 20 (F_{ST}) e 22 (R_{ST}) pares apresentaram valores P significantes, destacando populações da região norte do Brasil, porém com valores de distância genética considerados de baixa diferenciação, confirmados nos gráficos de escala multidimensional não-métrica (MDS), além da proximidade que existe da metapopulação miscigenada com a europeia. A análise de variância molecular indicou 99,55% de variação genética dentro das populações de diferentes regiões geográficas do Brasil. **Conclusão** - Ressalta-se a homogeneidade genética na população do Mato Grosso, com relação às populações de origem miscigenadas distribuídas nas cinco regiões geopolíticas do Brasil, além disso, o sistema PPY23 mostra-se eficiente com capacidade de discriminação e alta diversidade haplotípica.

Palavras-chave: Diversidade genética; Genotipagem; Y-STR; Estrutura populacional.

ABSTRACT

Introduction - Genotyping of Y chromosome short tandem repeats markers (Y-STRs) is a powerful tool in forensic practice, complementing the analysis of traditional autosomal STR markers (AS-STR). Taking into account that the Y-STRs constitute a single haplotype whose loci are in strong linkage disequilibrium, it is necessary to obtain the frequency of the Y-STR haplotype directly in the reference population of the sample in question. Thus, it is interesting to combine Brazilian samples from different populations to obtain a diverse and representative Brazilian database of Y-STR haplotypes. **Objectives** - To characterize the population of the State of Mato Grosso (MT), Brazil, for 23 Y-STR markers; to make such data available in Y chromosome forensic banks; to evaluate the forensic efficiency of this system and the existence of genetic substructure of this population, compared to the others in the Brazil. **Casuistic and Methods** - Blood samples from 200 males residing in the state of MT were collected, followed by DNA extraction. The amplification of the 23 Y-STRs (DYS576, DYS389I, DYS448, DYS389II, DYS191, DYS391, DYS481, DYS537, DYS538, DYS438, DYS437, DYS635, DYS390, DYS439, DYS392, DYS456 and Y-GATA-H4) were performed using the PowerPlex® Y23 (PPY23) system and submitted to capillary electrophoresis and genotyping to obtain haplotypic profiles. Allelic and haplotypic frequencies, pairwise genetic distance calculation (F_{ST} and R_{ST}), analysis of molecular variance (AMOVA), and forensic efficiency test of the system used (discrimination capacity and haplotypic diversity) were accessed. **Results** - A total of 197 different haplotypes were obtained; 194 unique and three observed twice in the population. Markers DYS458 and DYS385 showed intermediate alleles and the mean genetic diversity of all loci was 0.675. Peer-to-peer genetic distance analysis performed with 22 Brazilian populations of mixed origin showed that only 20 (F_{ST}) and 22 (R_{ST}) pairs had significant P values, highlighting populations from the Northern region of Brazil, but with genetic distance values considered to be low differentiation, confirmed in the non-metric multidimensional scale (MDS) graphs, as well as the proximity of the miscegenated metapopulation with the European one. Analysis of molecular variance indicated 99.55% of genetic variation within populations from different geographic regions of Brazil. **Conclusion** - It is emphasized the genetic homogeneity in the population of Mato Grosso, in relation to the populations of mixed origin distributed in the five geopolitical regions of Brazil, moreover, the PPY23 system is efficient with discrimination capacity and high haplotypic diversity.

Key-words: Genetic diversity; Genotyping; Y-STR; Population Structure.

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 Identificação Humana pela Análise do DNA

Identificação humana é um processo no qual métodos técnicos-científicos são empregados para determinar a identidade de uma pessoa, através do estabelecimento de um conjunto de caracteres que a individualize, fazendo-a igual apenas a si mesma. ⁽¹⁾

Ao longo da história, foram empregados diversos métodos de identificação chamados de “primitivos”, pois eram desprovidos de princípios científicos, os quais cita-se apenas para referência: Nome, Ferrete, Mutilação, Tatuagem e Fotografia. Atualmente, no âmbito forense são utilizados alguns métodos científicos aceitos universalmente para identificação, tais como: Sistema Odontológico de Amoedo, Sistema Papiloscópico de Vucetich e Exames Genéticos. ^(1,2)

Com relação aos exames genéticos tem-se a análise de marcadores do ácido desoxirribonucleico (DNA), uma ferramenta indispensável na prática forense, auxiliando de forma imensurável tanto nas questões de identificação civil como nas de identificação criminal. Dentro de uma espécie, os cromossomos homólogos são bastante similares entre si, mas em determinadas localizações do cromossomo (loci) pode haver variabilidade na seqüência do DNA. Se a variação é encontrada em uma frequência superior a 1% da população, denomina-se polimorfismo. ⁽³⁾

A tipagem de polimorfismos genéticos para fins de identificação humana iniciou-se em 1984 pelo geneticista Alec Jeffreys e seu grupo de trabalho, os quais descobriram regiões do DNA que variavam de um indivíduo para o outro, desenvolvendo-se um método que permitia a obtenção dos perfis genéticos denominados “impressão digital do DNA” ou “DNA *fingerprinting*”. ⁽⁴⁾

A ampla utilização forense do DNA decorre, principalmente, do seu alto poder de discriminação, ocasionado por polimorfismos genéticos classificados em dois tipos: a) polimorfismos de sequência, originados por substituição de um ou mais nucleotídeos numa sequência de DNA; b) polimorfismos de comprimento, originados por inserções ou deleções de um ou mais nucleotídeos numa sequência de DNA. ⁽⁵⁾

No polimorfismo de sequência, as mutações originam dois estados alélicos (ancestral e mutado) e por isso a denominação de marcadores bialélicos, destacando-se os polimorfismos de nucleotídeo único, do inglês *single nucleotide polymorphisms* (SNP). Dentre os polimorfismos de comprimento, tem-se os marcadores genéticos denominados *variant number of tandem repeats* (VNTRs) ou minissatélites, caracterizados como repetições consecutivas de unidades constituídas por aproximadamente 8 a 100 pares de base (pb), utilizados inicialmente nos exames de DNA. Nesse contexto, incluem-se também, os marcadores microssatélites ou mais conhecidos por *short tandem repeats* (STR), identificados como repetições consecutivas de unidades constituídas por 2 a 7 pb, marcadores multialélicos utilizados atualmente na rotina forense. ⁽⁶⁾

Marcadores STRs genotipados em exames de DNA forense estão localizados tanto no DNA nuclear dos cromossomos autossomos (AS), bem como dos cromossomos sexuais (X e Y); enquanto SNPs são genotipados, principalmente, no cromossomo Y e DNA mitocondrial (DNAmt). O caráter multialélico e a herança biparental, a qual permite a recombinação alélica entre o par de cromossomos homólogos, conferem maior poder de discriminação aos marcadores STR autossômicos (AS-STR) e, portanto, estes são os de escolha nos exames de DNA. ⁽⁷⁾

No entanto, em casos específicos, marcadores STR do cromossomo Y (Y-STR) podem auxiliar eficientemente a análise padrão autossômica devido ao seu padrão de herança característico. ⁽⁸⁻¹⁰⁾

1.2 Cromossomos sexuais

Os cromossomos sexuais (X e Y) humano evoluíram de um par de autossomos homólogos (proto-cromossomos sexuais) dentre os últimos 300 milhões de anos. ⁽¹¹⁾ Nesse processo, o proto-cromossomo Y adquiriu um gene determinante do sexo masculino e, posteriormente, uma barreira para a recombinação foi desenvolvida entre os proto-cromossomos sexuais, isolando regiões determinantes do sexo ao longo dos dois cromossomos, os quais se tornaram- heteromórficos. ⁽¹²⁾

A homologia entre os cromossomos X e Y ficou restrita às regiões pseudoautossômicas (PAR) 1 e 2, existentes nas extremidades destes cromossomos e onde ocorre a recombinação entre eles. Destacam-se também as regiões não recombinantes entre esses cromossomos, conhecidas como região adicionada ao X e Y (XAR e YAR) e região de transposição do cromossomo X (XTR), formada pela duplicação de material do X para o Y há 4,7 milhões de anos. ⁽¹³⁻¹⁵⁾

Para fins de identificação humana pela análise do DNA, são designados como “marcadores do cromossomo X” e “marcadores do cromossomo Y” os marcadores que estão presentes na região “não recombinante” e “não homóloga” entre tais cromossomos, exclusivos, por conseguinte, do cromossomo X e Y, respectivamente. ⁽¹⁶⁾ Portanto, X e Y-STRs não são compartilhados pelos cromossomos sexuais.

1.3 Cromossomo Y

A eficiente aplicação de Y-STRs na área forense decorre, principalmente, do padrão de herança característico desse cromossomo. Em relação aos autossomos, um

cromossomo de cada par (materno e paterno) é herdado pelos filhos masculinos e femininos. Por outro lado, quanto ao X, um cromossomo é transferido do pai e da mãe para a filha (XX), enquanto o Y é transferido apenas do pai para o filho (XY). Além disso, os cromossomos X e Y masculinos não se recombinam (exceto nas regiões PAR 1 e 2), possibilitando que um perfil haplotípico paterno de X e Y-STR seja herdado pela filha e pelo filho, respectivamente. ⁽⁸⁻¹⁰⁾

O cromossomo Y é um dos menores cromossomos humanos, com um tamanho médio estimado de 68 milhões de pares de base (Mb), consideravelmente menor que o cromossomo X (~155Mb). Sua estrutura é dividida em duas regiões pseudoautosômicas (PAR 1 e 2; ~3Mb) e na região masculino-específica do cromossomo Y (*male-specific region of the Y chromosome* – MSY; ~65Mb), a qual é dividida em uma porção heterocromática (~41Mb) e uma porção eucromática (~24Mb).^(13 Skaletsky 2003) Na Figura 1 está representada a estrutura e organização do cromossomo Y humano. As regiões PAR 1 e PAR 2 estão localizadas nas extremidades dos braços curto (Yp) e longo (Yq) do cromossomo Y, respectivamente. Essas regiões possuem homólogos no cromossomo X, portanto estão sujeitas a recombinação nos cromossomos sexuais durante a meiose. ⁽¹⁷⁾ A MSY abrange cerca de 95% do cromossomo Y e é responsável pela diferenciação dos sexos, de modo que não sofre recombinação com o cromossomo X. Nesse caso, é possível determinar um perfil haploide masculino, ou seja, transmissão dessa região em forma de bloco (haplótipo) para todos os indivíduos da mesma linhagem patrilinear. A genotipagem de marcadores STRs do cromossomo Y (Y-STRs) pela análise do DNA, possui eficiente aplicação na área forense incluindo testes de parentescos e testes de identidade. ⁽¹⁸⁾

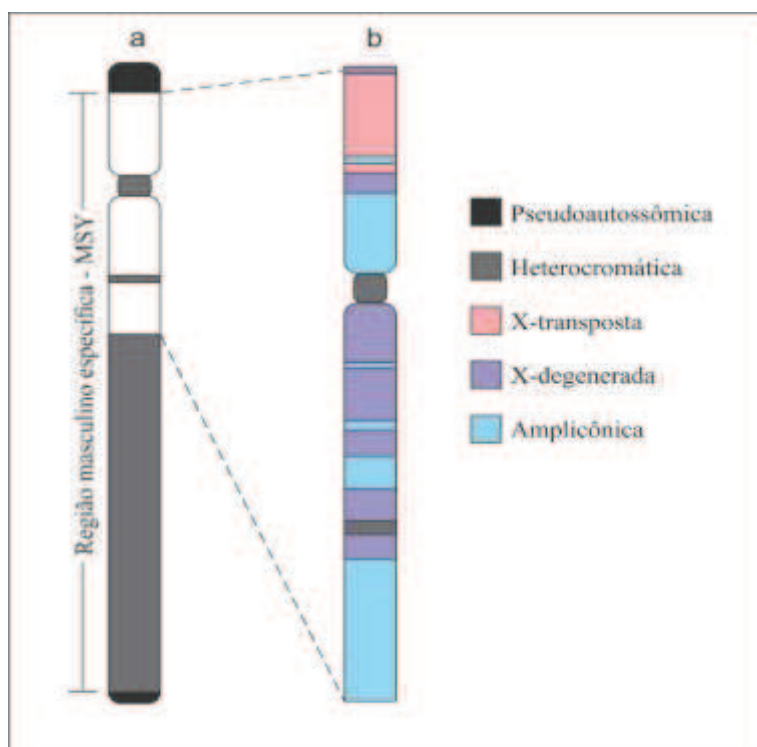


Figura 1 - Estrutura e organização das diferentes regiões do cromossomo Y. a) Representação esquemática de todo o cromossomo, incluindo as regiões eucromáticas, pseudoautossômicas e heterocromáticas. b) Visualização ampliada da porção eucromática da região masculino específica (MSY), mostrando suas três sequências (sequência X-transposta, X-degenerada e amplicônica) bem como duas pequenas regiões heterocromáticas (centrômero e a região que interrompe a porção eucromática no braço longo do cromossomo Y. Modificado de: Skaletsky et al. ⁽¹⁹⁾

1.4 Aplicações dos Marcadores STR do Cromossomo Y (Y-STR)

1.4.1 Testes de parentesco

Uma vez que os marcadores do cromossomo Y são transmitidos de forma inalterada (perfil haplotípico) do pai para o filho do sexo masculino, salvo por mutações, a aplicação de Y-STRs em testes de parentesco se limita aos casos com

análise da descendência masculina. Nesse caso, não é possível diferenciar os indivíduos masculinos relacionados por via paterna, sendo esses testes, portanto, muito poderosos para excluir o alegado pai que não está relacionado ao verdadeiro pai biológico da criança. Exames com poucas inconsistências genéticas entre criança e suposto pai (ou seus parentes, em exames de reconstrução), necessitam da análise de marcadores adicionais para certificar a exclusão ou a confirmação da relação questionada. Nesse caso, laboratórios forenses têm adotado marcadores Y-STRs. ⁽²⁰⁾

Builes et al. ⁽²¹⁾ apresentaram um caso em que apenas duas inconsistências genéticas foram obtidas entre os alegados avós paternos e a criança na tipagem de 15 AS-STRs. O emprego de apenas oito marcadores Y-STR excluiu a relação biológica investigada, concluindo-se que as inconsistências observadas eram de fato exclusões. Lee et al. ⁽²²⁾ mostraram que um sistema de apenas 15 AS-STRs pode não ser capaz de excluir com segurança um alegado pai quando este é relacionado ao verdadeiro pai biológico da criança, principalmente em duos (criança e suposto pai) ou na presença de inconsistência genética. Um exemplo disto foi relatado por González-Andrade et al. ⁽²³⁾ em um caso duo com dois alegados pais (não relacionados entre si) tipados para 15 AS-STRs, para os quais nenhum dos alegados pais foi excluído da paternidade. Outros quatro AS-STRs e 11 Y-STRs foram analisados e, para autossomos, apenas uma inconsistência foi detectada com o alegado pai 1, porém, o mesmo foi excluído da paternidade por apresentar um perfil de cromossomo Y diferente da criança investigada (8 dos 11 Y-STRs foram incompatíveis).

Uma das vantagens em se analisar o cromossomo Y também ocorre na identificação de pessoas desaparecidas (como restos mortais em desastres em massa, vítimas de guerra localizadas em valas comuns), em que pode ser encontrado *pedigree*

de referência incompleto. Nessas circunstâncias, quando o indivíduo for do sexo masculino, a transmissão do perfil Y-STR idêntico (haplótipo) de pai para filho permite que qualquer ascendente ou descendente masculino paterno do indivíduo em questão sirva de amostra referência para reconstruir a relação paterna, mesmo que o familiar seja um parente biológico muito distante, como reportado em vários casos na literatura. ⁽²⁴⁻²⁶⁾

1.4.2 Testes de identidade

O cromossomo Y está presente apenas nos homens e, portanto, é de grande utilidade na detecção de material masculino em evidências biológicas oriundas de diferentes cenários forenses. Nesse aspecto, os casos de violência sexual se destacam, visto que os agressores geralmente são homens. ⁽⁶⁾

Para se obter o perfil autossômico do agressor em amostras compostas por uma mistura de espermatozoides com células da vítima (por exemplo: *swab* vaginal) é empregado o método padrão de lise diferencial que tem como objetivo separar o conteúdo feminino do masculino para que, posteriormente, ambas frações sejam tipadas.

No entanto, esse processo, tende a falhar com amostras antigas, nas quais a maioria dos espermatozoides pode estar degradada. Além disso, a lise diferencial não é aplicada em amostras com mistura de células epiteliais e/ou leucocitárias, como as retidas em marcas de mordidas e nas unhas da vítima, dificultando a interpretação do resultado autossômico. ⁽¹⁸⁾ Nestas circunstâncias, a tipagem de Y-STRs tem se mostrado de extrema utilidade. ⁽²⁶⁻²⁸⁾ Outra dificuldade em misturas consiste no fato do componente majoritário ser mais favorável à amplificação, podendo mascarar o perfil genético minoritário, gerar alelos *dropout* (falha de amplificação de alelos específicos) e até suprimir sua amplificação. Amostras de abuso sexual, geralmente possuem o

material masculino minoritário, o qual é eficientemente obtido pelos sistemas Y-STRs.
(29)

Em virtude da natureza haploide do cromossomo Y, uma outra aplicação de Y-STRs reside em determinar o número de homens contribuidores em uma amostra, como no caso de violação múltipla. ⁽¹⁸⁾ A presença de picos adicionais no perfil de Y-STRs é usualmente interpretada como uma mistura com mais de um contribuidor. No entanto, tal interpretação deve ser realizada com cuidado, uma vez que a presença de dois alelos em um locus simples tem sido relatada para muitos marcadores Y-STR, principalmente por causa de um evento de duplicação seguido por uma mutação. ⁽³⁰⁾ Atualmente, o perfil Y-STR de um único espermatozoide, capturado por microdissecção a laser, tem sido obtido em amostras de abuso sexual com múltiplos doadores, permitindo a identificação dos diferentes perfis Y-STRs presentes na mistura. ⁽³¹⁾

Perfis de Y-STRs podem fornecer informação de relação paterna entre o suspeito e o verdadeiro agressor. Por exemplo, se o perfil genético obtido de uma amostra for idêntico ao do suspeito para marcadores Y-STR, mas diferenciar em poucos AS-STRs, isso indica que uma pessoa relacionada ao suspeito por via paterna deve ser o verdadeiro agressor. ⁽¹⁸⁾ No entanto, pelo Y representar a informação de uma linhagem haplotípica compartilhada de forma inalterada (salvo por mutações) pelos indivíduos masculinos relacionados por via paterna, não permite individualizar como os marcadores autossômicos.

1.5 Interpretação da Evidência Genética

Dado um conjunto específico de genótipos, a genética forense deve determinar a probabilidade de relação de parentesco entre os indivíduos testados, bem como a

probabilidade de identidade entre um vestígio biológico e um indivíduo suspeito. Para tanto, a Comissão de DNA da Sociedade Internacional de Genética Forense (*International Society of Forensic Genetics*, ISFG) recomenda o uso do método de Razão de Verossimilhança (*likelihood ratio*, LR) para avaliar o peso de uma evidência genética. ⁽³²⁾ Adicionalmente, a Comissão de Testes de Paternidade da ISFG expõe que os laboratórios são responsáveis por estabelecer e admitir seu próprio critério de exclusão para uma relação de parentesco, porém, também recomenda que este seja baseado no LR. ⁽³³⁾

O LR é um método que compara a probabilidade de uma evidência sob duas hipóteses mutuamente exclusivas, expresso pela seguinte equação:

$$LR = \frac{\Pr(E|H1)}{\Pr(E|H2)}, \quad \text{na qual:}$$

Pr = probabilidade

E = evidência genética, que pode ser, nesse caso, a coincidência (*match*) entre o perfil do suspeito e da amostra questionada

H1 = hipótese de inclusão, por exemplo, a fonte da amostra questionada é o suspeito

H2 = hipótese de exclusão, por exemplo, a fonte a amostra questionada é outra pessoa não relacionada ao suspeito

Desse modo, considerando um caso simples de contribuidor único, em que o perfil da amostra coincide com o do suspeito, $\Pr(E|H1) = 1$. Já para resolver a equação $\Pr(E|H2)$, será necessário calcular a frequência, na população, do perfil genético em questão. ^(34,35)

Tendo em vista que os Y-STRs constituem um haplótipo único cujos *loci* estão em forte desequilíbrio de ligação (*linkage disequilibrium*, LD), não é válido calcular a frequência do haplótipo pela multiplicação da frequência alélica dos *loci* envolvidos,

como é realizado para marcadores AS-STR, herdados independentemente. Desse modo, a frequência do haplótipo Y-STR é obtida diretamente na população referência da amostra em questão. Para isso, é necessário um banco de dados amplo representativo da população em questão e com controle de qualidade dos haplótipos depositados. ^(36,37)

1.6 Banco de Dados de Y-STR

O YHRD (*Y-Chromosome STR Haplotype Reference Database*), destaca-se como o banco de dados referência de haplótipos do cromossomo Y. É reconhecido como o maior repositório forense internacional para o cromossomo Y, com amostras provenientes de diversas populações das mais variadas regiões do mundo. ⁽³⁸⁾ Permite, nesse caso, a aquisição, distribuição e interpretação de conjuntos de dados de DNA para auxiliar o processo de tomada de decisão em genética forense. ⁽³⁹⁾ O YHRD tornou-se acessível via internet em fevereiro de 2000 com dados apenas de populações europeias, porém, hoje é o maior banco de dados haplotípicos com um total de 285.406 haplótipos, provenientes de 1.308 populações ao redor do mundo. ⁽³⁸⁾

Disponibilizar as frequências alélicas e/ou haplotípicas em banco de dados, contribui para a disseminação dos dados brasileiros. Nesse caso, poderão ser utilizados para os cálculos estatísticos forenses realizados na avaliação da evidência genética, bem como aplicados em estudos para avaliar a história de formação das populações. Reconhecidamente, a região haploide de herança uniparental do cromossomo Y possui uma estrutura genética pronunciada devido a acentuada deriva genética ao qual está submetido, tendo em vista seu menor tamanho efetivo populacional (1/4 dos cromossomos autossomos). Assim, populações que se encontram em regiões diferentes ou possuem origem distinta, podem apresentar alto nível de subestrutura populacional,

pois possuem alelos em frequências significativamente diferentes e algumas vezes únicos. ⁽⁴⁰⁾

Nesse contexto, a Comissão de DNA da ISFG recomenda que o mínimo de 23 Y-STRs deve ser caracterizado nas populações. ⁽⁴¹⁾ Ressalta-se que o uso de base de dados regionais de frequências haplotípicas, e a junção de amostras provenientes de diferentes regiões é válida apenas se não houver diferença estatística entre a distribuição de haplótipos Y-STR. Caso contrário, os efeitos da subestrutura populacional devem ser considerados nos cálculos de estimativa de frequência de haplótipos do cromossomo Y. ^(33,42)

Sabe-se que quanto maior o tamanho amostral de uma população, mais discriminativo e confiável será o cálculo da estimativa de frequência de um haplótipo Y-STR. ⁽⁴³⁾ Desse modo, para aplicação em genética forense no Brasil, é interessante a junção de amostras brasileiras de diferentes populações, desde que não haja subestrutura populacional, a fim de se obter um banco de dados brasileiro amplo e representativo de haplótipos Y-STR.

1.7 Panorama Brasileiro no YHRD

De acordo com a comunidade forense europeia existe um conjunto de Y-STR para uso na prática forense que ficou conhecido como “haplótipo mínimo”, composto por sete *loci* de cópia única – DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392 e DYS393 – e um locus altamente polimórfico, de múltiplas cópias – o DYS385 ^(44,45) Em Janeiro de 2003, o *U.S. Scientific Working Group on DNA Analysis Methods (SWGDM)* recomendou a expansão do haplótipo mínimo por acréscimo de dois novos marcadores de cópia única: DYS438 e DYS439. ^(42,46) Subsequentemente,

foram reportados diversos *loci* adicionais que, combinados com os do haplótipo mínimo, aumentaram o poder de discriminação dos marcadores Y-STRs. ⁽⁴²⁾

Segundo os dados do YHRD, ⁽³⁸⁾ em sua última atualização, existem 78 populações (pop) brasileiras classificadas nas metapopulações nativa americana (20 pop), africana (14 pop), europeia (5 pop), asiática (1 pop), parda (1 pop) e miscigenada (37 pop) caracterizadas para o “haplótipo mínimo” totalizando 11.398 haplótipos.

Dessas populações, 62 estão tipadas para o sistema PowerPlex® Y (PPY) (Promega) que analisa 12 Y-STRs totalizando 9.758 haplótipos, 59 para o sistema AmpFLSTR® Yfiler® (Yfiler) (Applied Biosystems), que analisa 17 Y-STR, com 9.538 haplótipos, 7 populações para o sistema PowerPlex® Y23 (PPY23) (Promega) que analisa 23 Y-STR com 896 haplótipos, 14 populações para o sistema AmpFLSTR® Yfiler® Plus (Yfiler Plus) (Applied Biosystems) que analisa 27 Y-STR com 2051 haplótipos e 1 para o sistema *Maximal* (YHRD Max Loci) que analisa 28 Y-STR com 33 haplótipos (Atualização 61 do YHRD). ⁽³⁸⁾

Inúmeros estudos sobre a distribuição de marcadores do cromossomo Y nas diversas regiões do país foram realizados, a fim de comprovar os fluxos populacionais envolvidos na formação da população brasileira. ⁽⁴⁷⁻⁵³⁾ No entanto, de acordo com a Atualização 61 do YHRD, o Estado de Mato Grosso apresenta apenas 100 haplótipos tipados para o sistema Yfiler Plus. ⁽³⁸⁾ Porém, não há publicações para haplótipos Y-STRs, tornando-se necessário avaliar a estrutura da referida população em relação a esses marcadores. Nesse contexto, um banco de dados representativo do Brasil poderá ser utilizado em estimativas de frequências haplotípicas auxiliando na análise do peso de uma evidência em genética forense.

A região Centro-Oeste constitui uma das regiões brasileiras menos estudadas com relação à caracterização genética e diversidade da sua população. ⁽⁵⁴⁾ Foi inicialmente ocupada por indígenas e, após a descoberta das Américas no século XV, ficou sob o domínio Espanhol devido ao tratado de Tordesilhas assinado entre Espanha e Portugal. ⁽⁵⁵⁾ No entanto, riquezas presentes nas minas do Peru levaram os espanhóis a passar pela região do Mato Grosso, mas não se fixarem nela. ⁽⁵⁵⁻⁵⁷⁾

Somente no século XVII, após bandeirantes paulistas se direcionarem a região em busca de mão de obra para o plantio da cana-de-açúcar e descobrirem minas de ouro no território mato-grossense, é que a região passou a receber grande contingente de imigrantes espanhóis e portugueses. ⁽⁵⁵⁻⁵⁷⁾ Com as atividades mineradoras, para atender à enorme demanda por mão-de-obra, optou-se pela vinda de escravos negros para o Mato Grosso, ⁽⁵⁸⁾ trazidos, principalmente, de Guiné, República Democrática do Congo, Angola e Moçambique. ⁽⁵⁹⁾ Passado o período da mineração, o estado se direciona para a agricultura e começa a despontar no cenário brasileiro a partir dos anos 60, com a entrada de gaúchos e paranaenses que investiram na cultura do trigo e da soja. ⁽⁶⁰⁾

Impulsionado pelos programas de incentivo à modernização agropecuária e interação da região aos outros mercados, as décadas de 70 e 80 foram marcadas pela instalação de importantes empresas agro-industriais nacionais e internacionais, promovendo intenso direcionamento dos fluxos migratórios para essas áreas que pareciam promissoras. ^(60,61) Em consequência, a população do Estado do Mato Grosso, que na década de 70 era 579.360 habitantes, passa para 1.039.350 na década de 80 e dobra novamente em 1996. ^(60,61) Atualmente, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) ⁽⁶²⁾ estima-se que o Estado apresente 3.484.466 habitantes.

1.8 Objetivo Geral

Caracterizar a população do Estado de Mato Grosso (MT), Brasil, para 23 marcadores Y-STR incluídos no sistema *PowerPlex® Y23* (PPY23), Promega ⁽⁶³⁾ (DYS576, DYS389I, DYS448, DYS389II, DYS19, DYS391, DYS481, DYS549, DYS533, DYS438, DYS437, DYS570, DYS635, DYS390, DYS439, DYS392, DYS643, DYS393, DYS458, DYS385, DYS456 e Y-GATA-H4) disponibilizando os perfis haplotípicos em banco de dados internacional (YHRD), além de avaliar a sua estrutura genética com outras populações brasileiras.

1.8.1 Objetivos específicos

1. Genotipar a população do Estado de Mato Grosso (MT), Brasil, para 23 marcadores Y-STR incluídos no sistema *PowerPlex® Y23* (PPY23), Promega (DYS576, DYS389I, DYS448, DYS389II, DYS19, DYS391, DYS481, DYS549, DYS533, DYS438, DYS437, DYS570, DYS635, DYS390, DYS439, DYS392, DYS643, DYS393, DYS458, DYS385, DYS456 e Y-GATA-H4).
2. Determinar as frequências haplotípicas para os 23 marcadores Y-STRs na população do MT.
3. Avaliar estatisticamente a eficiência forense do referido sistema na população do MT.
4. Avaliar para os 23 marcadores Y-STRs, com base na literatura, se existe subestrutura populacional entre a população do MT e de outras regiões

urbanas brasileiras, bem como entre populações europeias, americanas, africanas, asiáticas e nativo-americanas, estabelecendo-se uma relação entre os dados genéticos e as dinâmicas populacionais.

5. Disponibilizar, no banco de dados internacional YHRD (<http://www.yhrd.org/>), os perfis haplotípicos obtidos para os 23 marcadores Y-STRs na população do Estado de Mato Grosso, Brasil.

2. CASUÍSTICA E MÉTODOS

2.1 Aspectos Éticos

Este estudo, parte de um amplo trabalho, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da FAMERP (CAAE de n. 39088514.8.0000.5415; Apêndice A) e da Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso - SES/MT (CAAE de n. 39088514.8.3001.5164; Apêndice B). Um adendo, incluindo a análise de Y-STRs e outros marcadores genéticos na população do Estado de Mato Grosso (Brasil), bem como a adequação do cronograma de atividades e título do projeto foi também aprovado pelo CEP/FAMERP Apêndice C.

2.2 Casuística

Foram analisadas amostras de sangue de 200 indivíduos do sexo masculino não aparentados e residentes no Estado de Mato Grosso, Brasil (Figura 2). O número amostral foi determinado conforme as novas recomendações para publicação de dados genéticos populacionais, do reconhecido periódico *Forensic Science International: Genetics*.⁽⁶⁴⁾

As amostras foram obtidas de doadores de sangue do Hemocentro do Estado de Mato Grosso, após o preenchimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice D).



Figura 2. Mapa geográfico do Brasil mostrando a localização do estado de Mato Grosso (MT), Brasil.

2.3 Métodos

No momento da triagem hematológica, após punção do dedo para realização do teste de hematócrito, foram coletadas de 3 a 4 gotas de sangue em cartão FTA[®] (*Whatman*[®]), material específico para o armazenamento de amostras biológicas.

2.3.1 Extração do DNA genômico

O DNA genômico foi extraído de um disco de 3 mm do cartão FTA[®], utilizando-se 5% de suspensão de resina *Chelex 100* (Bio-Rad), como proposto por *GE Healthcare*⁽⁶⁵⁾, com modificações. O disco foi cortado com *Harris Micro Punche* e *Cutting Mat*

(*Whatman*®) e depositado em microtubo de 1,5 mL, no qual foram adicionados 200 µL de água Milli Q, seguido de incubação por 10 minutos à temperatura ambiente. Posteriormente, a água foi descartada, repetindo-se o procedimento anterior por mais uma vez. O disco foi tratado com 200 µL de 5% de suspensão de resina *Chelex* 100 (Bio-Rad) e incubado a 56 °C por 20 minutos; após tal etapa, o microtubo foi agitado em vórtex por 15 segundos e incubado a 100 °C por 8 minutos, seguido de centrifugação a 13.000 rotações por minuto (rpm) por 3 minutos e transferência do sobrenadante para um novo microtubo, o qual foi armazenado a 4 °C para posterior análise. Essa etapa foi realizada no Núcleo de Pesquisa em Bioquímica e Biologia Molecular (NPBIM-FAMERP).

2.3.2 Reação de amplificação dos marcadores Y-STR

Todas as reações de amplificação foram realizadas no laboratório NPBIM-FAMERP. A qualidade e quantidade do DNA genômico foi avaliada em cada amostra antes da reação de amplificação, utilizando-se o fluorômetro *Qubit 2.0 (Life Technologies)*; quando necessário, uma nova extração foi efetuada. Conforme recomendações de Carracedo et al.,⁽⁶⁴⁾ 200 amostras masculinas foram amplificadas para os 23 marcadores Y-STRs inclusos no sistema PPY23 (DYS576, DYS389I, DYS448, DYS389II, DYS19, DYS391, DYS481, DYS549, DYS533, DYS438, DYS437, DYS570, DYS635, DYS390, DYS439, DYS392, DYS643, DYS393, DYS458, DYS385, DYS456 e Y-GATA-H4). A reação foi efetuada segundo as recomendações do fabricante do kit, com modificações do volume final da reação (de 25 µL para 12,5 µL) e seus respectivos reagentes.

Reação para 1 amostra:

2,5 μL de *PowerPlex Y23 5X Master Mix* (contém DNA polimerase)

1,25 μL de *PowerPlex Y23 10X Primer Pair Mix*

7,75 μL de *Water, Amplification Grade*

1,0 μL de DNA genômico extraído (0,5 a 1 ng)

Ciclagem:

96 °C – 2 minutos

94 °C – 10 segundos
61 °C – 60 segundos
72 °C – 30 segundos

} 30x

60 °C – 20 minutos

A amostra de DNA 2800M (presente no Kit) foi utilizada como controle da reação de amplificação efetuada no termociclador *Swift Maxi* (ESCO).

2.3.3 Eletroforese capilar e genotipagem

Os fragmentos amplificados foram preparados para eletroforese capilar, conforme recomendação do kit.

Em placa de 96 poços, 1 μL do produto de PCR foi adicionado a 0,5 μL de CC5 *Internal Lane Standard 500 Y23* (Promega) e 10 μL de Hi-Di *formamide* (Applied Biosystems).

A eletroforese capilar foi efetuada em analisador genético 3500, utilizando-se polímero POP-4™ e capilar de 36 cm, todos da *Applied Biosystems*. O equipamento foi disponibilizado pelo Laboratório de Investigação de Paternidade da FCFAR-UNESP, sob a coordenação da Profa. Dra. Regina Maria Barretto Cicarelli.

A genotipagem foi realizada com o auxílio do programa *GeneMapper ID-X* (*Applied Biosystems*) e do *Ladder* alélico contido no kit gerando o eletroferograma de cada amostra. A calibração espectral do equipamento foi obtida com *PowerPlex 5-Dye Matrix Standards*, 3130/3130 (Promega). As informações de cada locus dos marcadores inclusos no PPY23 estão apresentadas na figura 3 a estrutura de um eletroferograma na Figura 4.

Locus do STR	Sonda	Tamanho dos fragmentos (pb)	Número de repetições
DYS576	Fluorescein	97-145	11-23
DYS389I	Fluorescein	147-179	9-17
DYS448	Fluorescein	196-256	14-24
DYS389II	Fluorescein	259-303	24-35
DYS19	Fluorescein	312-352	9-19
DYS391	JOE	86-130	5-16
DYS481	JOE	139-184	17-32
DYS549	JOE	198-238	7-17
DYS533	JOE	245-285	7-17
DYS438	JOE	293-343	6-16
DYS437	JOE	344-380	11-18
DYS570	TMR-ET	90-150	10-25
DYS635	TMR-ET	150-202	15-28
DYS390	TMR-ET	207-255	17-29
DYS439	TMR-ET	263-307	6-17
DYS392	TMR-ET	314-362	4-20
DYS643	TMR-ET	368-423	6-17
DYS393	CXR-ET	101-145	7-18
DYS458	CXR-ET	159-215	10-24
DYS385a/b	CXR-ET	223-307	7-28
DYS456	CXR-ET	316-364	11-23
Y-GATA-H4	CXR-ET	374-414	8-18

Figura 3. Informações de cada marcador do sistema PowerPlex Y23 (PPY23), demonstrando os tipos de sondas, a escala de tamanho dos fragmentos em pares de base (pb) e a escala do número de repetições. Modificado de: Promega Corporation. ⁽⁶³⁾

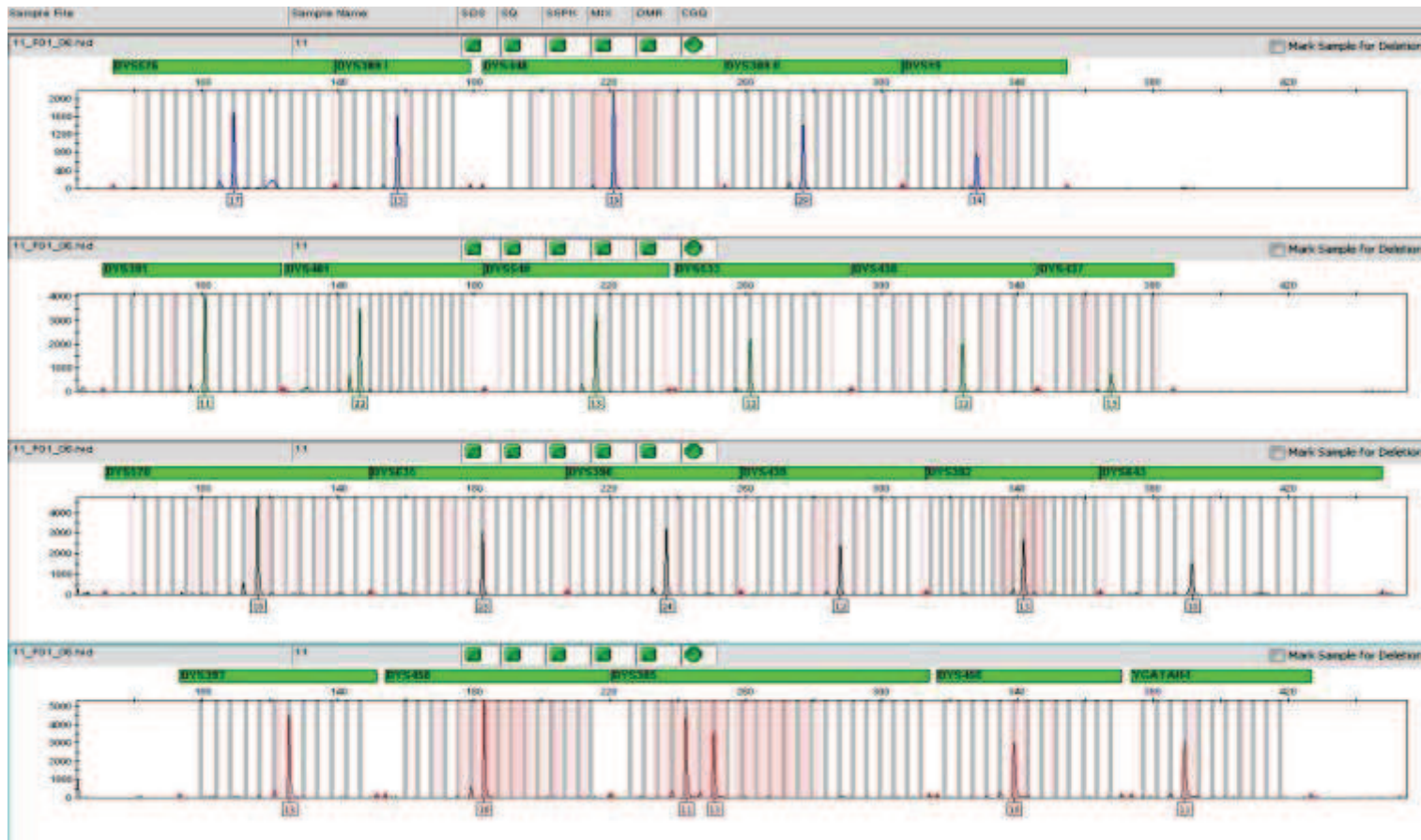


Figura 4. Eletroferograma de uma amostra mostrando os alelos de cada marcador (DYS576, DYS389I, DYS448, DYS389II, DYS19, DYS391, DYS481, DYS549, DYS533, DYS438, DYS437, DYS570, DYS635, DYS390, DYS439, DYS392, DYS643, DYS393, DYS458, DYS385, DYS456 e Y-GATA-H4) do sistema *PowerPlex® Y23* (PPY23).

2.3.4 Análise estatística

Foram estimadas as frequências haplotípicas dos Y-STRs pelo uso do programa Arlequin v.3.5.1.3 ⁽⁶⁶⁾ por meio do método de contagem direta.

A eficiência do sistema Y-STR na prática forense foi determinada pelos parâmetros estatísticos denominados Diversidade Gênica (DG) e Haplotípica (DH) e Poder de Discriminação (PD). Os dois primeiros foram calculados pela fórmula de Nei ⁽⁶⁷⁾ e, o terceiro, pela razão entre o número de diferentes haplótipos e o número total de haplótipos obtidos na população estudada.

Na genética forense é importante estimar com precisão as frequências de perfis nas populações de referência, levando em conta os limites geográficos da população e os possíveis efeitos da subestrutura. Para considerar a existência de subestrutura populacional entre duas populações, é necessário avaliar a distância genética entre elas. A interpretação dos extremos (0 e 1), é simples: o valor zero significa que as populações não possuem diferenças nas frequências haplotípicas; o valor de um significa que as populações são fixadas para alelos diferentes. Valores entre esses dois extremos representam vários níveis de estruturação, sendo que quanto mais próximos de zero, maior a probabilidade de inexistência de subestrutura. Considera-se que valores abaixo de 0,05 indicam baixas distâncias genéticas, sendo que valores 0,05 a 0,15 sugerem diferenciação moderada; 0,15 a 0,25, grande diferenciação; e acima de 0,25, diferenciação acentuada. ⁽⁶⁹⁾

Os parâmetros F_{ST} e R_{ST} baseiam-se em um modelo mutacional diferente, e não há um consenso na literatura de qual modelo é ideal para estudos de Y-STR. Embora o parâmetro R_{ST} (uma variação da verdadeira estatística original, a F_{ST}) tenha sido desenvolvido especialmente para estudos com microssatélites, seu uso pode ser limitado

ou até inútil caso não se comprove o modelo mutacional no qual se baseia, que é o modelo de mutação passo-a-passo.^(69,70)

A distância genética entre pares de populações foi realizada por meio das estatísticas F (F_{ST} e R_{ST}) com auxílio do programa de bioinformática Arlequin v.3.5.2.2⁽⁶⁸⁾ e tais resultados foram reproduzidos em duas dimensões com o método de Escala Multidimensional Não-Métrica (MDS) com auxílio do programa Statistica Trial 13.0. Com os resultados da distância genética realizou-se também a análise da possível subestrutura populacional entre a população do Estado de Mato Grosso (Brasil) e outros grupos populacionais. Os valores de P foram obtidos após 10.000 permutas, e considerados significantes após correção de Bonferroni. Além disso, utilizou-se uma ferramenta, disponível no banco de dados YHRD⁽³⁸⁾ para calcular a distância genética entre pares de populações, baseado em R_{ST} , das amostras de MT tipadas para o sistema PPY23 com outras populações mundiais tipadas para o mesmo sistema, com a respectiva reprodução dos dados em gráfico MDS.

Uma análise considerando a distribuição geográfica entre populações e regiões brasileiras pelo método de Análise de Variação Molecular (AMOVA) foi também realizada com auxílio do programa de bioinformática Arlequin v.2.5.2.2.⁽⁶⁸⁾ Para todos os testes acima descritos, foi excluído o marcador DYS385, subtraído o marcador DYS389I do DYS389II e removidos da análise os alelos intermediários por recomendação do Software.

2.3.5 Disponibilização dos dados de marcadores Y-STRs

Para submeter os perfis haplotípicos obtidos com os 23 Y-STRs na população do Estado de Mato Grosso (Brasil) ao banco de dados internacional YHRD,⁽³⁸⁾ o

laboratório no qual foi realizada a eletroforese capilar e genotipagem deve ter certificação para Y-STRs atual, proveniente de um programa de testes forenses aceito pelo referido banco. O laboratório de Investigação de Paternidade da FCFAr-UNESP, em colaboração neste estudo, participa do controle de qualidade do Grupo de Línguas Espanhola e Portuguesa da *International Society for Forensic Genetics* (GHEP-ISFG), apresentando tal certificação anualmente.

Os dados foram preparados em planilha Excel, conforme recomendações do banco, e um documento com várias informações (autor responsável e coautores, Instituição principal do trabalho, data e nome da Instituição da certificação, kit utilizado, descrição da população, incluindo localização geográfica (latitude/longitude) e linguagem ou grupo étnico) foi encaminhado juntamente com a planilha para o endereço eletrônico lutz.roewer@charite.de.

Após o aceite dos dados pelo banco YHRD, um código de identificação (YA004248) para tais dados foi fornecido aos autores e este será incluído no trabalho para publicação em periódico científico na área de Genética Forense.

RESULTADOS

3. RESULTADOS

A genotipagem de 200 amostras de indivíduos do sexo masculino habitantes do Estado de Mato Grosso mostrou um total de 197 haplótipos diferentes, 194 sendo únicos e três observados duas vezes nessa população (Apêndice E), além da presença de alelos intermediários, dois no marcador DYS385 (10.2 e 12.2) e três no DYS458 (16.2, 17.2 e 18.2). As frequências alélicas dos 23 Y-STR estão listadas na Tabela 1, destacando-se o alelo 13 do marcador DYS393 como o mais frequente (0,700).

Tabela 1. Frequência alélica para cada marcador do Sistema *PowerPlex*[®] Y23 na população do estado de Mato Grosso, Brasil.

Alelo	DYS 19	DYS 389I	DYS 389II	DYS 390	DYS 391	DYS 392	DYS 393	DYS 385	DYS 438	DYS 439	DYS 437	DYS 448	DYS 456	DYS 458	DYS 635	YGATA -H4
7	-	-	-	-	0,0050	-	-	-	0,0050	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	0,0600	-	-	-	0,1100	-	-	-	-	-	-	-
9,14	-	-	-	-	-	-	-	0,0050	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	0,4450	0,0150	-	-	0,2400	0,0800	-	-	-	-	-	0,0250
10,2,14	-	-	-	-	-	-	-	0,0050	-	-	-	-	-	-	-	-
10,13	-	-	-	-	-	-	-	0,0050	-	-	-	-	-	-	-	-
10,14	-	-	-	-	-	-	-	0,0200	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	0,4750	0,3950	-	-	0,1450	0,2850	-	-	-	-	-	0,3850
11,11	-	-	-	-	-	-	-	0,0100	-	-	-	-	-	-	-	-
11,12	-	-	-	-	-	-	-	0,0100	-	-	-	-	-	-	-	-
11,13	-	-	-	-	-	-	-	0,0450	-	-	-	-	-	-	-	-
11,14	-	-	-	-	-	-	-	0,2750	-	-	-	-	-	-	-	-
11,15	-	-	-	-	-	-	-	0,0700	-	-	-	-	-	-	-	-
11,17	-	-	-	-	-	-	-	0,0050	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	0,1650	-	-	0,0150	0,0450	0,1700	-	0,4750	0,4250	-	-	-	-	-	0,5300
12,2,14	-	-	-	-	-	-	-	0,0050	-	-	-	-	-	-	-	-
12,13	-	-	-	-	-	-	-	0,0050	-	-	-	-	-	-	-	-
12,14	-	-	-	-	-	-	-	0,0600	-	-	-	-	-	-	-	-
12,15	-	-	-	-	-	-	-	0,0250	-	-	-	-	-	-	-	-
12,16	-	-	-	-	-	-	-	0,0100	-	-	-	-	-	-	-	-
13	0,1450	0,6200	-	-	-	0,4750	0,7000	-	0,0250	0,1900	0,0050	-	0,0200	-	-	0,0500
13,13	-	-	-	-	-	-	-	0,0150	-	-	-	-	-	-	-	-
13,14	-	-	-	-	-	-	-	0,0500	-	-	-	-	-	-	-	-
13,15	-	-	-	-	-	-	-	0,0250	-	-	-	-	-	-	-	-

continua

Alelo	DYS 19	DYS 389I	DYS 389II	DYS 390	DYS 391	DYS 392	DYS 393	DYS 385	DYS 438	DYS 439	DYS 437	DYS 448	DYS 456	DYS 458	DYS 635	YGATA -H4
13,16	-	-	-	-	-	-	-	0,0250	-	-	-	-	-	-	-	-
13,17	-	-	-	-	-	-	-	0,0050	-	-	-	-	-	-	-	-
13,18	-	-	-	-	-	-	-	0,0350	-	-	-	-	-	-	-	-
13,19	-	-	-	-	-	-	-	0,0050	-	-	-	-	-	-	-	-
14	0,5300	0,2150	-	-	-	0,0700	0,1000	-	-	0,0100	0,4000	-	0,0750	0,0200	-	0,0100
14,14	-	-	-	-	-	-	-	0,0250	-	-	-	-	-	-	-	-
14,15	-	-	-	-	-	-	-	0,0100	-	-	-	-	-	-	-	-
14,16	-	-	-	-	-	-	-	0,0050	-	-	-	-	-	-	-	-
14,17	-	-	-	-	-	-	-	0,0200	-	-	-	-	-	-	-	-
14,18	-	-	-	-	-	-	-	0,0100	-	-	-	-	-	-	-	-
14,19	-	-	-	-	-	-	-	0,0100	-	-	-	-	-	-	-	-
15	0,2100	-	-	-	-	-	0,0300	-	-	0,0100	0,5200	-	0,4450	0,1200	-	-
15,15	-	-	-	-	-	-	-	0,0300	-	-	-	-	-	-	-	-
15,16	-	-	-	-	-	-	-	0,0100	-	-	-	-	-	-	-	-
15,17	-	-	-	-	-	-	-	0,0250	-	-	-	-	-	-	-	-
15,18	-	-	-	-	-	-	-	0,0100	-	-	-	-	-	-	-	-
16	0,1000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0750	-	0,3400	0,2150	-	-
16,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0100	-	-
16,16	-	-	-	-	-	-	-	0,0200	-	-	-	-	-	-	-	-
16,17	-	-	-	-	-	-	-	0,0400	-	-	-	-	-	-	-	-
16,18	-	-	-	-	-	-	-	0,0200	-	-	-	-	-	-	-	-
17	0,0150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0050	0,0850	0,3600	-	-
17,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0100	-	-
17,17	-	-	-	-	-	-	-	0,0250	-	-	-	-	-	-	-	-
17,18	-	-	-	-	-	-	-	0,0050	-	-	-	-	-	-	-	-
17,19	-	-	-	-	-	-	-	0,0100	-	-	-	-	-	-	-	-

continua

Alelo	DYS 19	DYS 389I	DYS 389II	DYS 390	DYS 391	DYS 392	DYS 393	DYS 385	DYS 438	DYS 439	DYS 437	DYS 448	DYS 456	DYS 458	DYS 635	YGATA -H4
17,20	-	-	-	-	-	-	-	0,0100	-	-	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0700	0,0250	0,1950	-	-
18.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0100	-	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4500	0,0100	0,0450	0,0050	-
20	-	-	-	0,0050	-	-	-	-	-	-	-	0,2800	-	0,0150	0,0400	-
21	-	-	-	0,0750	-	-	-	-	-	-	-	0,1600	-	-	0,2550	-
22	-	-	-	0,0900	-	-	-	-	-	-	-	0,035	-	-	0,1000	-
23	-	-	-	0,2850	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4900	-
24	-	-	-	0,4550	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1000	-
25	-	-	-	0,0900	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0100	-
26	-	-	0,0150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	-	-	0,0150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	-	-	0,0900	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	-	-	0,4600	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	-	-	0,2600	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	-	-	0,0950	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	-	-	0,0600	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	-	-	0,0050	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200

N= número de individuos.

O valor médio em relação à diversidade gênica (DG) considerando todos os *loci* foi de 0,675. O maior valor de DG foi observado para o marcador DYS385 (0,905), que apresentou dois loci seguido do DYS393 que teve menor de DG (0,472) (Figura 5).

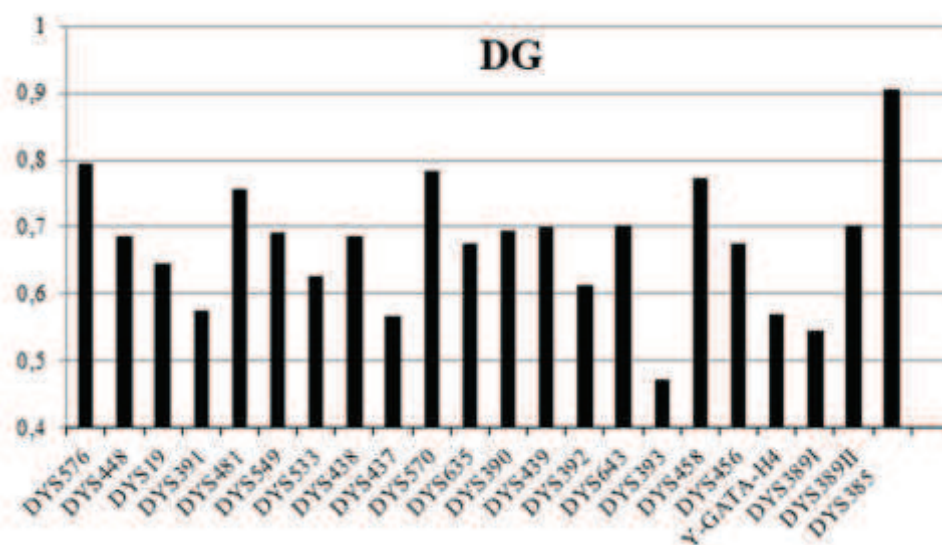


Figura 5. Diversidade gênica (DG) dos 23 marcadores Y-STRs inclusos no sistema PPY23 de 200 amostras do Estado de Mato Grosso, Brasil.

Para atestar a eficiência forense do novo painel PPY23, devido a inclusão de 6 novos loci (DYS576, DYS481, DYS549, DYS533, DYS570 e DYS643), parâmetros haplotípicos foram comparados com aqueles provenientes dos kits anteriores para 9, 12 e 17 Y-STRs inclusos nos sistemas Mínimo, PowerPlex® Y (PPY) e AmpFliSTR® Yfiler™ (Yfiler), respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Diversidade Haplotípica (DH) e Capacidade de Discriminação (CD) obtidos para os sistemas Mínimo, PPY, Yfiler e PPY23 na população do Estado de Mato Grosso (MT) comparado com populações brasileiras de origem miscigenada disponíveis no banco YHRD. ⁽³⁸⁾

SISTEMAS (N)	DH		CD	
	MT	Brasil Miscigenada	MT	Brasil Miscigenada
Mínimo (9)	0,9943	0,9962	0,820	0,477
PPY (12)	0,9980	0,9990	0,885	0,642
Yfiler (17)	0,9995	0,9999	0,955	0,876
PPY23 (23)	0,9998	NC	0,985	NC

N= número de Y-STRs; PPY=*PowerPlex*[®] Y; Yfiler= *AmpFliSTR*[®] *Yfiler*[™]; PPY23= *PowerPlex*[®] Y23; NC= não calculado.

O Sistema PPY23 mostrou-se com o maior valor de DH e CD para a população do Estado de MT comparado aos outros sistemas (0,9998 e 0,985, respectivamente).

Para análise da estrutura populacional brasileira com base em haplótipos Y-STR foram realizados os cálculos utilizando-se os parâmetros F_{ST} e R_{ST} e os valores de P foram considerados significantes após correção de Bonferroni. Foram selecionadas populações brasileiras do banco de dados YHRD ⁽³⁸⁾ tipadas para o sistema *AmpFliSTR*[®] *Yfiler*[™] (Yfiler) com 17 marcadores de Y-STR que correspondem a 81% das populações brasileiras do banco (com lista de haplótipos disponíveis na literatura). ^(47,48,50-53, 71-76) Sendo assim, 22 populações miscigenadas foram estratificadas por região geográfica com análise de distância genética entre pares das regiões brasileiras e entre as regiões brasileiras e as metapopulações nativa americana (16 populações) e europeia (2 populações) do Brasil (Quadro 1, Tabela 3). Observou-se que os grupos Norte e Nativo-Americano apresentaram valor P significativo em todas as análises. O grupo da região Norte mostrou valores de F_{ST} variando de 0,00194 a 0,14510 e R_{ST} de 0,00320 a

0,20125. No grupo Nativo Americano os valores de F_{ST} variaram entre 0,14244 e 0,15881 e R_{ST} de 0,17595 a 0,26164.

As populações das regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste, Nordeste e a metapopulação europeia não apresentaram diferença significativa nas análises de F_{ST} quando comparadas entre si. Porém, para R_{ST} 3 pares de populações (Sul com Sudeste e Nordeste e Centro-Oeste com Nordeste) mostraram significância ($P=0,00010$; $0,00030$ e $0,00099$, respectivamente) porém, com distância genética considerada baixa ($0,00380$; $0,00810$ e $0,00728$, respectivamente) (Tabela 3).

Quadro 1 - Lista de populações brasileiras tipadas para o sistema *AmpFI*STR® *Yfiler*® (Yfiler) e suas respectivas metapopulações, regiões geográficas, número de haplótipos e referência na literatura.

Metapopulação	Região	População	H	Referência	
Miscigenada	Sudeste	São Paulo	500	Cardena et al. ⁽⁵⁰⁾	
			212	Disponibilizado pelo autor	
		São Paulo State	208	Palha et al. ⁽⁴⁷⁾	
			158	De Souza et al. ⁽⁵³⁾	
		Rio de Janeiro	618	Disponibilizado pelo autor	
			850	Jannuzzi et al. ⁽⁵²⁾	
		Espírito Santo	253	Figueiredo et al. ⁽⁵¹⁾	
		Minas Gerais	200	Palha et al. ⁽⁴⁷⁾	
		Sul	Santa Catarina	324	Torres, 2014 ⁽⁷¹⁾
			Rio Grande do Sul	243	Palha et al. ⁽⁴⁷⁾
	Paraná		77	Palha et al. ⁽⁴⁷⁾	
	Centro-Oeste		Brasília	300	Chemale et al. ⁽⁴⁸⁾
			201	Barra et al., 2014 ⁽⁷²⁾	
		Goiás	93	Palha et al. ⁽⁴⁷⁾	
		Mato Grosso do Sul	50	Palha et al. ⁽⁴⁷⁾	
		Mato Grosso	200	Este estudo	
	Norte	Belém	400	Palha et al. ⁽⁴⁷⁾	
		Rio Branco	31	Palha et al. ⁽⁴⁷⁾	
Macapá		138	Francez et al. ⁽⁷⁴⁾		
		65	Palha et al. ⁽⁴⁷⁾		
Porto Velho		135	Palha et al. ⁽⁴⁷⁾		

	Boa Vista	67	Palha et al. ⁽⁴⁷⁾	
	Santarém	72	Palha et al. ⁽⁴⁷⁾	
	Palmas	30	Palha et al. ⁽⁴⁷⁾	
	Manaus	74	Palha et al. ⁽⁴⁷⁾	
Nordeste	Ceará	109	Palha et al. ⁽⁴⁷⁾	
	Pernambuco	30	Palha et al. ⁽⁴⁷⁾	
	Maranhão	140	Palha et al. ⁽⁴⁷⁾	
Nativa Americana	Pará (Arara)	20	Roewer et al. ⁽⁷⁵⁾	
	Pará (Asurini)	15	Roewer et al. ⁽⁷⁵⁾	
	Pará (Gavião)	18	Roewer et al. ⁽⁷⁵⁾	
	Pará (Ipixuna)	21	Roewer et al. ⁽⁷⁵⁾	
	Pará (Kayapó)	17	Roewer et al. ⁽⁷⁵⁾	
	Pará (Mapuera)	5	Roewer et al. ⁽⁷⁵⁾	
	Pará (Parakanã)	38	Roewer et al. ⁽⁷⁵⁾	
	Pará (Zoé)	25	Roewer et al. ⁽⁷⁵⁾	
	Maranhão (Awa)	46	Roewer et al. ⁽⁷⁵⁾	
	Maranhão (Urubu)	27	Roewer et al. ⁽⁷⁵⁾	
	Mato Grosso do Sul (Terena)	32	Roewer et al. ⁽⁷⁵⁾	
	Amapá (Tiryió)	35	Roewer et al. ⁽⁷⁵⁾	
	Amapá (Waiãpi)	13	Roewer et al. ⁽⁷⁵⁾	
	Roraima (Yanomami)	10	Roewer et al. ⁽⁷⁵⁾	
	Rondonia (Karitiana)	17	Roewer et al. ⁽⁷⁵⁾	
	São Gabriel da Cachoeira	61	Purps et al. ⁽⁷³⁾	
	Europeia	Rio Grande do Sul	255	Schwengber et al. ⁽⁷⁶⁾
		São Paulo	120	Purps et al. ⁽⁷³⁾

H= Número de haplótipos.

Tabela 3 - Matriz de distância genética entre pares de metapopulações brasileiras miscigenadas agrupadas em regiões geográficas, nativas americanas e europeias, com valores de p (acima da diagonal) e distância genética (F_{ST} ou R_{ST} ; abaixo da diagonal).

F_{ST}	Sudeste	Sul	Centro-Oeste	Norte	Nordeste	Nativo Americano	Europeia
Sudeste	-	0,01148	0,00297	0,00000*	0,08415	0,00000*	0,35947
Sul	0,00113	-	0,19949	0,00109*	0,03119	0,00000*	0,06762
Centro Oeste	0,00130	0,00031	-	0,00139*	0,01832	0,00000*	0,09623
Norte	0,00357	0,00240	0,00194	-	0,00050*	0,00000*	0,00030*
Nordeste	0,00099	0,00201	0,00239	0,00510	-	0,00000*	0,30086
Nativo Americano	0,14244	0,15374	0,15800	0,14510	0,15713	-	0,00000*
Europeia	0,00005	0,00115	0,00087	0,00455	0,00032	0,15881	-
R_{ST}	Sudeste	Sul	Centro-Oeste	Norte	Nordeste	Nativo Americano	Europeia
Sudeste	-	0,00010*	0,01129	0,00000*	0,02792	0,00000*	0,12929
Sul	0,00380	-	0,12276	0,00158*	0,00030*	0,00000*	0,00337
Centro Oeste	0,00153	0,00076	-	0,00129*	0,00099*	0,00000*	0,02119
Norte	0,00952	0,00339	0,00320	-	0,00000*	0,00000*	0,00000*
Nordeste	0,00266	0,00810	0,00728	0,01927	-	0,00000*	0,05485
Nativo Americano	0,19632	0,17595	0,20218	0,20125	0,26164	-	0,00000*
Europeia	0,00087	0,00475	0,00309	0,01195	0,00308	0,23631	-

*Valores de P considerados significantes após correção de Bonferroni: 0,0024.

Além disso, a fim de verificar quais populações contribuem para as distâncias com valor P significativo observado nas análises entre regiões e avaliar o MT com outras populações brasileiras realizou-se a distância genética par a par (F_{ST} e R_{ST}) apenas com a metapopulação miscigenada, provenientes das 5 regiões geopolíticas do país (Tabelas 4 e 5, respectivamente). Neste caso, das 231 análises entre pares de populações apenas 20 (F_{ST}) e 22 (R_{ST}) apresentaram valor P significativo ($P < 0,00022$, F_{ST} variando de 0,0088 a 0,0329; R_{ST} variando de 0,0116 a 0,0678). Destas populações, 18 (F_{ST}) e 14 (R_{ST}) envolvem as populações de Belém (PA) e Boa Vista (RR), ambas localizadas na região Norte do Brasil. Além disso, os maiores valores de distância genética mostraram-se

principalmente na população de Boa Vista. Por outro lado, as distâncias genéticas obtidas para MT comparadas com as outras populações variaram de -0,00522 a 0,01975 (para F_{ST}) e -0,00721 a 0,02910 (para R_{ST}) com valor P significativo apenas com Belém (PA).

Tabela 4. Matriz de distância genética entre pares de populações brasileiras do grupo miscigenado, com valores de p (acima da diagonal) e distância genética (F_{ST}) (abaixo da diagonal).

Pop	SUDESTE				SUL			CENTRO-OESTE				NORTE						NORDESTE				
	(SP)	(RJ)	(MG)	(ES)	(SC)	(RS)	(PR)	(DF)	(GO)	(MS)	(MT)	(PA-1)	(AC)	(AP)	(RO)	(RR)	(PA-2)	(TO)	(AM)	(CE)	(PE)	(MA)
(SP)	-	0,09445	0,01950	0,41253	0,19107	0,00198	0,58212	0,04831	0,00238	0,99040	0,04406	0,00000*	0,59172	0,00406	0,24176	0,00020*	0,07059	0,73369	0,01535	0,74577	0,14979	0,00812
(RJ)	0,00037	-	0,01079	0,69567	0,03099	0,00119	0,85180	0,00881	0,00050	0,95832	0,07217	0,00000*	0,39897	0,00030	0,17870	0,00000*	0,06881	0,83903	0,01109	0,63914	0,14553	0,00208
(MG)	0,00279	0,00351	-	0,05405	0,02683	0,02990	0,15731	0,02703	0,10662	0,91823	0,01861	0,00248	0,90635	0,03821	0,04366	0,01148	0,02455	0,27532	0,03465	0,06277	0,26087	0,00208
(ES)	0,00000	-0,00050	0,00320	-	0,60024	0,01891	0,54787	0,22552	0,00139	0,95832	0,21305	0,00000*	0,78873	0,02168	0,50351	0,00000*	0,14058	0,46530	0,02119	0,64835	0,21087	0,00624
(SC)	0,00049	0,00160	0,00351	-0,00052	-	0,03148	0,26225	0,53717	0,00228	0,99069	0,06702	0,00000*	0,63370	0,07821	0,08356	0,00020*	0,06861	0,36462	0,02000	0,23196	0,18087	0,02237
(RS)	0,00451	0,00533	0,00375	0,00409	0,00281	-	0,03762	0,04188	0,00406	0,80121	0,02940	0,00000*	0,68280	0,09504	0,00931	0,00683	0,02119	0,07821	0,12425	0,04069	0,43788	0,00000*
(PR)	-0,00086	-0,00229	0,00291	-0,00097	0,00115	0,00628	-	0,24750	0,00663	0,86288	0,40600	0,00218	0,32700	0,04267	0,27631	0,00089	0,05762	0,95931	0,03524	0,67528	0,25394	0,14603
(DF)	0,00102	0,00183	0,00322	0,00060	-0,00023	0,00222	0,00122	-	0,00198	0,99891	0,35006	0,00000*	0,71349	0,10266	0,07871	0,00030	0,09455	0,39491	0,09692	0,21909	0,23859	0,00218
(GO)	0,00910	0,01347	0,00326	0,01337	0,01106	0,00907	0,01328	0,01111	-	0,19780	0,00228	0,05643	0,19820	0,02148	0,00554	0,06287	0,00109	0,03663	0,00416	0,00693	0,08861	0,00327
(MS)	-0,00579	-0,00493	-0,00523	-0,00568	-0,00651	-0,00329	-0,00563	-0,00708	0,00347	-	0,92654	0,12553	0,89526	0,89714	0,82546	0,05267	0,49104	0,79160	0,36986	0,94595	0,63855	0,33393
(MT)	0,00211	0,00160	0,00514	0,00093	0,00229	0,00376	-0,00001	0,00015	0,01289	-0,00522	-	0,00000*	0,25146	0,15177	0,19513	0,00040	0,10306	0,71468	0,04277	0,31383	0,14504	0,00198
(PA-1)	0,01051	0,01306	0,00592	0,01270	0,01165	0,00945	0,01240	0,01192	0,00382	0,00414	0,01243	-	0,20246	0,00020*	0,00010*	0,00020*	0,00040	0,08069	0,00059	0,00050	0,10375	0,00000*
(AC)	-0,00208	0,00020	-0,00708	-0,00498	-0,00275	-0,00328	0,00186	-0,00381	0,00465	-0,00970	0,00282	0,00379	-	0,37838	0,39402	0,07326	0,52817	0,22037	0,64964	0,57163	0,50045	0,05069
(AP)	0,00417	0,00608	0,00378	0,00459	0,00204	0,00196	0,00655	0,00155	0,00691	-0,00484	0,00159	0,00888	0,00042	-	0,01554	0,00366	0,02930	0,11553	0,03802	0,02247	0,20978	0,00465
(RO)	0,00069	0,00108	0,00433	-0,00043	0,00240	0,00647	0,00134	0,00244	0,01063	-0,00408	0,00141	0,01305	0,00030	0,00625	-	0,00010*	0,22552	0,58588	0,03297	0,72349	0,05702	0,01148
(RR)	0,01975	0,02354	0,01122	0,02415	0,02154	0,01117	0,02381	0,02155	0,00617	0,01036	0,02115	0,01648	0,01124	0,01458	0,02265	-	0,00020*	0,00792	0,00129	0,00079	0,01663	0,00000*
(PA-2)	0,00386	0,00421	0,00838	0,00300	0,00456	0,00789	0,00777	0,00365	0,01946	-0,00103	0,00410	0,01536	-0,00200	0,00780	0,00198	0,03294	-	0,31027	0,54826	0,22087	0,12949	0,00198
(TO)	-0,00375	-0,00522	0,00249	-0,00092	0,00074	0,00878	-0,01016	0,00027	0,01347	-0,00737	-0,00417	0,00873	0,00634	0,00750	-0,00249	0,02592	0,00238	-	0,08098	0,67766	0,32502	0,36699
(AM)	0,00720	0,00829	0,00707	0,00812	0,00766	0,00307	0,00990	0,00338	0,01514	0,00090	0,00629	0,01531	-0,00355	0,00698	0,00778	0,02176	-0,00122	0,01079	-	0,03336	0,52995	0,00010*
(CE)	-0,00118	-0,00086	0,00433	-0,00119	0,00110	0,00473	-0,00219	0,00115	0,01244	-0,00650	0,00057	0,01298	-0,00252	0,00656	-0,00175	0,02245	0,00214	-0,00414	0,00878	-	0,15474	0,03425
(PE)	0,00515	0,00573	0,00268	0,00407	0,00472	-0,00026	0,00355	0,00297	0,00942	-0,00457	0,00604	0,00718	-0,00226	0,00399	0,01170	0,02095	0,00843	0,00268	-0,00175	0,00673	-	0,03346
(MA)	0,00487	0,00713	0,01158	0,00783	0,00457	0,01509	0,00314	0,00817	0,01251	0,00090	0,01110	0,01791	0,01201	0,00903	0,00799	0,02560	0,01767	0,00071	0,02204	0,00630	0,01517	-

* Valores de P considerados significantes após correção de Bonferroni: 0,00022. Pop = Populações. Populações consideradas na análise: (SP) = São Paulo; (RJ) = Rio de Janeiro; (MG) = Minas Gerais; (SC) = Santa Catarina; (RS) = Rio Grande do Sul; (PR) = Paraná; (DF) = Brasília; (GO) = Goiás; (MS) = Mato Grosso do Sul; (MT) = Mato Grosso; (PA-1) = Belém; (AC) = Rio Branco; (AP) = Macapá; (RO) = Porto Velho; (RR) = Boa Vista; (PA-2) = Santarém; (TO) = Palmas; (AM) = Manaus; (CE) = Ceará; (PE) = Pernambuco; (MA) = Maranhão.

Tabela 5. Matriz de distância genética entre pares de populações brasileiras do grupo miscigenado, com valores de p (acima da diagonal) e genética (R_{ST}) (abaixo da diagonal).

	SUDESTE				SUL			CENTRO-OESTE				NORTE						NORDESTE				
Pop	(SP)	(RJ)	(MG)	(ES)	(SC)	(RS)	(PR)	(DF)	(GO)	(MS)	(MT)	(PA-1)	(AC)	(AP)	(RO)	(RR)	(PA-2)	(TO)	(AM)	(CE)	(PE)	(MA)
(SP)	-	0,02406	0,00743	0,49371	0,01554	0,00000*	0,82041	0,12088	0,00386	0,99663	0,67162	0,00000*	0,55470	0,01426	0,53203	0,00020*	0,02624	0,16018	0,01257	0,20404	0,20147	0,00267
(RJ)	0,00122	-	0,00069	0,24918	0,00040	0,00000*	0,94842	0,00208	0,00030	0,96674	0,47827	0,00000*	0,29027	0,00069	0,22107	0,00010*	0,02416	0,37056	0,00614	0,65677	0,13593	0,00723
(MG)	0,00649	0,01073	-	0,00960	0,01119	0,08811	0,12118	0,03841	0,04445	0,33422	0,11900	0,00257	0,94862	0,01475	0,01346	0,01841	0,02079	0,10643	0,10138	0,01851	0,60598	0,00010*
(ES)	-0,00028	0,00057	0,00957	-	0,11553	0,00188	0,70349	0,10266	0,00812	0,98842	0,29245	0,00000*	0,67389	0,02020	0,65469	0,00030	0,03604	0,10751	0,02010	0,69389	0,19147	0,00891
(SC)	0,00319	0,00717	0,00645	0,00222	-	0,00218	0,38442	0,28126	0,05198	0,83784	0,18701	0,00000*	0,66488	0,18028	0,18325	0,01851	0,15226	0,25295	0,23364	0,07415	0,35759	0,01396
(RS)	0,01166	0,01664	0,00341	0,01174	0,00781	-	0,02020	0,00149	0,00307	0,15890	0,01505	0,00030	0,91110	0,00446	0,00129	0,05415	0,00515	0,00842	0,03713	0,00297	0,37204	0,00000*
(PR)	-0,00318	-0,00457	0,00571	-0,00297	-0,00013	0,01324	-	0,34195	0,02247	0,89813	0,90328	0,00158	0,39679	0,04564	0,59945	0,00257	0,02099	0,53143	0,01327	0,98109	0,28522	0,54589
(DF)	0,00089	0,00421	0,00457	0,00204	0,00051	0,00916	0,00061	-	0,00604	0,90328	0,47183	0,00000*	0,65152	0,12860	0,27671	0,00030	0,06653	0,12454	0,15236	0,05742	0,15781	0,00050
(GO)	0,01422	0,02499	0,00871	0,01538	0,00794	0,01843	0,01625	0,01400	-	0,10573	0,00723	0,01010	0,60222	0,06188	0,00871	0,00069	0,00178	0,01198	0,01069	0,00238	0,13108	0,00040
(MS)	-0,00886	-0,00747	0,00107	-0,00962	-0,00634	0,00578	-0,00949	-0,00655	0,01013	-	0,90298	0,00644	0,77705	0,42669	0,96644	0,01861	0,44213	0,42055	0,23681	0,83210	0,35947	0,19632
(MT)	-0,00090	-0,00032	0,00318	0,00075	0,00166	0,00775	-0,00514	-0,00037	0,01667	-0,00721	-	0,00000*	0,52292	0,06999	0,26067	0,00178	0,08524	0,29918	0,05049	0,29264	0,25691	0,00931
(PA-1)	0,02452	0,03274	0,00998	0,02947	0,01825	0,01340	0,02417	0,01897	0,01181	0,02374	0,01983	-	0,21711	0,00010*	0,00010*	0,00188	0,00000*	0,00416	0,00069	0,00000*	0,02990	0,00000*
(AC)	-0,00285	0,00225	-0,01189	-0,00575	-0,00751	-0,01029	-0,00005	-0,00513	-0,00475	-0,01122	-0,00283	0,00537	-	0,49639	0,32878	0,20018	0,24334	0,09920	0,62469	0,34947	0,60539	0,02485
(AP)	0,00489	0,01261	0,00851	0,00698	0,00176	0,01059	0,00998	0,00194	0,00701	-0,00050	0,00445	0,01506	-0,00223	-	0,04633	0,00099	0,04762	0,01287	0,10732	0,00317	0,07791	0,00000*
(RO)	-0,00058	0,00124	0,01106	-0,00156	0,00197	0,01638	-0,00228	0,00087	0,01719	-0,00950	0,00136	0,02537	0,00224	0,00641	-	0,00020*	0,03544	0,16097	0,01634	0,27413	0,08920	0,02742
(RR)	0,03773	0,04288	0,01632	0,03851	0,02140	0,00913	0,03582	0,03163	0,04407	0,02823	0,02910	0,02296	0,00780	0,03187	0,04206	-	0,00139	0,00743	0,00653	0,00040	0,19048	0,00000*
(PA-2)	0,00983	0,01081	0,01409	0,01051	0,00334	0,01922	0,01825	0,00717	0,03067	-0,00081	0,00752	0,03858	0,00561	0,00951	0,01199	0,03799	-	0,07484	0,66389	0,01059	0,06613	0,00020*
(TO)	0,00761	0,00054	0,01349	0,01197	0,00300	0,03575	-0,00373	0,01072	0,03591	-0,00105	0,00300	0,03992	0,02389	0,03068	0,00881	0,04833	0,01775	-	0,02416	0,25710	0,16860	0,24057
(AM)	0,01194	0,01730	0,00650	0,01319	0,00167	0,00994	0,02256	0,00371	0,02029	0,00422	0,00973	0,02700	-0,00534	0,00590	0,01639	0,02723	-0,00373	0,03170	-	0,00693	0,11276	0,00010*
(CE)	0,00164	-0,00153	0,01210	-0,00219	0,00572	0,01859	-0,00802	0,00559	0,02568	-0,00717	0,00112	0,03789	0,00122	0,01797	0,00159	0,04308	0,02131	0,00439	0,02497	-	0,16652	0,08078
(PE)	0,00568	0,00942	-0,00453	0,00675	-0,00147	0,00087	0,00373	0,00889	0,01144	0,00151	0,00435	0,02221	-0,00721	0,01506	0,01406	0,00866	0,01825	0,01423	0,01357	0,00905	-	0,04604
(MA)	0,01021	0,00886	0,02688	0,01084	0,00860	0,04061	-0,00161	0,01555	0,02859	0,00506	0,01200	0,04358	0,02494	0,02509	0,00893	0,06780	0,03505	0,00521	0,04362	0,00636	0,01995	-

* Valores de P considerados significantes após correção de Bonferroni: 0,00022. Pop = Populações. Populações consideradas na análise: (SP) = São Paulo; (RJ) = Rio de Janeiro; (MG) = Minas Gerais; (SC) = Santa Catarina; (RS) = Rio Grande do Sul; (PR) = Paraná; (DF) = Brasília; (GO) = Goiás; (MS) = Mato Grosso do Sul; (MT) = Mato Grosso; (PA-1) = Belém; (AC) = Rio Branco; (AP) = Macapá; (RO) = Porto Velho; (RR) = Boa Vista; (PA-2) = Santarém; (TO) = Palmas; (AM) = Manaus; (CE) = Ceará; (PE) = Pernambuco; (MA) = Maranhão.

Para analisar o Estado MT com relação às populações internacionais, foram selecionadas no banco de dados YHRD populações Europeias (Itália e Portugal), Africana (África do Sul), Asiática (Coreia do Sul) e Latino-Americana (Argentina) ⁽³⁸⁾ tipadas para o sistema PPY23 a fim de se realizar um cálculo da distância genética (R_{ST}) disponível do próprio banco (Tabela 6). Observou-se que de 15 pares, 13 mostraram valor P significativo após a correção de Bonferroni ($P < 0,0033$). Além disso, Mato Grosso mostrou-se muito próximo da população Latino-Americana, representada por Argentina, seguido das duas populações europeias Portugal e Itália ($R_{ST} = 0,0039$; $0,0058$ e $0,0101$, respectivamente).

Tabela 6. Matriz de distância genética entre pares de população de Mato Grosso, Brasil e outras populações mundiais tipadas para o sistema PPY23 disponíveis no banco de dados *Y-Chromosome STR Haplotype Reference Database* (YHRD) com valores de p (acima da diagonal) e distância genética (R_{ST}) (abaixo da diagonal).

População	(MT)	(LA)	(EU-1)	(EU-2)	(AF)	(AS)
(MT)	-	0,0291	0,0008*	0,0390	0,0000*	0,0000*
(LA)	0,0039	-	0,0000*	0,0001*	0,0000*	0,0000*
(EU-1)	0,0101	0,0105	-	0,0000*	0,0000*	0,0000*
(EU-2)	0,0058	0,0101	0,0173	-	0,0000*	0,0000*
(AF)	0,0995	0,1297	0,1322	0,1480	-	0,0000*
(AS)	0,1967	0,1960	0,2086	0,2320	0,1868	-

* Valores de P considerados significantes após correção de Bonferroni: 0,00333. MT= Mato Grosso; LA= Latino-Americana (Argentina); EU-1= Europeia (Itália); EU-2= Europeia (Portugal) AF= Africana (África do Sul); AS= Asiática (Coreia do Sul).

A análise de Escala Multidimensional Não-Métrica (MDS) foi realizada com base nos valores F_{ST} obtidos nas análises de distância genética entre pares de regiões para o sistema Yfiler (Figuras 6 e 7), e R_{ST} para o sistema PPY23 (Figura 8). Observou-se a metapopulação Europeia mais agrupada às regiões Centro-Oeste, Sul, Sudeste e Nordeste do Brasil, enquanto a Metapopulação Nativa-Americana e a região Norte mais

distantes (Figura 6), com destaque para Belém (PA) e Boa Vista (RR) (Figura 7). A população do Estado de MT mostrou-se localizada entre as demais populações do Brasil (Figura 7) e mais próximas as populações Latino-Americana (Argentina) e Europeias (Itália e Portugal) (Figura 8).

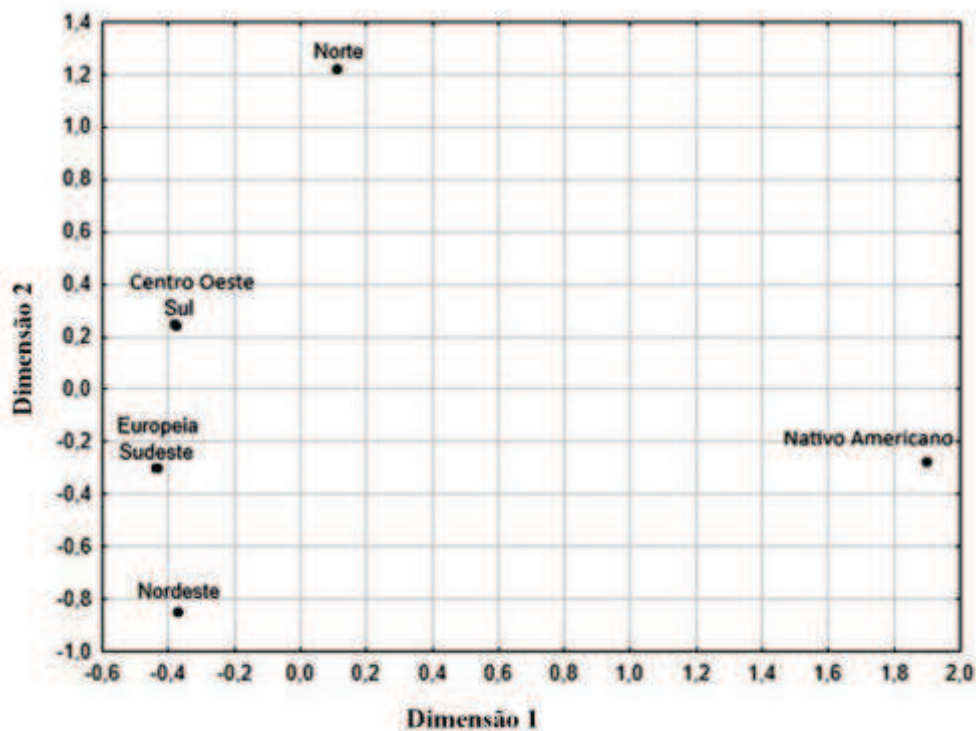


Figura 6. Análise em Escala Multidimensional Não-Métrica (MDS) baseada na matriz de distância genética entre pares de regiões brasileiras, metapopulações europeia e nativa-americana tipadas para o sistema Yfiler e disponíveis no banco de dados *Y-Chromosome STR Haplotype Reference Database* (YHRD).⁽³⁸⁾ Stress: 0,0002.

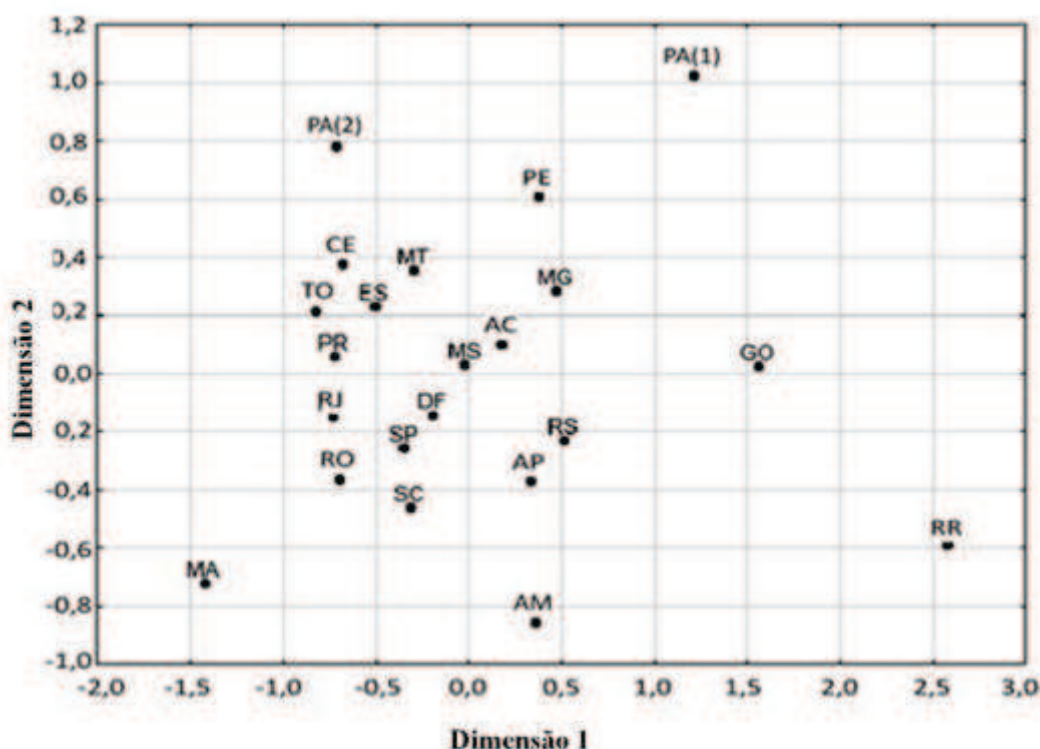


Figura 7. Análise em Escala Multidimensional Não-Métrica (MDS) baseada na matriz de distância genética entre pares de populações brasileiras miscigenadas tipadas para o sistema Yfiler e disponíveis no banco de dados *Y-Chromosome STR Haplotype Reference Database* (YHRD). ⁽³⁸⁾ Stress: 0,1994. (SP) = São Paulo; (RJ) = Rio de Janeiro; (MG) = Minas Gerais; (SC) = Santa Catarina; (RS) = Rio Grande do Sul; (PR) = Paraná; (DF) = Brasília; (GO) = Goiás; (MS) = Mato Grosso do Sul; (MT) = Mato Grosso; (PA-1) = Belém; (AC) = Rio Branco; (AP) = Macapá; (RO) = Porto Velho; (RR) = Boa Vista; (PA-2) = Santarém; (TO) = Palmas; (AM) = Manaus; (CE) = Ceará; (PE) = Pernambuco; (MA) = Maranhão

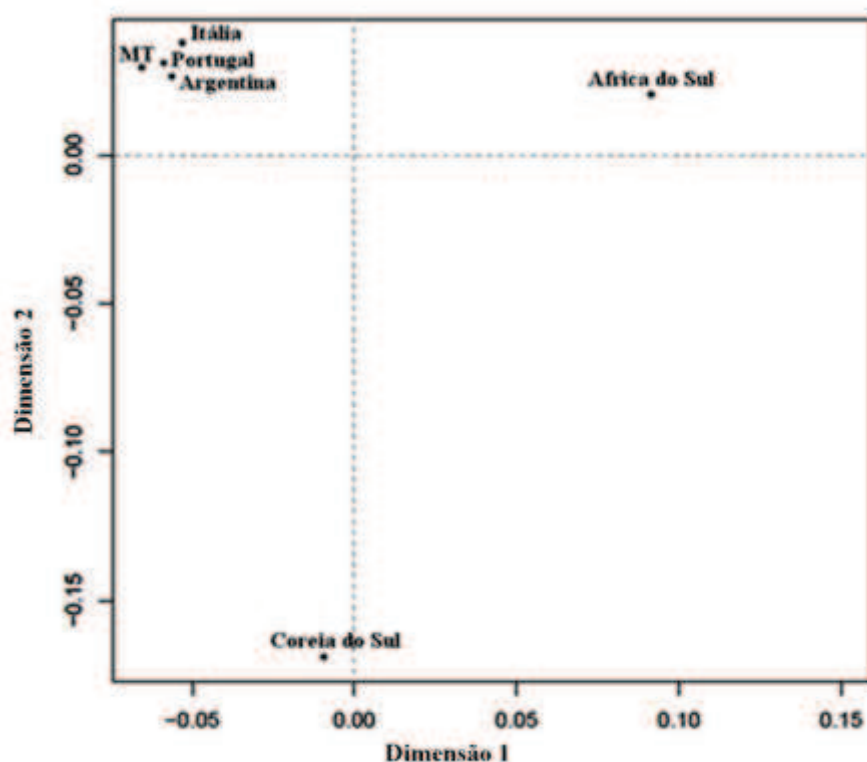


Figura 8. Análise em Escala Multidimensional Não-Métrica (MDS) baseada na matriz de distância genética realizada no banco de dados YHRD⁽³⁸⁾ entre Mato Grosso (MT) e populações mundiais tipadas para o sistema PPY23. *Stress*: 0,04028.

Foi realizada análise de variação molecular (AMOVA) entre as populações miscigenadas estratificadas por regiões geográficas do Brasil (norte, nordeste, centro-oeste, sul e sudeste) representadas no Quadro 1 e entre MT com as populações miscigenadas da região Centro-Oeste, baseada na distância F_{ST} e teste de significância com 10.000 permutas (Tabela 7)

Tabela 7. Análise de variação molecular (AMOVA) para o Sistema Yfiler em diferentes grupos de populações brasileiras.

Teste	Grupos	Varição Estudada	Varição (%)	Valor P
1	Norte	Entre grupos	0,07	0,10119
	Nordeste			
	Centro-Oeste	Entre populações dentre grupos	0,38	0,00000*
	Sudeste Sul	Dentro das populações	99,55	0,00000*
2	Centro-Oeste	Entre populações	0,20	0,08197
		Dentro das populações	99,80	

*Valores de P significantes para o nível de 0,05.

Os resultados mostraram que a maior parte da variabilidade genética (99,55%) entre as regiões geográficas do Brasil (Tabela 7, Teste 1) foi dentro das populações. Ao estudar apenas o MT em relação as outras populações do Centro-Oeste, a menor variação genética foi obtida com Mato Grosso do Sul (-0,39%), seguido de Brasília (-0,09%) e Goiás (1,18%) (Tabela 7).

Os perfis haplotípicos obtidos para os 23 marcadores Y-STR na população do MT foram disponibilizados no banco de dados internacional do cromossomo Y (YHRD)

⁽³⁸⁾ acessível em <https://www.yhrd.org/> (Figura 9).



Figura 9. Submissão dos dados obtidos neste trabalho ao banco de dados internacional YHRD (<http://www.yhrd.org/>).⁽³⁸⁾

4. DISCUSSÃO

Este estudo tem caráter inédito em relação aos perfis de Y-STR na população do Estado de Mato Grosso, Brasil, para a sua utilização em genética forense. O sistema *PowerPlex® Y23* mostrou-se altamente eficiente com alta diversidade haplotípica e capacidade de discriminação com acréscimo de novos loci.

Além disso, os alelos intermediários observados na população de MT, também estão presentes em outras populações internacionais como Itália, ^(73,77) inclusive em brasileiras como Pará, Rondônia, Ceará, Maranhão, Goiás, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Minas Gerais, Rio Grande do Sul e Paraná ^(47,78) indicando distribuição semelhante entre as diferentes populações.

Considerando as altas frequências haplotípicas obtidas, assim como a homogeneidade existente nessa população com relação as demais populações brasileiras e a proximidade com populações de origem europeia e latino-americana, os resultados obtidos são consistentes com a história da miscigenação do Brasil. ⁽⁷⁹⁾

Neste estudo, a média obtida na DG de todos os *loci* (0,675) corroborou outros estudos da região Centro-Oeste do Brasil (0,684; 0,657 e 0,645). ^(47, 48, 80) Gao et al., ⁽⁸¹⁾ Nuñez et al., ⁽⁸²⁾ Purps et al., ⁽⁷³⁾ e Palha et al., ⁽⁴⁷⁾ também observaram resultados semelhantes em populações asiáticas, europeias e outras regiões brasileiras, respectivamente. A DG da maior parte do cromossomo Y humano, tem sido uma ferramenta útil para rastrear a história e os movimentos populacionais, ligar homens paternalmente relacionado uns aos outros e diferenciar linhagens masculinas não relacionados entre si. ⁽⁸³⁻⁸⁵⁾

Quando se estuda grande número de *loci* específicos do cromossomo Y podem ser obtidos valores muito elevados de diversidade haplotípica. Na maioria das

populações humanas, espera-se que o número relativamente pequeno de 12 a 17 STRs produzam uma porcentagem de mais de 90% de haplótipos diferentes na maioria das amostras de populações de tamanho médio de 100 a 500 indivíduos não relacionados. (47)

Na população estudada foi observado, como esperado, que o aumento do número de Y-STR resultou em alta diversidade haplotípica (DH) e capacidade de discriminação (CD) para o PPY23, comparado aos outros sistemas Y-STRs. Nesse caso, há concordância com outros estudos, que encontraram valores superiores a 0,9987 de DH e 0,942 de CD ^(82,84,86) indicando alta aplicabilidade desse sistema em estudos forenses. Tais resultados evidenciam a alta diversidade haplotípica das populações miscigenadas brasileiras, cujo índice é superior aos relatados em estudos com amostras de populações asiáticas como Mongólia (0,9992) e Kuwaiti (0,9950), europeia como País Basco (0,9987) e latino-americana como Buenos Aires (0,9990), Formosa (0,9956) e Mendonza (0,9996). ^(73, 81 82, 87)

Nas análises de distância genética (F_{ST} e R_{ST}), representando a probabilidade de que dois indivíduos, pertencentes à subpopulações diferentes, possuam uma alelo idêntico por descendência, a metapopulação nativa americana do Brasil (Tabela 3) foi a que apresentou os maiores valores de F_{ST} e R_{ST} com valores de P significantes comparado as populações brasileiras miscigenadas, seguida da região Norte, onde abriga as pessoas com maior ascendência nativa americana. Diferenças significantes também foram encontradas em outros estudos ao comparar populações brasileiras urbanas com ameríndias ⁽⁸⁸⁾ e afro-descendentes (R_{ST} variando de 0,139 a 0,184). ⁽⁸⁹⁾

Em relação às populações miscigenadas do Brasil, as análises aos pares (de F_{ST} e R_{ST}) envolvendo Belém (PA) e Boa Vista (RR) foram as que mais apresentaram valores

significantes. Porém, houve pouca diferenciação, com valores de distância genética abaixo de 0,05 (Tabelas 4 e 5), exceto entre as populações de Boa Vista (Roraima) e Maranhão ($R_{ST} = 0,06780$; $P = 0,00000$). O mesmo foi verificado em estudo com 17 Y-STRs na população do Rio de Janeiro, em que não se revelou diferenças significativas na distância genética quando comparadas as demais regiões brasileiras, exceto com Pará e Roraima, localizadas na região norte do Brasil. ⁽⁴⁹⁾

Neste estudo, embora a população de Boa Vista (RR) tenha apresentado os maiores valores de distância genética na comparação entre as populações, eles são considerados de baixa diferenciação, de modo que as populações miscigenadas podem ser consideradas geneticamente próximas ⁽⁶⁹⁾ com exceção de Belém e Boa Vista.

Tais resultados sugerem ausência de subestrutura genética de MT com as populações miscigenadas do Brasil e corrobora outros autores. Nesse contexto, destaque-se o estudo de Vieira et al., ⁽⁸⁰⁾ na população de Goiás, localizada no centro-oeste do Brasil, no qual não encontrou diferenças significativas entre as populações brasileiras. Adicionalmente, Palha et al. ⁽⁴⁷⁾ analisaram 23 marcadores Y-STR em cerca de 2.000 amostras miscigenadas brasileiras distribuídas nas cinco regiões geográficas do Brasil, e também não encontraram subestrutura evidente no país.

Os gráficos MDS evidenciam a homogeneidade genética que existe entre MT e as populações miscigenadas em geral, distribuídas nas regiões geopolíticas do Brasil. Além disso, demonstram proximidade com a metapopulação brasileira europeia e a grande distância genética do grupo nativo americano em relação às demais populações do Brasil, seguida da região norte (Figura 6). Desse modo, há concordância com o estudo de Grattapaglia et al., ⁽⁹⁰⁾ que demonstraram linhagens europeias masculinas em todas essas populações. Entretanto, o presente estudo apresenta discreta distância

genética das populações de Belém (PA) e Boa Vista (RR) (Figura 7), o que justifica a maior diferenciação da região Norte e confirmam os resultados obtidos pela análise de distância genética na comparação entre os pares de populações. Tais resultados permitem que a distribuição haplotípica do MT seja englobada às populações brasileiras miscigenadas.

Boa Vista (RR) e Belém (PA) são conhecidas como as cidades com a primeira e a terceira maior incidência de indígenas urbanos no Brasil, respectivamente. ^(91,92) Além disso, Boa Vista (RR) é conhecida por seu intenso fluxo migratório desde a colonização, tendo em vista que se localiza próximo à fronteira com dois países (República Cooperativa da Guiana e a Venezuela). Desse modo, a cidade de Boa Vista possui zonas onde os imigrantes chegam a representar 85% dos residentes daquele local. ⁽⁹²⁾ Esses fatores podem ter colaborado para uma amostragem não representativa da população brasileira miscigenada nessas cidades, contribuindo para as discretas, porém, significativas distâncias genéticas observadas principalmente nessas duas populações.

Ao analisar a metapopulação miscigenada estratificada entre as regiões do Brasil (Tabela 7, Teste 1), observou-se baixa variação genética entre as regiões brasileiras (0,07%). Esses resultados corroboram estudo reportado por Palha et al., ⁽⁴⁷⁾ que não encontraram variações significativas entre os grupos no teste AMOVA, incluindo 17 populações distribuídas ao longo das cinco regiões geográficas brasileiras. Isso foi observado também neste estudo para a região Centro-Oeste do Brasil (Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás e Brasília-DF), com menor variação genética entre as populações (0,20%). Além disso, homogeneidade na distribuição de haplótipos Y-STR foi observada em outros estudos entre populações urbanas dentre os estados brasileiros, bem como entre as cinco regiões geopolíticas do país. ^(48,78,88)

No contexto internacional, a maior proximidade genética de MT foi apresentada com Argentina, tanto nas análises de R_{ST} como no teste AMOVA. Nesse caso, há indicação de pouca variação genética entre essas populações, observado também no gráfico MDS (Figura 8), com valores de P não significantes. Já a população da Itália destacou-se estatisticamente por apresentar valores de P significantes e baixo valor de distância genética.

Análise de marcadores autossômicos, os quais guardam a história de ambas as linhagens materna e paterna, confirmam a similaridade genética do centro-oeste ao sudeste e nordeste do país. Segundo Moura et al., ⁽⁷⁹⁾ todas as regiões brasileiras miscigenadas possuem maior contribuição europeia, sendo que esta é mais alta na região sul (77%) e diminui ao longo do país no sentido da região norte (51%); inversamente, a herança nativa americana é maior no norte (32%) e diminui no sentido sul (11%), enquanto a ancestralidade africana é maior no nordeste (27%).

Alta contribuição ameríndia na região norte (54%) e maiores contribuições africanas e europeias são encontradas no nordeste (44%) e sul (66%), respectivamente em análise de Alves-Silva et al. ⁽⁹³⁾ Estudos com marcadores uniparentais do cromossomo Y mostram que a linhagem paterna das populações brasileiras miscigenadas é predominantemente de origem europeia (85,8% - 97,5%), com baixa influência africana e nativa Americana. ^(51,74,88, 94-97) Embora se reconheça que europeus, africanos e ameríndios contribuíram para o componente autossômico em brasileiros ⁽⁹⁸⁾ as linhagens do cromossomo Y são, na maior parte, derivadas da ascendência europeia.

O tamanho e a complexidade demográfica do Brasil exigem amplos estudos, incluindo amostras representativas de diferentes regiões para avaliar o perfil genético ao longo do país.

CONCLUSÕES

5. CONCLUSÕES

Este estudo permite as seguintes conclusões:

1. Constatam-se perfis haplotípicos característicos da população do Estado do Mato Grosso, identificados com precisão pelo sistema PPY23.
2. A população de MT pode ser reconhecida com ampla diversidade haplotípica, representada por 98,5% de haplótipos diferentes pelo sistema PPY23.
3. Ressalta-se a eficiência forense do sistema PPY23 com base nos parâmetros forenses (diversidade haplotípica e capacidade de discriminação) na população do Estado de Mato Grosso, com potencial aplicação em exames de parentescos e identidade.
4. A ausência de subestrutura genética na população do Estado de Mato Grosso, em relação às outras regiões do Brasil, permite a utilização de um banco de dados unificado desta população com relação a metapopulação miscigenada do país, o que se pode confirmar pela história de formação da população mato-grossense, mais próxima ao grupo brasileiro, seguido do latino-americano, europeu e mais distante, do asiático e africano.
5. É possível visualizar e utilizar os perfis haplotípicos obtidos para os 23 marcadores Y-STRs na população do Estado de Mato Grosso já aceitos e inseridos no banco de dados internacional YHRD (<http://www.yhrd.org/>), com aplicação imediata na área forense.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. França GV. *Medicina Legal*. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Kogan; 2001. p.32-63.
2. Almeida Jr A, Costa Jr JBO. *Lições de Medicina Legal*. v.1, 21ª ed. São Paulo (SP): Biblioteca Universitária- Companhia Editora Nacional; 1996.
3. Balasubramanian SP, Cox A, Brown NJ, Reed MW. Candidate gene polymorphisms in solid cancers. *Eur J Surg Oncol* 2004;30(6):593-601.
4. Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL. Hypervariable Minisatellite Regions in Human DNA. *Nature* 1985;314:63-73.
5. Butler JM. *Forensic DNA typing*. 2ª ed. London: Elsevier Academic Press, 2005.
6. Butler JM. *Advanced Topics in Forensic DNA typing: Methodology*. 1 ed. London: Elsevier Academic Press; 2011.
7. Prinz M, Carracedo A, Mayr WR, Morling N, Parsons TJ, Sajantila A, et al. DNA Commission of the International Society for Forensic Genetics (ISFG): recommendations regarding the role of forensic genetics for disaster victim identification (DVI). *Forensic Sci Int Genet* 2007;1:3-12.
8. Szibor R, Krawczak M, Hering S, Edelmann J, Kuhlisch E, Krause D. Use of X-linked markers for forensic purposes. *Int J Legal Med* 2003;117:67-74.
9. Szibor R. X-chromosomal markers: Past, present and future. *Forensic Sci Int Gen* 2007;1:93-99.
10. Diegoli TM. Forensic typing of short tandem repeat markers on the X and Y chromosomes. *Forensic Sci Int Genet* 2015;18:140-51.
11. Ohno S. *Sex chromosomes and Sex-linked genes*. Berlin: Springer; 1967.
12. Lahn BT, Page DC. Four evolutionary strata on the human X chromosome. *Science* 1999;286:964-967.
13. Page DC, Harper ME, Love J, Botstein D. Occurrence of a transposition from the X-chromosome long arm to the Y-chromosome short arm during human evolution. *Nature* 1984;311:119-123.
14. Skaletsky H, Kuroda-Kawaguchi T, Minx PJ, Cordum HS, Hillier L, Brown LG, et al. The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature* 2003;423:825-37.
15. Ross MT, Grafham DV, Coffey AJ, Scherer S, McLay K, Muzny D, et al. The DNA sequence of the human X chromosome. *Nature* 2005;434: 325-7.
16. Gusmao L, Alves C. Marcadores dos cromossomas sexuais em identificação. In: Pinheiro MFT. (Org.) In: *Genética Forense. Perspectivas da Identificação Genética*. Porto: Edições Universidade Fernando Pessoa; 2010. p. 105-139.

17. Otto SP, Oannel JR, Peichel CL, Ashman TL, Charlesworth D, Chippindale AJ, et al. About PAR: The distinct evolutionary dynamics of the pseudoautosomal region. *Trends Genet* 2011;27:358–67.
18. Roewer L. Y chromosome STR typing in crime casework. *Forensic Sci Med Pathol* 2009;5:77–84.
19. Skaletsky H, Kuroda-Kawagushi T, Minx PJ, Cordum HS, Hillier L, Brown LG, et al. The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature* 2003;423:825–37.
20. Thomsen AR, Hallenberg C, Simonsen BT, Langkjaer RB, Morling N. A report of the 2002-2008 paternity testing workshops of the English speaking working group of the International Society for Forensic Genetics. *Forensic Sci Int Genet* 2009;3:214-21.
21. Builes JJ, Manrique A, Aguirre D, Puerto Y, Bravo ML, Gusmão L. Utility of Y and X-STRs in the research of complex biological relationship. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 2009; Supl 2:236–7.
22. Lee JC, Tsai LC, Chu PC, Lin YY, Huang TY, Linacre A, et al. The risk of false inclusion of a relative in parentage testing - an in silico population study. *Croat Med J* 2013;54:257-62.
23. González-Andrade F, Sánchez D, Penacino G, Martínez Jarreta B. Two fathers for the same child: A deficient paternity case of false inclusion with autosomic STRs. *Forensic Sci Int Genet* 2009;3:138–40.
24. Lee HY, Kim NY, Park MJ, Sim JE, Yang WI, Shin KJ. DNA typing for the identification of old skeletal remains from Korean War victims. *J Forensic Sci* 2010;55:1422-29.
25. Haas C, Shved N, Rühli FJ, Papageorgopoulou C, Purps J, Geppert M. Y-chromosomal analysis identifies the skeletal remains of Swiss national hero Jörg Jenatsch (1596-1639). *Forensic Sci Int Genet* 2013;7:610-17.
26. Ambers A, Gill-King H, Dirkmaat D, Benjamin R, King J, Budowle B. Autosomal and Y-STR analysis of degraded DNA from the 120-year-old skeletal remains of Ezekiel Harper. *Forensic Sci Int Genet* 2014;9:33-41.
27. Sibille I, Duverneuil C, Lorin de la Grandmaison G, Guerrouache K, Teissière F, Durigon M, et al. Y-STR DNA amplification as biological evidence in sexually assaulted female victims with no cytological detection of spermatozoa. *Forensic Sci Int* 2002;125:212–16.
28. Hanson E, Ballantyne J. A Y-short tandem repeat specific DNA enhancement strategy to aid the analysis of late reported (≥ 6 days) sexual assault cases. *Med Sci Law* 2014;54:209-18.
29. Thompson JM, Ewing MM, Frank WE, Pogemiller JJ, Nolde CA, Koehler DJ et al. Developmental validation of the PowerPlex Y23 system: a single multiplex Y-STR analysis system for casework and database samples. *Forensic Sci Int Genet* 2013;7:240–250.

30. Diederiche M, Martín P, Amorim A, Corte-Real F, Gusmão L. A case of double alleles at three Y-STR loci: forensic implications. *Int J Legal Med* 2005;119:223-5.
31. Feng L, Xu C, Zeng X, Zhang H, Yang F, Li W, et al. Y-chromosomal haplotyping of single sperm cells isolated from semen mixtures - a successful identification of three perpetrators in a multi-suspect sexual assault case. *Croat Med J* 2014;55:537-41.
32. Gill P, Brenner CH, Buckleton JS, Carracedo A, Krawczak M, Mayr WR, et al. DNA commission of the International Society of Forensic Genetics: Recommendations on the interpretation of mixtures. *Forensic Sci Int* 2006;160:90-101.
33. Gjertson DW, Brenner CH, Baur MP, Carracedo A, Guidet F, Lague JA, et al. ISFG: Recommendations on biostatistics in paternity testing. *Forensic Sci Int Genet* 2007;1:223-31.
34. Gill P, Gusmão L, Haned H, Mayr WR, Morling N, Parson W, et al. DNA commission of the International Society of Forensic Genetics: Recommendations on the evaluation of STR typing results that may include drop-out and/or drop-in using probabilistic methods. *Forensic Sci Int Genet* 2012;6:679-88.
35. National Research Council (DC). *The Evaluation of Forensic DNA Evidence*. Washington: National Academy Press; 1996.
36. Krawczak M. Forensic evaluation of Y-STR haplotype matches: a comment. *Forensic Sci Int* 2001;118:114-15.
37. Roewer L, Willuweit S. Y-Chromosomale STR-Analyse in der forensischen Praxis. *Rechtsmedizin* 2018;28:149-64.
38. Y-Chromosome Haplotype Reference Database. YHRD © 2000-2018 Sascha Willuweit & Lutz Roewer. Licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International License. <https://yhrd.org/>.
39. Willuweit S, Anslinger K, Babler G, Eckert M, Fimmers R, Hohoff C, et al. Gemeinsame Empfehlungen der Projektgruppe "Biostatistische DNA-Berechnungen" und der Spurenkommision zur biostatistischen Bewertung von Y-chromosomalen DNA Befunden. *Rechtsmedizin* 2018;28:138-42.
40. Hammer MF, Karafet TM, Redd AJ, Jarjanazi H, Santachiara-Benerecetti S, Soodyall H. Hierarchical patterns of global human Y-chromosome diversity. *Mol Biol Evol* 2001;18:1189–1203.
41. Gusmão L, Butler J, Linacre A, Parson W, Roewer L, Schneider PM, et al. Revised guidelines for the publication of genetic population data. *Forensic Sci Int Genet* 2017;30:160-3.
42. Gusmao L, Butler JM, Carracedo A, Gill P, Kayser M, Mayr WR, et al. DNA Commission of the International Society of Forensic Genetics. DNA Commission of the International Society of Forensic Genetics (ISFG): an

- update of the recommendations on the use of Y-STRs in forensic analysis. *Forensic Sci Int* 2006;157:187-97.
43. Budowle B, Adamowicz M, Aranda XG, Barna C, Chakraborty R, Cheswick D, et al. Twelve short tandem repeat loci Y chromosome haplotypes: Genetic analysis on populations residing in North America. *Forensic Sci Int* 2005;150:1–15.
 44. Pascalli V, Dobosz M. Coordinating Y- chromosomal STR research of the Courts. *Int J Legal Med* 1999; 112:1.
 45. Roewer L, Krawczak M, Willuweit S, Nagy M, Alves C, Amorim A. Online reference database of European Y-chromosomal short tandem repeat (STR) haplotypes. *Forensic Sci Int* 2001;118:106-113.
 46. Butler JM. Recent developments in Y-short tandem repeat and Y-single nucleotide polymorphism analysis. *Forensic Sci Rev* 2003;15:91-111.
 47. Palha T, Gusmão L, Ribeiro-Rodrigues E, Guerreiro JF, Ribeiro-Dos-Santos A, Santos S. Disclosing the genetic structure of Brazil through analysis of male lineages with highly discriminating haplotypes. *PLoS One* 2012;7:e40007.
 48. Chemale G, Freitas JM, Badaraco JL, Rosa LD, Martins JA, Martins AD, et al. Y-Chromosomal STR haplotypes in a sample from Brasília, Federal District, Brazil. *Forensic Sci Int Genet* 2014; 9:e3-4.
 49. Oliveira AM, Domingues PM, Gomes V, Amorim A, Jannuzzi J, Carvalho EF, et al. Male lineage strata of Brazilian population disclosed by the simultaneous analysis of STRs and SNPs. *Forensic Sci Int: Genet* 2014;13:264–268.
 50. Cardena MM, Mansur AJ, Pereira AC, Fridman C. Y haplotype variability in a population of São Paulo state, Brazil. *Forensic Sci Int Genet* 2016;23:e22-3.
 51. Figueiredo RF, Ambrosio IB, Braganholi DF, Chemale G, Martins JA, Gomes V, et al. Male-specific contributions to the Brazilian population of Espírito Santo. *Int J Legal Med* 2016;120:679-81
 52. Jannuzzi J, Domingues P, Simão F, da Silva Chaves AC, de Carvalho EF, Gusmão L. Genetic characterization of Rio de Janeiro for different Y-STR sets. *Int J Legal Med* 2018;132(5):1313-15.
 53. de Souza LF, da Motta CHAS, Moura-Neto RS. 17 Y-STR haplotype diversity in São Paulo state (southeast of Brazil). *Int J Legal Med* 2019;133(1):81-3.
 54. Barcelos RSS, Ribeiro GGBL, Silva-Jr WA, Abe-Sandes K, Godinho NM, Marinho-Neto F, et al. Male contribution in the constitution of the Brazilian Centro-Oeste population estimated by Y-chromosome binary markers. In: *International Society of Forensic Genetics. (Org.). Progress in Forensic Genetics* 2006;1288:228-230.
 55. Siqueira EM. *História de Mato Grosso*. Cuiabá: Entrelinhas; 2009.

56. Ferreira AC. Conquista colonial, resistência indígena e formação do Estado Nacional: os índios Guaicuru e Guana no Mato Grosso dos séculos XVIII-XIX. *Rev Antrop* 2009;52:97-136.
57. Silva VW. Controle e domínio territorial no sul do estado de Mato Grosso: uma análise da atuação da Cia Matte Larangeira no período de 1883 a 1937. *Agrária* 2011;15:102-125.
58. Santos, W. 2013. http://olhardireto.com.br/artigos/exibir.asp?artigo=A_escravidao_em_Mato_Grosso&id=6319.
59. Rout LB. *The African Experience in Spanish America: 1502 to the Present Day*. Cambridge University Press: New York;1976.
60. Cunha JMP. Dinâmica migratória e o processo de ocupação do Centro-Oeste brasileiro: o caso de Mato Grosso. *R Bras Est Pop* 2006,23:87-107.
61. Cunha JMP. Migrações no Centro-Oeste Brasileiro: as tendências e características do período de 1986- 1996. *Cadernos de Demografia, SEDUH: Brasília – DF* 2000;13.
62. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) 2019, disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil>.
63. Promega Corporation. Technical manual PowerPlex® Y23 System Instructions for Use of Products DC2305 and DC2320 2016.
64. Carracedo A, Butler JM, Gusmão L, Linacre A, Parson W, Roewer L, et al. Update of the guidelines for the publication of genetic population data. *Forensic Sci Int Genet* 2014;10:A1-2.
65. GE Healthcare. Reliable extraction of DNA from whatman FTA cards. Application note 2010;28:9822–22AA.
66. Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (version. 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolution. Bioinform Online* 2007;1:47-50.
67. Nei M, Tajima F. DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases. *Genetics* 1981;97:145-163.
68. Excoffier L, Lischer HEL. Arlequin suite (ver 3.5): a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows, *Mol Ecol Resour* 2010;10:564–67.
69. Balloux F, Lugon-Moulin N. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Mol Ecol* 2002;11:155–65.
70. Gymrek M, Willems T, Reich D, Erlich Y. Interpreting short tandem repeat variations in humans using mutational constraint. *Nature Genetics* 2017;49:1495-1501.
71. Torres SRR. Avaliação Da Estrutura Genética Da População Atual De Santa Catarina Com Diferentes Marcadores Moleculares Para Aplicação Na Genética Forense. [Tese]. Florianópolis (SC): Universidade Federal de Santa Catarina; 2014.

72. Barra GB, Chianca CF, Rita THS, Velasco LFR, Souza CF. Haplotype diversity of 23 Y-chromosomal STRs in a population sample from the Federal District (Brazil)—a territory that arose from nothing. *Int J Legal Med* 2014;128:945-47.
73. Purps J, Siegert S, Willuweit S, Nagy M, Alves C, Salazar R. A global analysis of Y-chromosomal haplotype diversity for 23 STR loci. *Forensic Science International: Genetics* 2014;12:12–23.
74. Francez PAC, Ramos LPV, Palha TJBF, Santos SEB. Haplotype diversity of 17 Y-str loci in an admixed population from the Brazilian Amazon. *Genet Mol Biol* 2012;35:45-52.
75. Roewer L. DNA fingerprinting in forensics: past, present, future. *Investigative Genetics* 2013;4:22.
76. Schwengber SP, Kommers T, Matte C, Raimann PE, Carvalho BA, Leite FPN, et al. Population data of 17 Y-STR loci from Rio Grande do Sul state (South Brazil). *Forensic Sci Int Genet* 2009;4:e31–e33.
77. Turrina S, Caratti S, Ferriani M, de Leo D. Haplotype data and mutation rates for the 23 Y-STR loci of PowerPlex® Y23 System in a Northeast Italian population sample. *Int J Legal Med* 2015;129(4):725-8.
78. Pereira RW, Monteiro EH, Hirschfeld GC, Wang AY, Grattapaglia D. Haplotype diversity of 17 Y-chromosome STRs in Brazilians. *Forensic Sci Int* 2007;171:226-236.
79. Moura RR, Coelho AV, Balbino Vde Q, Crovella S, Brandão LA. Meta-analysis of Brazilian genetic admixture and comparison with other Latin America countries. *Am J Hum Biol* 2015;27:674-80.
80. Vieira TC, Gigonzac MAD, Silva DM, Rodovalho RG, Santos GS, da Cruz AD. Y-STR haplotype diversity and population data for Central Brazil: implications for environmental forensics and paternity testing. *Genetics and Molecular Research* 2014;13(2):3404-10.
81. Gao T, Yun L, Gao S, Gu Y, He W, Luo H, et al. Population genetics of 23 Y-STR loci in the Mongolian minority population in Inner Mongolia of China. *Int J Legal Med* 2016;130(6):1509-11.
82. Nuñez C, Baeta M, Fernández M, Zarrabeitia M, Martinez-Jarreta B, Pancorbo MM. Highly discriminatory capacity of the PowerPlex Y23 System for the study of isolated populations. *Forensic Sci Int: Genet* 2015;17: 104-7.
83. King, TE, Jobling M. What's in a name? Y chromosomes, surnames and the genetic genealogy revolution. *Trends in Genetics* 2009;25(8):351–60.
84. Roewer L. Y chromosome STR typing in crime casework. *Forensic Sci Med Pathol* 2009;5:77-84.
85. Shi W, Ayub Q, Vermeulen M, Shao RG, Zuniga S, van der Gaag K, et al. A worldwide survey of human male demographic history based on Y-SNP and

- Y-STR data from the HGDP-CEPH populations. *Mol Biol Evol* 2010;27(2):385–93.
86. Ferreira STG, Paula KA, Maia FA, Svidizinski AE, Amaral MR, Diniz SS, et al. Routine analysis of sexual assault cases in Brasilia, Brazil, using 23 Y-chromosome markers. *Forensic Sci Int: Genet Supplement Series* 2015;5:e619-e621.
 87. Taqi Z, Alenizi M, Alenizi H, Ismael S, Dukhyil AAB, Nazir M, et al. Population genetics of 23 Y-STR markers in Kuwaiti population. *Forensic Sci Int Genet.* 2015;16:203-4.
 88. Carvalho M, Brito P, Lopes V, Andrade L, Anjos MJ, Real FC, et al. Analysis of paternal lineages in Brazilian and African populations. *Genet Mol Biol* 2010; 33:422-427.
 89. Domingues PM, Gusmão L, da Silva DA, Amorim A, Pereira RW, de Carvalho EF. Sub-Saharan Africa descendents in Rio de Janeiro (Brazil): population and mutational data for 12 Y-STR loci. *Int J Legal Med* 2007;121:238-41.
 90. Grattapaglia D, Kalupniek S, Guimarães CS, Ribeiro MA, Diener OS, Soares CN. Y-chromosome STR haplotype diversity in Brazilian populations. *Forensic Science International* 2005;149:99–107
 91. Ponte LASX. A população indígena da cidade de Belém, Pará: alguns modos de sociabilidade. *Bol Mus Para Emílio Goeldi* 2009;4:261-275.
 92. Staevie PM. Expansão urbana e exclusão social em Boa Vista – Roraima. *Oculum Ensaios* 2011;13:68-87.
 93. Alves-Silva J, da Silva Santos M, Guimarães PE, Ferreira AC, Bandelt HJ, Pena SD, et al. The ancestry of Brazilian mtDNA lineages, *Am J Hum Genet* 2000;67:444-461.
 94. Carvalho-Silva DR, Santos FR, Rocha J, Pena SD. The phylogeography of Brazilian Y-chromosome lineages. *Am J Hum Genet* 2001; 68:281-286.
 95. Silva DA, Carvalho E, Costa G, Tavares L, Amorim A, Gusmão L. Y-chromosome genetic variation in Rio de Janeiro population. *Am J Hum Biol* 2006;18:829-837.
 96. Leite FP, Callegari-Jacques SM, Carvalho BA, Kommers T, Matte CH, Raimann PE, et al. Y-STR analysis in Brazilian and South Amerindian populations. *Am J Hum Biol* 2008;20:359-63.
 97. Azevedo D, da Silva LAF, Gusmão L, de Carvalho EF. Analysis of Y chromosome SNPs in Alagoas, Northeastern Brazil. *Forensic Sci Int Genet Suppl Series* 2009; 2:421-22.
 98. Parra FC, Amado RC, Lambertucci JR, Rocha J, Antunes CM, Pena SD. Color and genomic ancestry in Brazilians. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 2003;100(1):177–82.

APENDICE A - Parecer de aprovação do CEP-FAMERP

Parecer n.º 884.835

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

O projeto de pesquisa CAAE 39088514.8.0000.5415 sob a responsabilidade de Joyce Aparecida Martins Lopes Ferraz com o título "Caracterização de Marcadores STR do Cromossomo X na População do Estado de Mato Grosso, Brasil" está de acordo com a resolução do CNS 466/12 e foi aprovado por esse CEP.

Lembramos ao senhor(a) pesquisador(a) que, no cumprimento da Resolução 251/97, o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) deverá receber relatórios semestrais sobre o andamento do Estudo, bem como a qualquer tempo e a critério do pesquisador nos casos de relevância, além do envio dos relatos de eventos adversos, para conhecimento deste Comitê. Salientamos ainda, a necessidade de relatório completo ao final do Estudo.

São José do Rio Preto, 25 de novembro de 2014.

Luciano G. Laurencão
Prof. Dr. Luciano Garcia Laurencão
Presidente do CEP/FAMERP

APENDICE B - Parecer de aprovação SES/MT (páginas 1, 13 e 14)

SECRETARIA DE ESTADO DE
SAÚDE DE MATO GROSSO -
SES / MT



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: CARACTERIZAÇÃO DE MARCADORES STR DO CROMOSSOMO X NA POPULAÇÃO DO ESTADO DE MATO GROSSO, BRASIL

Pesquisador: Joyce Aparecida Martins Lopes Ferraz

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP);

Versão: 1

CAAE: 39068514.8.3001.5164

Instituição Proponente: Faculdade de Medicina de São Jose do Rio Preto- FAMERP - SP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 942.241

Data da Relatoria: 29/01/2015

Apresentação do Projeto:

1. INTRODUÇÃO. Marcadores biológicos para identificação humana – panorama histórico Inicialmente, diversos marcadores protéicos foram tipados para detectar polimorfismos que poderiam ser potencialmente usados para diferenciar indivíduos. No século XX, a descoberta dos grupos sanguíneos ABO, marcou o início dos estudos modernos sobre a variação genética humana (JORDE; WATKINS; BAMSHAD, 2001), sendo tal sistema utilizado por várias décadas em testes de identificação humana e em evidências relacionadas a crimes. Posteriormente, outros sistemas de marcadores protéicos como os componentes grupo-específicos (transferrina, albumina, ceruloplasmina, haptoglobina, fosfoglicomutase-1, fosfatase ácida, esterase D, etc) mostraram-se variáveis entre os grupos populacionais e passaram, também, a ser utilizados (BONACCORSO, 2004). Marcando uma segunda fase, em 1954, foi demonstrada a ocorrência de um sistema de histocompatibilidade mediado por antígenos na superfície dos leucócitos, conhecido como complexo HLA (Human leucocyte antigen), determinado por genes alélicos muito próximos, localizados no braço curto do cromossomo 6, com acentuado poder de discriminação (CALABREZ, 1999). O uso de sistemas protéicos para a aquisição de altos níveis de diferenciação entre os indivíduos apresenta, no entanto, alguns inconvenientes, tais como: a baixa estabilidade em

Endereço: Avenida Adauto Botelho S/N
Bairro: Bairro Cophema - ESP CEP: 78.085-200
UF: MT Município: CUIABA
Telefone: (65)3651-3431 Fax: (65)3613-2204 E-mail: cep@ses.mt.gov.br

APENDICE B - Parecer de aprovação SES/MT (páginas 1, 13 e 14) continuação

SECRETARIA DE ESTADO DE
SAÚDE DE MATO GROSSO -
SES / MT



Continuação do Parecer: 942.241

da coleta, o indivíduo será submetido a um desconforto mínimo ocasionado pela compressão do seu dedo, uma vez que tal processo se fará no momento da triagem, sem a necessidade de nova punção.

Benefícios:

Não haverá benefício imediato ao sujeito da pesquisa, mas é através de estudos como este que são adquiridos os dados necessários para as análises estatísticas efetuadas nos exames de identificação humana e investigações de vínculos biológicos pela análise do DNA, dando robustez e credibilidade científica ao laudo pericial.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

ver item Recomendações

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_429230.pdf]

PB_XML_INTERFACE_REBEC.xml

Folha_rosto_MT.jpg

Projeto_MT_CEP.doc

Declaração_MT_CEP.pd

TCLE_MT.doc

Recomendações:

Foi informado no TCLE : Para maiores esclarecimentos, o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da FAMERP (CEP/FAMERP) está disponível no telefone: (17) 3201-5813 ou pelo email: cepfamerp@famerp.br.

Solicita-se informar o papel social do CEP e a possibilidade de os participantes efetuarem contato com o CEP em caso de dúvidas sobre a condução ética do estudo. Além disto, solicita-se disponibilizar endereço físico e o nome do responsável a ser contatado no CEP.

Não foi informado que o TCLE será disponibilizado em duas vias e uma deverá ficar sob a posse do participante do estudo e a necessidade de rubricar todas as páginas, caso ultrapasse a uma página. Deixar a linguagem técnica o mais clara possível, deixando-as de forma coloquial, por exemplo :

Endereço: Avenida Adauto Botelho S/N
Bairro: Bairro Cophema - ESP CEP: 78.085-200
UF: MT Município: CUIABA
Telefone: (65)3661-3431 Fax: (65)3613-2204 E-mail: cep@ses.mt.gov.br

APENDICE B - Parecer de aprovação SES/MT (páginas 1, 13 e 14) continuação

SECRETARIA DE ESTADO DE
SAÚDE DE MATO GROSSO -
SES / MT



Continuação do Parecer: 942.241

triagem hematológica , explicar o significado, DNA . compressão, nova punção, material genético.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

ver item Recomendações

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

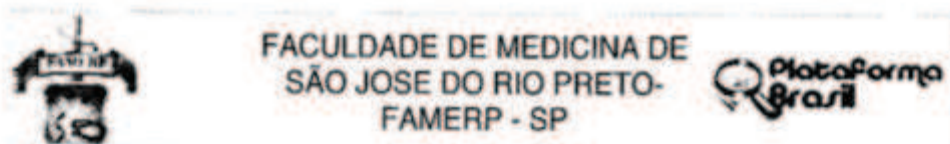
Este parecer encontra-se na modalidade Ad. Referendum.

CUIABA, 30 de Janeiro de 2015

Assinado por:
Valdete Marques Arnaut Antiqueira
(Coordenador)

Endereço: Avenida Adauto Botelho S/N
Bairro: Bairro Cophema - ESP CEP: 78.085-200
UF: MT Município: CUIABA
Telefone: (65)3661-3431 Fax: (65)3613-2204 E-mail: cep@ses.mt.gov.br

APÊNDICE C - Aprovação do Adendo pelo CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: CARACTERIZAÇÃO DE MARCADORES STR DO CROMOSSOMO X NA POPULAÇÃO DO ESTADO DE MATO GROSSO, BRASIL

Pesquisador: Joyce Aparecida Martins Lopes Ferraz

Área Temática: Genética Humana;

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);

Versão: 1

CAAE: 39088514.8.0000.5415

Instituição Proponente: Faculdade de Medicina de São Jose do Rio Preto- FAMERP - SP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DA NOTIFICAÇÃO

Tipo de Notificação: Outros

Detalhe: Adendo

Justificativa: Vide documento em anexo.

Data do Envio: 16/06/2015

Situação da Notificação: Parecer Consubstanciado Emitido

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.114.652

Data da Relatoria: 14/07/2015

Apresentação da Notificação:

Trata-se de uma notificação do estudo CAAE: 39088514.8.0000.5415.

Objetivo da Notificação:

Submissão de notificação para este CEP.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Tendo em vista que o sistema AS-STR será caracterizado em 500 indivíduos e que 300 pessoas já forneceram suas amostras biológicas para o estudo de marcadores X-STR, solicitamos a dispensa do TCLE destas pessoas para a análise do sistema AS-STR.

Ou seja, risco mínimo referente à exposição das amostras.

Endereço: BRIGADEIRO FARIA LIMA, 5416

Bairro: VILA SAO PEDRO

CEP: 15.000-000

UF: SP

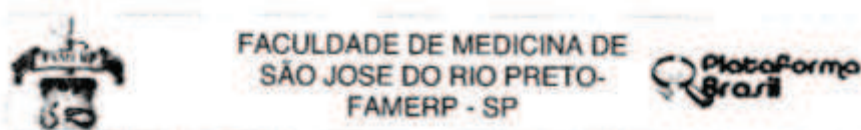
Município: SAO JOSE DO RIO PRETO

Telefone: (17)3201-5813

Fax: (17)3201-5813

E-mail: cep@famerp.br

APÊNDICE C - Aprovação do Adendo pelo CEP (continuação)



Continuação do Parecer: 1.114.852

Comentários e Considerações sobre a Notificação:

Foi solicitada a mudança de título do estudo, bem como extensão do cronograma.

De acordo com pesquisador, até o momento foram coletadas amostras sanguíneas de 300 indivíduos para a caracterização dos marcadores X-STRs (sistema deplex e Argus X-12), conforme proposto no projeto original.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

De acordo.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências ou inadequações.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto aprova a mudança de título do estudo anteriormente "CARACTERIZAÇÃO DE MARCADORES STR DO CROMOSSOMO X NA POPULAÇÃO DO ESTADO DE MATO GROSSO, BRASIL" e agora para "Caracterização de Marcadores Genéticos Forense na População do Estado de Mato Grosso, Brasil" e a mudança de cronograma conforme encaminhamento datado de 16/06/2015; referente ao estudo CAAE: 39088514.8.0000.5415.

SAO JOSE DO RIO PRETO, 19 de Junho de 2015

Assinado por:
LUCIANO GARCIA LOURENCAO
 (Coordenador)

Endereço: BRIGADEIRO FARIA LIMA, 5416
 Bairro: VILA SAO PEDRO CEP: 13.090-000
 UF: SP Município: SAO JOSE DO RIO PRETO
 Telefone: (17)3201-5813 Fax: (17)3201-5813 E-mail: cep@famerp.br

APÊNDICE D – Termo de Consentimento Livre Esclarecido



Comitê de Ética em
Pesquisas em Saúde Humana
CEP/FAMERP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do estudo: Caracterização de Marcadores Genéticos Forenses na População do Estado de Mato Grosso, Brasil.



Você está sendo convidado a participar deste estudo porque você pertence à população do Estado de Mato Grosso, para a qual é necessário conhecer a frequência de algumas regiões do DNA (material que possui as informações genéticas humana) analisadas em exames de identificação humana.

DO QUE SE TRATA O ESTUDO?

Os exames de DNA para identificação humana analisam regiões genéticas que são passadas dos pais para os filhos. Assim, o objetivo deste estudo é determinar a frequência de certas regiões do DNA na população do Estado de Mato Grosso e avaliar a eficiência das mesmas no exame de identificação humana.

COMO SERÁ REALIZADO O ESTUDO?

Para participar da pesquisa você terá que preencher e assinar a última página deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e rubricar a primeira página do mesmo, o qual será disponibilizado em duas vias e uma ficará com você.

Quando você doar uma gota de sangue (coletada da ponta do dedo) para o teste que irá avaliar se poderá ser doador, sem a necessidade de uma nova picada, serão coletadas de 3 a 4 gotas do seu sangue em um cartão especial para amostra biológica.

Sua identificação será tratada de forma anônima e confidencial, isto é, em nenhum momento será divulgado o seu nome em qualquer fase do estudo.

Os dados coletados serão utilizados apenas NESTA pesquisa e os resultados serão divulgados em eventos ou revistas científicas apenas para fins de estudo.

ESSES PROCEDIMENTOS SÃO DESCONFORTÁVEIS OU GERAM RISCOS?

Os procedimentos poderão trazer os seguintes riscos: um pequeno desconforto decorrente da compressão realizada no seu dedo para a coleta do sangue. Você não terá benefício imediato ao participar deste estudo, porém sua participação irá contribuir para adquirir os dados necessários para as análises estatísticas efetuadas nos exames de identificação humana por análise do material genético.

APÊNDICE D – Termo de Consentimento Livre Esclarecido (continuação)



Comitê de Ética em
Pesquisa em Seres Humanos
CEP/FAMERP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O QUE ACONTECE COM QUEM NÃO PARTICIPA DO ESTUDO?

Não lhe acontecerá nada se você não quiser participar desse estudo.

Você pode se recusar a participar ou mesmo retirar seu consentimento a qualquer momento, sem nenhum prejuízo ou penalização.

Você não terá despesas e não receberá pagamento por participar da pesquisa.

Você está livre para perguntar e esclarecer suas dúvidas em qualquer momento deste estudo, entrando em contato com o pesquisador responsável Dr.ª Joyce Aparecida Martins Lopes Ferraz pelo e-mail joyce_ap@hotmail.com ou pelo telefone: 17-32015864.

Receberei algo por participar?

Além disso, o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da FAMERP (CEP/FAMERP), coordenado pelo Prof. Dr. Luciano Garcia Lourenção, é responsável por garantir a ética no desenvolvimento desta pesquisa e está disponível para quaisquer esclarecimentos no telefone: (17) 3201-5813, e-mail: cepfamerp@famerp.br e endereço: Av. Brigadeiro Faria Lima, 5416, Vila São Pedro, CEP: 15090-000, São José do Rio Preto – SP.



Declaro que entendi este TERMO DE CONSENTIMENTO e estou de acordo em participar do estudo proposto, sabendo que dele poderei desistir a qualquer momento, sem sofrer qualquer punição ou constrangimento.

Pesquisador Responsável
Dra. Joyce Aparecida Martins Lopes Ferraz

Participante da Pesquisa ou Responsável
(Nome e Assinatura)

RG: _____ Telefone: _____

APÊNDICE E – Lista de Haplótipos

Tabela 1. Distribuição haplotípica de 200 amostras masculinas tipadas para o sistema *PowerPlex® Y23* na população do Estado de Mato Grosso, Brasil.

H	DYS576	DYS389I	DYS448	DYS389II	DYS19	DYS391	DYS481	DYS549	DYS533	DYS438	DYS437	DYS570	DYS635	DYS390	DYS439	DYS392	DYS643	DYS393	DYS458	DYS385	DYS456	Y-GATA-H4	N
MT01	16	13	20	29	13	9	27	11	11	10	14	22	21	24	11	11	12	13	18	13,13	16	11	1
MT02	17	13	20	30	13	10	22	12	12	10	14	19	21	24	12	11	12	12	16	16,16	17	12	1
MT03	20	14	19	31	13	10	27	12	11	9	13	18	22	25	13	14	11	12	18	15,17	15	11	1
MT04	18	12	20	28	14	11	19	13	12	12	15	19	23	23	12	13	10	13	20	11,14	15	12	1
MT05	16	12	20	29	14	10	25	12	11	10	16	19	21	22	12	11	12	13	17	13,15	14	11	1
MT06	17	13	19	29	14	11	22	13	12	12	15	18	23	24	12	13	10	13	16	11,13	16	11	2
MT07	17	12	19	29	14	11	27	13	13	12	15	17	23	24	11	13	11	13	16	11,15	16	12	1
MT08	17	13	22	30	16	10	26	11	11	11	14	19	21	21	12	11	13	15	17	17,2	15	11	1
MT09	19	13	19	29	14	11	22	13	12	12	15	17	23	23	11	13	10	13	17	11,14	16	13	1
MT10	18	14	19	33	13	10	28	13	11	11	14	16	23	23	11	14	10	13	17	15,18	15	14	1
MT11	16	13	20	31	14	10	25	11	11	10	14	19	21	23	12	11	9	12	18,2	13,18	16	11	1
MT12	17	12	21	28	15	10	21	12	9	10	15	18	21	22	11	11	13	14	17	12,15	16	12	1
MT13	15	13	19	29	14	10	24	12	11	9	14	18	21	23	11	13	10	13	16	13,14	16	11	1
MT14	17	13	18	30	13	10	22	12	12	10	14	16	21	23	12	11	14	13	16	16,17	17	11	1
MT15	17	13	20	31	13	11	24	12	11	11	15	12	23	25	12	14	10	13	17	14,14	15	12	1
MT16	16	13	20	29	13	10	21	12	12	10	14	20	21	24	13	11	12	13	15	17,18	15	12	1
MT17	18	13	19	29	14	11	22	12	13	12	15	17	23	24	13	13	10	13	17	11,14	16	12	1
MT18	19	12	20	31	13	10	24	12	11	10	15	14	23	23	10	11	12	14	18	15,17	14	12	1
MT19	21	13	20	30	16	12	23	12	12	11	14	18	23	25	10	11	10	13	16	11,14	15	13	1

H	continua																				N		
	DYS576	DYS389I	DYS448	DYS389II	DYS19	DYS391	DYS481	DYS549	DYS533	DYS438	DYS437	DYS570	DYS635	DYS390	DYS439	DYS392	DYS643	DYS393	DYS458	DYS385		DYS456	Y-GATA-H4
MT20	17	13	19	29	13	11	22	12	12	12	14	13	23	23	12	13	10	13	17	12,14	16	11	1
MT21	20	13	21	30	14	10	25	13	11	10	14	17	21	23	13	11	9	12	17.2	13,15	15	11	1
MT22	18	13	17	29	15	11	23	13	11	12	14	18	23	24	11	13	10	13	17	11,13	17	11	1
MT23	15	12	21	30	15	10	27	11	10	11	14	20	21	21	13	11	13	13	17	16,17	15	12	1
MT24	18	12	19	29	14	10	22	13	12	12	15	18	23	24	15	14	10	13	14	11,12	15	11	2
MT25	17	13	20	32	14	11	22	12	12	12	15	17	23	24	12	13	11	13	19	11,14	16	12	2
MT26	16	12	20	29	13	10	24	12	13	10	14	19	21	23	13	11	12	13	17	16,16	17	11	1
MT27	17	12	20	28	14	10	26	12	11	10	16	19	22	22	11	11	12	13	15	13,14	14	11	1
MT28	17	14	19	30	14	11	22	13	12	12	15	17	23	24	12	13	10	13	16	11,14	17	12	1
MT29	18	13	19	29	14	11	23	13	12	12	15	18	23	23	12	13	10	13	16	11,14	16	11	1
MT30	16	13	20	30	14	10	24	12	11	10	14	18	20	23	12	11	9	12	16.2	14,19	17	11	1
MT31	18	13	19	29	15	11	23	12	13	13	14	17	23	24	12	13	10	13	18	11,14	16	12	1
MT32	19	13	19	29	14	11	21	12	12	12	15	17	24	24	12	13	10	13	18	11,11	15	12	1
MT33	18	13	19	29	15	11	22	13	12	12	15	18	23	23	12	13	10	13	16	11,14	16	12	1
MT34	17	13	19	29	15	11	24	13	12	12	15	17	24	24	12	13	9	13	16	11,14	15	12	1
MT35	18	14	19	30	14	11	22	13	13	12	15	17	23	23	13	12	10	13	16	11,13	16	12	1
MT36	18	13	21	29	14	10	21	12	11	9	14	16	22	22	12	11	8	12	15	12,15	15	11	1
MT37	20	13	19	29	14	11	22	12	12	12	15	16	23	24	12	13	10	13	17	11,14	16	12	1
MT38	15	13	21	30	17	10	27	11	12	11	14	19	21	20	13	11	14	14	16	15,18	15	11	1
MT39	19	13	20	29	14	11	22	12	10	12	15	17	23	24	12	13	10	13	17	11,14	15	12	1
MT40	15	13	20	31	14	10	25	13	11	10	14	16	21	23	11	11	9	12	17.2	13,19	15	11	1
MT41	19	14	19	31	14	11	22	13	11	12	15	16	23	24	13	13	11	13	20	11,15	16	12	1

MT42	18	13	22	29	15	10	23	15	11	9	15	14	21	23	12	11	11	12	15	13,18	15	11	1
	continua																						
H	DYS576	DYS389I	DYS448	DYS389II	DYS19	DYS391	DYS481	DYS549	DYS533	DYS438	DYS437	DYS570	DYS635	DYS390	DYS439	DYS392	DYS643	DYS393	DYS458	DYS385	DYS456	Y-GATA-H4	N
MT43	19	13	19	29	14	10	23	12	12	12	15	15	23	24	12	13	11	12	16	11,14	15	12	1
MT44	17	13	18	29	14	11	23	11	12	12	15	17	23	24	13	13	10	13	19	11,15	15	12	1
MT45	19	13	19	29	14	10	22	13	12	12	15	17	23	23	11	13	10	13	17	11,14	15	12	1
MT46	18	13	19	29	14	11	22	12	12	12	15	17	23	24	11	13	10	12	17	10,14	16	11	1
MT47	18	13	19	29	14	11	22	13	12	12	14	17	23	24	13	13	10	14	19	11,15	14	11	1
MT48	18	13	19	29	14	11	22	12	12	12	15	16	23	24	12	13	10	13	17	11,14	16	11	1
MT49	18	13	20	31	16	9	27	13	12	11	14	21	21	21	13	11	14	13	17	16,17	15	12	1
MT50	17	13	21	32	15	10	27	12	11	11	14	19	21	21	12	11	14	13	15	15,17	15	11	1
MT51	18	13	19	29	15	11	21	13	12	12	14	16	23	23	11	13	9	13	17	11,13	15	12	1
MT52	18	13	19	29	15	11	22	13	12	12	15	17	23	24	12	13	9	13	16	11,14	16	12	1
MT53	18	13	19	29	14	11	23	12	12	12	15	17	23	24	13	13	11	13	18	11,14	16	12	1
MT54	18	14	21	32	15	11	28	11	11	11	14	20	21	21	11	11	14	13	17	16,18	15	12	1
MT55	19	13	19	29	14	11	22	13	12	12	15	20	24	24	13	14	10	13	16	11,13	15	11	1
MT56	19	14	19	30	14	11	22	13	11	13	15	16	23	25	12	13	10	13	18	11,14	16	12	1
MT57	19	13	19	29	15	11	23	13	12	12	15	17	23	24	11	13	9	13	18	11,14	16	11	1
MT58	19	14	20	30	13	9	28	11	11	10	14	22	21	24	10	11	11	13	17	12,13	16	12	1
MT59	16	13	21	29	16	9	22	11	12	9	14	19	24	23	11	11	10	12	14	13,13	16	11	1
MT60	19	13	18	29	14	10	22	11	12	12	14	18	23	24	13	13	10	13	18	11,15	16	11	1
MT61	18	13	19	29	15	10	22	14	12	12	15	17	23	23	12	13	10	13	17	12,14	15	12	1
MT62	19	12	19	29	14	11	23	11	12	12	15	17	23	24	12	13	10	12	18	11,15	17	12	1

MT63	18	13	20	29	15	10	21	13	11	9	15	20	23	22	12	11	10	13	15	14,18	13	12	1
MT64	18	13	20	30	14	9	25	11	11	10	14	22	22	23	10	11	12	13	20	14,14	17	12	1
MT65	17	13	19	29	16	11	21	13	12	9	15	17	24	23	10	11	11	12	15	12,16	15	11	1
continua																							
H	DYS576	DYS389I	DYS448	DYS389II	DYS19	DYS391	DYS481	DYS549	DYS533	DYS438	DYS437	DYS570	DYS635	DYS390	DYS439	DYS392	DYS643	DYS393	DYS458	DYS385	DYS456	Y-GATA-H4	N
MT66	18	13	19	29	14	11	22	14	11	12	14	17	23	23	11	13	10	13	17	11,14	15	12	1
MT67	17	13	20	30	14	11	22	12	12	12	15	17	23	24	12	13	11	13	19	11,14	15	12	1
MT68	17	14	19	30	14	11	22	13	12	12	15	17	23	24	12	13	10	13	18	12,14	16	12	1
MT69	16	13	20	31	14	10	22	13	13	12	15	16	23	24	12	13	10	12	15	11,14	14	12	1
MT70	17	13	20	30	13	10	22	12	12	10	14	18	25	24	11	11	11	13	15	16,18	16	12	1
MT71	19	14	19	30	14	11	22	12	12	12	15	18	23	24	12	13	10	13	18	11,14	16	12	1
MT72	18	13	22	29	15	10	23	14	11	9	15	16	21	23	13	11	11	12	15	13,18	15	11	1
MT73	18	13	19	29	14	11	22	12	12	12	15	16	23	24	12	13	11	13	16	10,14	19	12	1
MT74	17	13	20	29	15	10	25	11	13	10	14	19	20	22	11	13	12	13	15	16,16	14	11	1
MT75	17	12	22	28	14	10	24	13	10	10	16	19	21	23	12	12	11	13	15	14,14	15	12	1
MT76	16	12	19	27	15	10	23	12	10	9	14	18	21	23	11	14	9	13	15	13,16	15	11	1
MT77	19	13	20	30	16	11	23	12	12	11	14	20	23	25	10	11	10	13	16	12,14	15	12	1
MT78	17	12	20	28	16	10	21	12	9	10	16	17	21	22	12	11	12	13	18	12,15	16	11	1
MT79	19	14	21	30	14	10	23	12	11	9	15	18	21	22	10	11	8	12	15	13,16	16	11	1
MT80	20	13	20	29	13	9	28	11	11	10	14	23	21	24	10	11	12	13	18	13,14	15	12	1
MT81	19	13	19	29	14	11	22	12	12	12	15	17	24	24	11	13	11	13	17	9,14	15	12	1
MT82	19	12	19	28	15	11	22	13	12	12	15	17	23	25	12	13	10	12	17	11,14	15	12	1
MT83	17	13	19	31	14	10	23	12	12	12	15	16	23	24	12	13	9	14	17	11,14	15	13	1

MT84	20	14	19	30	14	12	22	13	12	12	15	17	23	24	12	13	10	13	17	11,13	15	12	1
MT85	18	13	20	30	15	11	22	12	12	9	14	15	24	23	11	11	10	12	17	13,15	18	12	1
MT86	18	13	19	30	13	10	22	11	12	10	14	21	22	23	12	11	12	13	16	17,2	17	12	1
MT87	19	13	19	31	14	11	22	12	11	12	15	17	24	24	13	13	10	13	17	11,14	16	12	1
continua																							
H	DYS576	DYS389I	DYS448	DYS389II	DYS19	DYS391	DYS481	DYS549	DYS533	DYS438	DYS437	DYS570	DYS635	DYS390	DYS439	DYS392	DYS643	DYS393	DYS458	DYS385	DYS456	Y-GATA-H4	N
MT88	16	14	18	30	14	11	22	13	12	12	14	16	23	24	12	13	10	13	18	10,13	16	11	1
MT89	18	14	21	32	15	11	28	12	11	11	14	20	21	21	11	11	14	13	17	16,18	15	12	1
MT90	16	13	21	30	17	11	26	12	11	11	14	17	21	21	12	11	13	15	16	17,19	14	11	1
MT91	18	13	19	29	14	11	20	12	13	12	14	17	23	23	12	13	11	13	17	11,13	15	12	1
MT92	17	12	19	28	16	11	22	13	12	12	15	18	23	24	12	13	11	13	18	11,15	15	12	1
MT93	19	13	18	29	14	11	21	9	12	12	15	17	25	25	11	13	10	13	17	10,14	16	12	1
MT94	15	14	21	32	16	11	24	11	11	11	14	17	21	21	13	11	13	15	15	17,17	16	11	1
MT95	13	14	20	32	16	10	27	11	12	11	14	17	22	21	12	11	15	13	17	16,17	14	12	1
MT96	18	13	19	29	14	10	23	12	12	12	14	16	23	24	13	13	10	13	17	12,14	16	12	1
MT97	17	13	20	30	13	10	22	11	12	10	14	19	24	24	13	11	12	13	17	16,18	15	11	1
MT98	18	12	19	26	15	11	22	14	11	12	15	17	24	24	10	13	10	13	16	12,14	16	12	1
MT99	18	13	19	29	14	11	21	13	12	12	15	16	24	24	12	13	10	13	18	11,17	15	12	1
MT100	15	13	21	30	16	10	21	12	10	10	16	18	21	22	12	10	12	13	18	15,15	15	11	1
MT101	18	13	20	32	15	10	25	11	12	7	15	17	21	22	11	12	11	15	17	15,16	13	11	1
MT102	17	12	22	29	15	10	22	11	9	10	16	19	21	22	13	11	11	14	16	15,15	18	12	1
MT103	16	14	20	30	13	7	29	11	11	10	14	22	21	23	10	11	12	13	18	13,14	15	12	1
MT104	19	14	19	30	14	11	23	12	12	11	15	17	23	24	11	13	10	13	18	11,14	15	11	1

MT105	17	13	20	30	13	10	22	12	12	10	14	18	24	24	13	11	12	13	15	17,17	16	11	1
MT106	20	12	18	27	14	10	22	12	12	12	15	17	23	24	12	13	10	13	17	12,14	15	12	1
MT107	18	14	20	30	13	9	28	11	10	10	14	21	21	24	11	11	12	13	18	12,2,14	15	12	1
MT108	17	14	20	30	14	11	22	12	10	9	15	16	21	22	12	10	11	12	16	14,17	15	12	1
MT109	15	13	21	32	16	10	28	11	12	11	14	20	22	21	11	11	14	12	15	16,17	15	12	1
continua																							
H	DYS576	DYS389I	DYS448	DYS389II	DYS19	DYS391	DYS481	DYS549	DYS533	DYS438	DYS437	DYS570	DYS635	DYS390	DYS439	DYS392	DYS643	DYS393	DYS458	DYS385	DYS456	Y-GATA-H4	N
MT110	16	14	20	29	14	10	22	13	12	9	14	18	22	23	11	13	10	13	17	14,17	15	10	1
MT111	18	14	21	31	16	10	25	13	8	10	14	21	23	24	11	11	10	12	15	13,18	15	10	1
MT112	18	13	19	29	14	11	22	13	12	12	16	17	23	24	12	13	10	13	17	11,14	15	12	1
MT113	18	13	19	29	13	11	23	14	12	12	15	17	23	23	11	13	11	13	18	11,14	14	12	1
MT114	17	13	21	29	15	11	25	11	11	11	14	20	21	21	11	11	14	13	17	15,16	14	11	1
MT115	15	12	21	30	15	10	28	11	11	11	14	18	21	23	11	11	14	13	17	17,17	15	12	1
MT116	15	13	20	32	13	10	25	12	10	10	14	20	21	24	12	11	12	14	18	16,17	16	11	1
MT117	16	13	19	29	14	11	24	12	12	12	15	17	23	23	12	13	10	13	17	14,14	16	12	1
MT118	17	13	20	29	15	11	23	12	12	9	14	16	22	23	12	11	10	12	17	13,16	15	13	1
MT119	16	13	21	29	14	10	23	13	12	9	15	19	22	23	12	11	10	12	17	13,17	15	12	1
MT120	18	13	19	29	14	11	20	12	12	12	15	16	23	25	12	13	10	13	18	11,15	15	12	1
MT121	18	13	19	28	14	11	22	13	12	11	15	18	24	24	12	13	10	13	17	11,14	16	12	1
MT122	16	13	21	29	13	10	22	12	12	9	15	17	22	23	11	11	10	12	16	13,16	16	12	1
MT123	17	13	19	26	14	10	21	13	12	9	14	18	21	24	11	13	10	13	17	14,16	16	11	1
MT124	18	14	20	30	14	11	22	13	13	12	14	18	23	24	12	14	11	13	18	11,15	16	12	1
MT125	17	13	19	29	14	11	22	13	12	12	15	17	23	23	13	13	10	13	16	11,14	16	12	1

MT126	17	13	19	27	14	11	22	13	12	12	15	17	23	23	11	13	10	13	18	11,15	15	12	1
MT127	19	14	21	30	13	10	24	13	11	10	14	19	21	23	13	11	15	14	16	17,17	15	11	1
MT128	18	13	19	29	14	11	23	12	13	12	15	17	23	24	13	13	10	13	17	11,14	16	12	1
MT129	18	13	20	30	13	10	22	12	13	10	14	19	21	24	12	11	12	12	16	16,16	17	12	1
MT130	14	13	21	30	16	10	21	12	10	10	16	18	21	22	12	10	12	13	18	15,15	15	11	1
MT131	19	13	19	29	14	11	23	12	12	12	15	17	23	24	12	13	10	13	16	11,15	16	12	1
continua																							
H	DYS576	DYS389I	DYS448	DYS389II	DYS19	DYS391	DYS481	DYS549	DYS533	DYS438	DYS437	DYS570	DYS635	DYS390	DYS439	DYS392	DYS643	DYS393	DYS458	DYS385	DYS456	Y-GATA-H4	N
MT132	19	13	19	29	15	11	22	13	12	12	15	18	23	24	12	13	10	13	16	11,14	16	12	1
MT133	18	13	20	31	13	9	25	14	11	10	14	15	22	24	13	11	13	13	16	15,17	15	14	1
MT134	20	13	19	28	14	11	24	14	12	12	15	17	23	24	12	13	10	14	18	11,14	15	12	1
MT135	15	14	21	32	16	10	28	11	12	11	14	20	22	21	13	11	13	13	17	14,17	15	11	1
MT136	16	14	18	30	14	11	23	13	12	12	14	15	23	23	12	13	10	13	17	11,14	16	11	1
MT137	17	12	22	28	15	10	22	12	10	11	16	18	22	21	11	11	13	15	17	13,15	14	11	1
MT138	17	14	19	30	14	11	22	13	12	12	15	16	23	24	11	13	10	12	18	11,14	15	12	1
MT139	16	14	21	31	16	10	25	11	11	11	14	15	21	21	12	11	13	14	16	17,17	16	11	1
MT140	17	13	20	30	14	11	22	12	12	12	15	17	23	24	12	13	11	13	19	11,14	16	12	1
MT141	18	14	21	31	16	10	24	11	11	11	14	16	20	22	11	11	13	14	15	17,19	16	11	1
MT142	18	13	19	29	14	11	22	12	11	12	15	17	23	25	11	12	10	13	18	11,14	16	12	1
MT143	15	13	19	30	17	10	24	12	12	9	14	17	21	23	11	14	11	14	17	15,17	16	11	1
MT144	18	14	20	30	13	9	27	11	11	10	14	22	22	24	10	11	12	13	18	13,14	16	12	1
MT145	16	13	21	31	15	11	28	11	11	11	14	22	21	21	11	11	15	13	17	16,17	15	12	1
MT146	17	13	19	29	14	10	22	13	13	12	14	18	23	24	12	13	11	14	17	12,14	16	11	1

MT147	16	13	18	29	15	10	21	13	12	9	16	18	21	24	11	11	9	12	16	14,17	13	11	1
MT148	17	13	19	29	14	11	22	13	12	12	15	17	23	23	13	13	10	13	15	11,14	16	12	1
MT149	18	13	19	29	15	10	22	13	13	12	15	17	23	23	13	13	10	13	17	12,14	17	12	1
MT150	19	13	19	29	14	11	22	12	12	12	15	17	23	24	13	13	10	13	17	11,14	18	12	1
MT151	16	12	18	28	15	11	23	12	11	10	15	17	21	25	12	11	13	13	17	13,18	14	10	1
MT152	18	12	20	29	14	10	23	12	11	9	15	16	20	23	12	11	10	12	15	13,16	15	11	1
MT153	18	14	20	30	13	9	28	11	10	10	14	21	22	24	10	11	12	14	18	13,13	15	12	1
continua																							
H	DYS576	DYS389I	DYS448	DYS389II	DYS19	DYS391	DYS481	DYS549	DYS533	DYS438	DYS437	DYS570	DYS635	DYS390	DYS439	DYS392	DYS643	DYS393	DYS458	DYS385	DYS456	Y-GATA-H4	N
MT154	18	14	19	30	14	10	22	12	12	13	15	19	23	25	11	13	10	12	15	11,14	16	13	1
MT155	16	12	20	28	14	10	28	12	11	10	16	18	23	23	11	11	12	13	16	13,14	14	11	1
MT156	17	13	19	28	15	11	22	14	12	12	15	17	23	24	12	13	10	13	17	11,14	15	12	1
MT157	18	13	19	29	14	11	22	13	12	12	15	16	24	23	12	13	10	13	16	11,14	15	12	1
MT158	20	13	20	29	14	10	24	12	11	11	14	17	23	24	12	14	10	13	17	13,14	15	11	1
MT159	19	13	19	29	14	11	22	12	12	11	15	17	24	24	12	13	10	13	18	11,14	15	12	1
MT160	20	13	20	29	14	10	26	13	11	10	14	17	20	25	11	11	9	12	16.2	14,19	15	11	1
MT161	17	12	22	29	15	10	24	13	10	10	15	18	22	23	13	12	11	14	16	13,14	19	12	1
MT162	19	14	20	30	14	10	22	13	12	12	16	17	23	24	12	13	10	13	16	11,14	15	11	1
MT163	18	14	20	30	13	9	26	11	11	10	14	24	21	25	10	11	12	13	17	13,14	15	11	1
MT164	15	14	21	31	16	10	27	11	11	11	14	14	21	22	14	11	12	13	17	16,17	15	10	1
MT165	19	14	19	30	14	9	28	11	11	10	14	22	22	24	10	11	12	13	18	12,15	15	12	1
MT166	19	13	19	29	14	11	22	13	12	12	15	17	23	23	12	13	10	13	17	11,15	16	11	1
MT167	18	12	19	26	15	11	22	14	11	12	15	17	24	24	10	13	10	13	16	12,14	15	12	1

MT168	18	13	19	29	14	11	22	13	12	12	15	18	23	24	13	11	10	13	17	11,13	16	12	1
MT169	17	14	19	30	14	10	23	11	12	12	14	17	23	25	12	13	10	13	16	11,14	15	11	1
MT170	17	12	21	29	15	10	22	13	10	10	16	18	21	22	12	11	11	14	16	12,16	18	12	1
MT171	19	13	18	29	14	10	22	13	12	12	15	18	23	24	12	13	10	13	17	12,14	15	12	1
MT172	17	14	21	31	15	10	22	11	11	9	14	17	24	23	11	11	10	13	17	14,15	17	11	1
MT173	19	14	20	31	14	10	26	12	11	10	14	17	20	23	11	11	9	12	18.2	13,15	15	11	1
MT174	16	12	19	28	14	11	22	13	12	12	15	17	23	24	13	13	10	13	17	11,14	17	12	1
MT175	18	14	19	30	14	11	22	13	11	12	15	17	23	24	12	14	10	13	19	10,14	17	11	1

continua

H	DYS576	DYS389I	DYS448	DYS389II	DYS19	DYS391	DYS481	DYS549	DYS533	DYS438	DYS437	DYS570	DYS635	DYS390	DYS439	DYS392	DYS643	DYS393	DYS458	DYS385	DYS456	Y-GATA-H4	N
MT176	18	13	21	31	15	10	21	12	11	10	16	18	21	22	13	11	11	14	19	13,14	13	11	1
MT177	21	13	19	29	14	10	22	12	12	12	15	17	23	23	11	12	10	14	18	10.2,14	16	12	1
MT178	20	13	20	29	14	11	22	14	12	12	15	17	24	24	13	13	10	13	17	11,14	15	11	1
MT179	20	13	19	29	14	11	22	12	13	12	15	18	23	24	12	13	10	13	17	12,15	15	12	1
MT180	18	13	19	29	14	10	22	12	12	13	15	18	23	25	11	13	10	12	16	11,14	16	13	1
MT181	18	13	18	28	15	11	23	13	13	12	15	16	23	24	12	13	10	13	17	11,15	16	11	1
MT182	18	13	20	30	15	10	25	11	10	11	15	17	19	24	11	12	12	15	16	15,15	14	11	1
MT183	17	14	19	30	14	10	21	12	12	12	15	18	23	24	13	14	10	13	17	11,15	17	12	1
MT184	15	12	21	29	15	10	22	12	10	11	16	16	20	22	11	11	11	13	16	14,14	15	12	1
MT185	18	14	19	29	13	10	21	12	11	12	14	16	22	23	11	14	9	13	18	14,18	16	12	1
MT186	20	12	18	28	14	12	21	14	12	12	14	17	23	23	13	14	10	13	18	11,14	16	11	1
MT187	19	13	19	29	14	11	22	12	12	12	15	16	23	24	10	13	10	13	19	11,14	15	13	1
MT188	17	14	21	32	14	10	22	11	11	9	14	16	23	23	11	11	10	13	18	14,15	17	11	1

MT189	21	13	20	29	14	11	22	14	12	12	15	17	24	24	13	13	10	13	17	11,14	15	11	1
MT190	19	13	19	29	14	10	22	13	13	13	15	16	23	25	14	13	10	13	17	11,14	15	13	1
MT191	18	13	21	30	14	11	22	13	12	12	15	18	23	24	12	13	11	13	18	12,14	16	13	1
MT192	17	13	20	29	16	10	26	13	12	10	15	18	22	23	11	12	12	14	14	15,15	16	11	1
MT193	19	13	20	29	16	11	25	12	14	10	15	19	20	24	11	12	13	14	15	15,15	17	11	1
MT194	19	13	19	29	14	11	22	14	12	12	15	17	24	23	12	13	10	13	16	11,14	15	13	1
MT195	16	12	18	30	13	11	23	12	12	10	14	21	23	25	11	11	12	12	17	13,18	18	12	1
MT196	16	12	18	28	15	11	23	12	11	10	15	17	21	25	12	11	13	12	17	13,18	14	10	1
MT197	18	12	12	28	14	10	24	13	12	12	15	17	23	24	11	13	10	13	15	11,11	15	12	1
