

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

A IMPORTÂNCIA DO DNA COMO MÉTODO DE
IDENTIFICAÇÃO FORENSE NA ODONTOLOGIA LEGAL

FÁTIMA DIXO DIAS

MANAUS

2009

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

FÁTIMA DIXO DIAS

A IMPORTÂNCIA DO DNA COMO MÉTODO DE
IDENTIFICAÇÃO FORENSE NA ODONTOLOGIA LEGAL

Monografia apresentada à disciplina de
TCC II da Faculdade de Odontologia da
Universidade Federal do Amazonas,
como parte do requisito para obtenção do
Título de Cirurgiã-dentista.

Orientadora: Prof^ª. Msc. Maria das Graças Marrocos de Oliveira

MANAUS

2009

FÁTIMA DIXO DIAS

A IMPORTÂNCIA DO DNA COMO MÉTODO DE
IDENTIFICAÇÃO FORENSE NA ODONTOLOGIA LEGAL

Monografia apresentada à disciplina de
TCC II da Faculdade de Odontologia da
Universidade Federal do Amazonas,
como parte do requisito para obtenção do
Título de Cirurgiã-dentista.

Aprovado em 06 de novembro de 2009.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Maria das Graças Marrocos de Oliveira, Presidente
Universidade Federal do Amazonas – UFAM

Prof^a Juliana Vianna Pereira, Membro
Universidade Federal do Amazonas – UFAM

Prof. Ary de Oliveira Alves Filho, Membro
Universidade Federal do Amazonas – UFAM

DEDICATÓRIA



Dedico este trabalho ao meu Maravilhoso Deus e à minha amada mãe, fontes de amor incondicional, nos quais sem o apoio, o incentivo, o carinho e o investimento, nada disso, seria possível.

AGRADECIMENTOS



À **Deus**, meu Mestre e Pai, por estar presente em todos os momentos da minha caminhada.

À **minha família**, fonte de amor e suporte pra tudo de bom que pude realizar em minha vida até aqui. Sem vocês, nada disso teria sentido. Amo vocês!

À **minha orientadora** Prof^a Dr^a Maria das Graças Marrocos pelo apoio, atenção e dedicação na elaboração deste trabalho.

À **Faculdade** de Odontologia pela oportunidade de realizar este curso.

Aos Professores do curso pela ética no ensino e pelo grande desempenho na transmissão dos conhecimentos profissionais.

Ao Professor Emilio pela amizade, carinho, ensinamentos, incentivos... Por nos ensinar um modo diferente de ver as dificuldades e os fracassos ao longo deste curso.

Aos Professores Juliana Vianna e Ary Alves por sua participação especial e colaboração na realização deste sonho.

Aos colegas e amigos da graduação por participar desta caminhada ao meu lado, foi algo extremamente gratificante! Agradeço pelo carinho e pela amizade de todos vocês, cada um do seu jeito e com suas peculiaridades.

A todos os funcionários desta Instituição pelo carinho e atenção dispensados.

Aos meus irmãos em Cristo pelas orações prestadas em meu favor.

À **minha grande amiga Marlene** pelo carinho e apoio.

À **todos** aqueles que contribuíram direta ou indiretamente na realização deste sonho, que torceram positivamente por mais esta etapa na minha vida.

A minha verdadeira **GRATIDÃO!**

*Um homem sem propósitos é como um barco sem
leme – um vira-lata, um nada, um ninguém.*

Thomas Carlyle

Lista de Abreviaturas e Siglas

DNA	Ácido Desoxirribonucléico
PCR	Polymerase Chain Reaction
HLA	Histocompatibility Leucocyte Antigen
STR	Short Tandem Repeats
VNTR	Variable Number of Tandem Repeats
TAM	Táxi Aéreo Marília – Linhas aéreas

RESUMO



A análise de DNA pode ser considerada um dos principais progressos técnicos para identificação humana desde a descoberta das impressões digitais. O objetivo deste trabalho foi pesquisar a importância do DNA no processo de identificação forense na Odontologia Legal visto que a biologia molecular vem desempenhando um papel de grande importância nos processos de identificação em casos mais complexos onde os vestígios biológicos são praticamente inexistentes. A tipagem molecular apresenta pelo menos duas grandes vantagens: o DNA possui uma alta estabilidade química mesmo após um longo período de tempo e está presente em todas as células nucleadas do organismo humano, o que facilita a obtenção do mesmo. Além disso, o DNA é resistente a muitas condições nos quais a maioria dos outros compostos biológicos são destruídos. No processo de identificação humana pelo DNA apenas poucas células nucleadas, que contenham pequenas quantidades de DNA, são necessárias para a identificação de um indivíduo fornecendo resultados úteis em situações em que os métodos mais antigos fracassam. As amostras biológicas de DNA podem ser encontradas em amostras de sangue, ossos, sêmen, cabelo, dentes, unhas, saliva, urina entre outros fluidos biológicos. Em alguns casos, a dificuldade de identificação das vítimas pode ocorrer em função do estado em que os corpos se encontram, como em estado avançado de decomposição, corpos carbonizados ou putrefatos, ou até mesmo quando a identificação não pode ser realizada por meio de métodos odontológicos tradicionais como, por exemplo, a identificação através das arcadas dentárias; somente os elementos dentários podem ser utilizados na identificação, pois resistem melhor do que qualquer tecido humano à degradação *post mortem*, variações de pressão e temperatura possibilitando a preservação da identidade genética individual. Diante dos dados revisados, constata-se que o dente e os seus tecidos dentais podem ser usados como fonte de DNA, pois a dentina e o cimento contêm DNA suficiente para permitir a amplificação do DNA mitocondrial podendo ser utilizado na identificação humana.

Palavras-chave: DNA forense, Identificação humana, Odontologia Legal.

ABSTRACT



DNA analysis can be considered one of the principal main technical progress for human identification since the discovery of fingerprints. The objective of this work was searching the importance of DNA identification process in forensic dentistry since the molecular biology plays an important role in the identification process mainly in more complex cases, where the biological evidence virtually nonexistent. The molecular typing presents at least two major advantages: DNA has a high chemical stability even after a long period of time and it is present in all human body nuclear cells, which facilitates its obtaining. In addition, DNA is resistant to many conditions in which most other organic compounds are destroyed. In the process of identifying human DNA nuclear, only a few cells containing small quantities of DNA, are required to identify an individual providing useful results in situations where the older methods fail. DNA biological samples can be found in blood samples, bones, teeth, hair, nails, saliva, urine among other fluids. In some cases, the difficulty of identifying the victims may occur depending on the state in which the bodies are, as in advanced state of decomposition, charred and putrefying flesh or even when other methods of identification are not possible through traditional methods such as, for example, dental records. Only the dental elements can be used for identification because they resist better than any human tissue mortem degradation, changes in temperature and pressure allowing individual genetic identity preservation. Given the data reviewed, it appears that the tooth and its dental tissues can be used as a source of DNA because the dentin and cementum contain enough DNA to allow amplification of mitochondrial DNA can be used in human identification.

Keywords: Dna forensic, Human identification, Dentistry Legal.

SUMÁRIO



SUMARIO

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DE LITERATURA	25
3. OBJETIVOS	23
4. DISCUSSÃO	44
5. CONCLUSÃO	50
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

INTRODUÇÃO



1. INTRODUÇÃO

O processo de recombinação gênica proporciona um alto grau de variabilidade entre os organismos vivos. Cada indivíduo da espécie humana possui um perfil genético único, com exceção de gêmeos monozigóticos que compartilham do mesmo genótipo. Inúmeras características hereditárias humanas permitem aferir, até certo grau, esta individualidade genética, fato este de importância forense (BONACCORSO, 2004).

A ciência do DNA nasceu em 25 de abril de 1953, quando James Watson e Francis Crick anunciaram, na revista britânica *Nature*, a determinação da estrutura de dupla hélice da molécula de DNA. A era do DNA atingiu a maturidade em 2001, com a publicação de uma versão preliminar do genoma humano, o conjunto integral dos códigos de DNA que estabelece os parâmetros da vida humana. Os aspectos técnicos da vida envolvem as interações químicas complexas que têm lugar entre as milhares de diferentes moléculas encontradas dentro de toda e qualquer célula viva. Watson e Crick conseguiram, pela manipulação de papel e modelos de metal, chegar a estrutura do DNA, perfeita na sua simplicidade. Eles propuseram que a molécula de DNA é uma α -hélice e assemelha-se a uma escada suavemente torcida. Os corrimãos da escada, que seguem em direções opostas (antiparalelas), contêm unidades alternadas do açúcar dextrorbose e fosfato. Os nucleotídeos achatados empilham-se fortemente no topo um do outro, formando os degraus da escada helicoidal. Cada degrau é composto de um par de nucleotídeos (um par de bases) mantido unido por pontes de hidrogênio relativamente fracas. A resolução da estrutura do DNA foi, com certeza, a descoberta mais importante do século XX (MICKLOS, FREYER, 2005).

O perfil de DNA ou perfil genético tem sido considerado um método importante na identificação individual, pois a informação contida no DNA é determinada pela seqüência de bases nitrogenadas (representadas por letras do alfabeto) dispostas nos cromossomos. Na

espécie humana, existem três bilhões dessas bases escritas nos cromossomos de cada célula do corpo humano, sempre na mesma ordem em todas as células do indivíduo. É a ordem como essas bases estão escritas nos cromossomos que faz com que cada indivíduo seja diferente uns dos outros. Quanto mais diferentes são os indivíduos, mais distinta é a ordem das bases no genoma. Indivíduos aparentados, irmãos, pais e filhos apresentam proporcionalmente maior similaridade na seqüência genética. Somente gêmeos idênticos, que são clones humanos naturais, apresentam a mesma evidência biológica (DOLINSKY, PEREIRA, 2007).

Com o conhecimento atual, a tipagem molecular apresenta pelo menos duas grandes vantagens: o DNA possui uma alta estabilidade química mesmo após um longo período de tempo e está presente em todas as células nucleadas do organismo humano, o que facilita a obtenção do mesmo (KOCH, ANDRADE, 2008). O DNA é resistente a muitas condições que destroem a maioria dos outros compostos biológicos, como as proteínas. Além disso, somente pequenas quantidades de DNA são necessárias para a identificação de um indivíduo (CONSELHO NACIONAL DE PESQUISA, 2001; KOCH, ANDRADE, 2008), isso é especialmente verdadeiro se forem empregados métodos que utilizam a reação em cadeia da polimerase – PCR (CONSELHO NACIONAL DE PESQUISA, 2001). Com uma incrível sensibilidade e alto poder de discriminação, as análises diretas do DNA freqüentemente dão resultados úteis em situações em que os métodos mais antigos, como os que empregavam grupos sanguíneos e enzimas, fracassavam. Além disso, o DNA pode ser encontrado em pequenas amostras de sangue, ossos, sêmen, cabelo, dentes, unhas, saliva, urina entre outros fluidos (KOCH, ANDRADE, 2008).

O exame forense de amostras biológicas teve seu início por volta do século XX com a aplicação dos grupos sanguíneos ABO relacionadas a crimes ou à identificação de pessoas. Em 1954, marcando uma segunda fase na evolução desta ciência, foi demonstrada a

ocorrência de um sistema de histocompatibilidade mediado por antígenos na superfície dos leucócitos, conhecido por complexo HLA (*histocompatibility leucocyte antigen*), determinado por genes alélicos muito próximos localizados no braço curto do cromossomo 6 (BONACCORSO, 2004). A tipagem molecular de material genético foi utilizada, oficialmente, pela primeira vez, em 1985, na Inglaterra, quando o geneticista Alec Jeffreys *et al.* conseguiu identificar o verdadeiro estuprador e assassino de duas vítimas através do exame de DNA e veio a publicar um artigo na Revista Nature sobre certas regiões de minissatélites do genoma humano que produziam uma espécie de “impressões digitais” de DNA. A partir deste caso, a técnica de tipagem molecular de DNA tem sido utilizada no esclarecimento de diversos crimes e na identificação humana (BONACCORSO, 2004; REIS JÚNIOR *et al.*, 2009).

Iwamura *et al.* (2004), realizaram uma pesquisa bibliográfica sobre identificação humana através da análise de DNA extraído a partir de ossos humanos e destacaram alguns casos nos quais foram possíveis a identificação somente pela análise de DNA, como por exemplo, a identidade da família Romanov (Czar Nicolau II, czarina Alexandra e 3 crianças), mortos em 1918 durante a Revolução Russa que foi confirmada utilizando DNA extraído a partir de fragmentos ósseos; em 1994, foi possível confirmar a identidade de restos humanos encontrados em uma área arborizada cerca de 1 ano após terem sido notificados como desaparecidos; na guerra entre Bósnia e Herzegovina, das 61 vítimas de guerra, 3 vítimas foram identificadas utilizando DNA obtido a partir de ossos, após 1 ano e meio depois da morte. Portanto, em condições favoráveis é possível a detecção e análise de DNA em ossos humanos após alguns anos depois da morte permitindo uma identificação positiva na maioria dos casos.

A Odontologia Legal emergiu da casualidade e tornou-se evidente após alguns acidentes, que apontaram para a necessidade de técnicas de identificação das vítimas. Uma

das alternativas utilizadas foi o reconhecimento dos corpos através dos dentes. O primeiro caso relatado pela literatura ocorreu no ano de 1897, em Paris, após um incêndio no qual houve quase 200 mortos, dos quais 40 restaram sem identificação. Cirurgiões-dentistas foram chamados para identificar, através dos restos carbonizados, seus supostos pacientes, o que tornou possível a identificação dos mesmos (REIS JÚNIOR *et al*, 2009).

A dificuldade de identificar as vítimas pode ocorrer em função do estado em que os corpos são geralmente encontrados e, nesses casos, os dentes são os únicos elementos passíveis de serem utilizados na identificação, pois resistem melhor do que qualquer tecido humano à degradação *post mortem*, variações de pressão e temperatura possibilitando a preservação da identidade genética individual. Além disso, existem casos em que a identificação humana não pode ser realizada por meio de métodos odontológicos tradicionais como, por exemplo, a identificação através das arcadas dentárias, portanto, as amostras de DNA por meio dos dentes são a estratégia ideal. Mesmo se o dente estiver fragmentado é possível fazer a coleta e análise do DNA (SANTIAGO, 2006; SILVEIRA, 2006).

A polpa dental é um dos poucos materiais orgânicos disponíveis para análise do DNA, em alguns casos especiais, como acidentes aéreos e corpos carbonizados ou putrefatos. Isto é possível devido a capacidade do dente em agir como uma cápsula protetora das células nucleadas da polpa dentária, preservando o material genético até 600°C, de onde pode-se extrair o DNA para análise (NEDEL *et al*, 2007; REIS JÚNIOR *et al*, 2009). Brkić *et al*. (2002), em seu relato de caso sobre identificação humana através dos dentes, também chegaram a esta conclusão que os dentes podem ficar bem preservados, apesar do tempo de exposição ao fogo, pois a anatomia da cavidade bucal (lábios, bochechas e língua) forma uma zona de isolamento absorvendo o impacto direto do fogo sobre os dentes. Nesta mesma linha de pesquisa Santos (2009) avaliou amostras biológicas obtidas de dentes humanos para obtenção de perfis genéticos de DNA e comparou com amostras de sangue. Os resultados

obtidos indicaram que os dentes humanos constituem fontes viáveis de acordo com a análise estatística realizada, além de terem sido mapeados 78% dos alelos possíveis.

Estudo realizado por Baraldi (2008) avaliou a utilização da técnica de identificação genética pelos serviços oficiais de identificação brasileiros tendo como objetivo conhecer a realidade brasileira diante da tecnologia do DNA. O resultado obtido demonstrou que o sangue é a mostra biológica de eleição, porém em casos de ossadas ou quando o cadáver encontra-se carbonizado e/ou avançado estado de decomposição, os dentes são utilizados como fonte de DNA.

Outra fonte de identificação utilizada são as marcas de mordida humana como uma evidência freqüentemente encontrada em crimes de natureza sexual e o DNA salivar são fundamentais para identificar o agressor. Ele se mantém estável e pode ser recuperado sobre a vítima viva ou no cadáver dependendo do tempo em que ocorreu a lesão (SILVEIRA, 2006). Neste sentido, Carvalho (2009) realizou um estudo experimental para avaliar a qualidade do DNA obtido de saliva humana e sua aplicabilidade na identificação forense em Odontologia Legal. Os resultados mostraram que a quantidade e a qualidade do DNA advindo de saliva do swab, bem como as técnicas empregadas estão adequadas à análise forense do DNA, concluindo que a saliva humana é bastante útil como fonte de DNA.

O crescente avanço da biologia molecular no processo de identificação humana vem desempenhado um papel fundamental em casos mais complexos onde os vestígios biológicos são praticamente inexistentes e, nesses casos, a utilização dos dentes como fonte viável para obtenção de amostras biológicas demonstram a importância da Odontologia Legal no processo de identificação humana.

OBJETIVOS



2. OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivo realizar uma pesquisa bibliográfica sobre a importância do DNA como método de identificação forense na Odontologia Legal.

**REVISÃO DE
LITERATURA**



3. REVISÃO DE LITERATURA

Bonaccorso (2000) realizou estudo com o objetivo de analisar procedimentos técnicos para análise forense de DNA recomendados por instituições controladoras de qualidade e os procedimentos adotados pelo Laboratório de DNA do Instituto de Criminalística de São Paulo. O objetivo da análise de DNA é diferenciar o indivíduo de outro, através de um grande número de característica, dando-lhe uma identidade absoluta como pessoa. O desenvolvimento da biologia molecular e a estabilidade química e térmica do ácido desoxirribonucléico (DNA), mesmo após longo período de tempo, permitem a obtenção de padrões genéticos indivíduo-específico que podem ser comparados com aqueles das vítimas e/ou suspeitos de casos de infração penal. Podemos, ainda, ressaltar a gama de material biológico que pode ser utilizado na determinação do perfil genético: sangue, sêmen, secreções, saliva, urina, tecidos moles, pêlos e anexos dérmicos, dentes, ossos e outros, recolhidos ou correlacionados a ocorrências criminais de interesse forense. Vale mencionar também que evidências físicas sofrem normalmente insultos ambientais que modificam a composição e a estrutura normal de seu DNA. Essas evidências estão ainda sujeitas às mais diversas formas de contaminação por material genético exógeno, derivado de outros seres humanos que não necessariamente estão ligados à cadeia de eventos do ato delituoso em questão. Os laboratórios de análise forense de DNA estabelecem certos procedimentos e indicações para assegurar que os resultados apresentados aos tribunais sejam válidos e exatos em todas as instâncias. Essas entidades formulam recomendações não só para a correta execução de todos os procedimentos necessários para a análise de DNA, como também para a confecção de laudos e relatórios. Estimulam também a padronização de metodologias de análise e dos *loci* utilizados. Praticam ainda teste de validação para empresas fabricantes de reagentes utilizados na análise forense de DNA. A qualidade, exatidão e confiabilidade dos

resultados obtidos na análise de DNA em vestígios coletados ou relacionados a ocorrências criminais dependem de procedimentos próprios que devem ser rigorosamente adotados nas etapas do isolamento do local do delito e do levantamento das amostras biológicas a serem encaminhadas para a unidade orgânica responsável pela genotipagem forense no âmbito da respectiva Instituição. O autor concluiu que dos 1.200 casos recebidos pelo Instituto de Criminalística em abril de 2004, 60% dos casos concluídos obtiveram êxito na análise de DNA e, ainda, ressaltou a importância do DNA como uma prova extremamente poderosa, se realizada segundo as recomendações técnicas discutidas.

Na aplicação da PCR para identificação de uma vítima de incêndio, Vieira *et al.* (2000) descreveram um relato de caso sobre um corpo que não possuía impressões digitais ou outras formas para identificação, porém havia uma suspeita sobre sua identidade. Para confirmar esta hipótese, o DNA dos supostos pais biológicos foi comparado com o DNA extraído do corpo queimado. O presente estudo revelou que o material biológico coletado do cadáver carbonizado e analisado pela técnica da PCR, mesmo com o DNA altamente degradado, forneceu uma identificação positiva da vítima. Os autores concluíram que a análise de DNA tem sido utilizada com sucesso em um grande número de acidentes e que os recentes avanços na biologia molecular têm significativamente reforçado a possibilidade de individualização.

Em caso de identificação humana através dos dentes, Brkić *et al.* (2002) relataram sobre um acidente de carro envolvendo dois corpos que ficaram carbonizados. Ambas as dentições foram muito bem preservadas permitindo a identificação pelo método de comparação dos dentes de um dos corpos, porém o outro corpo não possuía registro dental por se tratar de um estrangeiro. No entanto, a identidade foi confirmada pela análise do DNA extraído da polpa dentária, demonstrando que os dentes podem ficar bem preservados, apesar do tempo de exposição ao fogo.

Malaver e Yunis (2003) realizaram um estudo experimental para avaliar diferentes tecidos dentais como fonte de DNA para identificação humana em casos forenses. Foram utilizados 20 dentes, obtidos a partir de corpos enterrados por cinco anos, no qual foram coletadas 45 amostras: 5 de polpa, 20 de dentina e 20 de cemento. O tecido pulpar foi encontrado em apenas cinco das 20 estruturas dentárias analisadas. Diante dos resultados obtidos, os autores comprovaram que o dente e os seus tecidos dentais podem ser usados como fonte de DNA apesar de terem sido submetidos à putrefação, e ainda demonstrou que a dentina e o cemento contêm DNA suficiente para permitir a amplificação do DNA mitocondrial podendo ser utilizado na identificação humana.

Gaytmenn e Sweet (2003) avaliaram as regiões do dente para identificação da presença de DNA com o objetivo de justificar a sua utilização a partir de um fragmento de dente encontrado. Foram coletados 250 dentes humanos (molares permanentes) em consultórios de cirurgiões-dentistas. Estudos realizados anteriormente analisaram o efeito da idade sobre a morfologia do dente, portanto, os autores classificaram as amostras por grupos de conveniência para este estudo: Grupo A (menos de 26 anos), Grupo B (26 a 40 anos), Grupo C (41 a 55 anos) e grupo D (com mais de 55 anos). Cento e noventa e quatro dentes foram descontaminados, divididos em quatro regiões (ponta da coroa, corpo da coroa, corpo da raiz e ápice da raiz,) e submetidos à extração de DNA. Os resultados obtidos foram: o corpo da raiz continha a maior concentração de DNA para todas as idades; o corpo da coroa resultou em maior concentração de DNA do que a ponta da coroa para todos os grupos etários; o corpo da coroa continha uma maior concentração de DNA do que a ponta da raiz do Grupo B; não houve diferença estatisticamente significativa entre o corpo da coroa e ponta da raiz para as outras faixas etárias. Finalmente, a ponta da raiz continha uma maior concentração de DNA do que a ponta da coroa para todos os grupos etários. A análise dos dados demonstrou que 49 das 194 amostras da ponta da coroa não produziram DNA

quantificável. Os resultados confirmaram que 11 das 12 amostras não continham quantidades suficientes de DNA para análise. Portanto, os resultados deste estudo podem fornecer, ao analista forense de DNA, informações necessárias para escolher o fragmento de dente ideal para análise.

Silva e Pereira (2004) apresentaram um relato de caso demonstrando a confiabilidade do exame odontolegal na identificação humana. Em março de 2002 foi registrado o desaparecimento de um adolescente em um município da região de Campinas (SP). O corpo foi encontrado em decomposição em uma lagoa e a destruição das polpas dentais ocasionada pela decomposição cadavérica tornou inapropriada a identificação. As investigações subsequentes revelaram a existência de fichas odontológicas confeccionadas durante o tratamento dentário do indivíduo desaparecido, realizado num posto de saúde. Pela análise comparativa dos registros presentes nas fichas odontológicas com as fotografias feitas dos arcos dentários do cadáver foi verificada a coincidência absoluta dos pontos de referência e, pela comparação do exame de DNA do cadáver com amostras sanguíneas coletadas dos supostos pais biológicos, constataram que o cadáver encontrado pertencia ao indivíduo desaparecido. Os autores concluíram que a identificação humana pelo exame dos arcos dentários é um método confiável, acessível e de baixo custo e, que a análise de DNA proporciona resultados precisos com extrema aceitação jurídica, porém com custo muito elevado para se tornar um exame rotineiro.

Iwamura *et al.* (2004) realizaram uma pesquisa bibliográfica sobre identificação humana através da análise de DNA extraído de ossos humanos. A introdução de técnicas de biologia molecular, especialmente análise de DNA, para identificação humana é um recente avanço na medicina legal e tem contribuído para identificação de cadáveres humanos em várias situações tais como, em grandes catástrofes, exumação de corpos, guerras, pessoas desaparecidas, assim como cadáveres e restos humanos não identificados. Por exemplo, a

identidade da família Romanov (Czar Nicolau II, czarina Alexandra e 3 crianças), mortos em 1918 durante a Revolução Russa, foi confirmada utilizando DNA extraído a partir de fragmentos ósseos; em 1994, foi possível confirmar a identidade de restos humanos encontrados em uma área arborizada cerca de 1 ano após terem sido notificados como desaparecidos; na guerra entre Bósnia e Herzegovina, das 61 vítimas de guerra, 3 vítimas foram identificadas utilizando DNA obtido a partir de ossos, após 1 ano e meio depois da morte; em 1997, a análise de 32 esqueletos entre 3 a 43 anos após a morte, permitiu a amplificação de DNA mitocondrial em 11 de um total de 32 esqueletos (Cattaneo *apud* Iwamura *et al.* 2004, p. 384); em 1996, um fêmur humano removido em uma autópsia foi submetido à imersão em água, enterrado 50 cm do solo e exposta à superfície em um ambiente deserto, e após 2, 4, 8 e 12 semanas de tratamento foram coletadas e analisadas as amostras. O DNA extraído de ossos expostos à superfície no deserto apresentava melhores condições para identificação forense se comparado com os fragmentos imersos em água (Rankin *apud* Iwamura *et al.* 2004, p. 384). O DNA mitocondrial extraído de amostras de ossos humanos, que foram coletados a partir de escavações e armazenados por muitos anos demonstraram que quantidades significativas de informação genética podem sobreviver por longos períodos de tempo. Portanto, em condições favoráveis, é possível a detecção e análise de DNA em ossos humanos após alguns anos depois da morte permitindo uma identificação positiva na maioria dos casos.

Anzai-Kanto (2005) realizou um estudo experimental para avaliar a extração de DNA através de saliva humana depositada sobre a pele e sua aplicabilidade aos processos de identificação forense. As amostras de saliva foram coletadas de 20 voluntários e utilizadas como amostras de suspeitos, 11 do sexo masculino e 9 do sexo feminino, com idade entre 24 a 47 anos. Cinco das 20 amostras de saliva dos doadores foram aleatoriamente escolhidos para participar do depósito de saliva em pele. Para este efeito, foram utilizados 0,25 ml de cada

amostra de saliva foram depositados individualmente, em cinco áreas delimitadas do braço de um dos pesquisadores. A saliva foi recolhida a partir deste pesquisador para estabelecer a sua tipagem de DNA e ser comparada com a saliva dos doadores perfis. No presente estudo, foram utilizados 0,25 ml de saliva para simular a menor recuperação de saliva após uma mordida, visto que a literatura relata que 0,3 ml de saliva são depositadas após uma mordida. Após 10 minutos foi coletada a saliva da pele pela técnica do duplo esfregaço. O DNA das amostras de saliva e o DNA da saliva depositada sobre a pele foram extraídos e amplificados pela técnica da PCR para a tipagem do DNA. O DNA recuperado da saliva depositada na pele foi de 14 a 10 vezes menor que o DNA das amostras de saliva. O perfil do DNA foi demonstrado em 4 de 5 amostras de saliva depositadas sobre a pele. Portanto, este estudo obteve resultados positivos os quais indicaram que procedimentos padronizados utilizados para coleta e extração de DNA de saliva depositada sobre a pele podem ser utilizados como método de recuperação de DNA em casos forenses e, assim, ser incorporado em uma investigação criminal.

Manolis *et al.* (2005) avaliaram o DNA extraído de polpa dentária com o objetivo de verificar se a febre tifóide foi uma provável causa da praga em Atenas. O patógeno foi investigado em três dentes intactos coletados aleatoriamente de corpos das vítimas da praga em Kerameikos. Dois dentes intactos recolhidos em um gabinete odontológico em Atenas serviram como controles negativos contra qualquer amplificação de falso-positivo de seqüências do genoma humano de parentesco distante. Com controles positivos foram incluídos no estudo, para excluir qualquer possibilidade de contaminação do DNA por microrganismos. Pela mesma razão, as manipulações dos dentes, incluindo a extração de DNA, foram realizadas em um laboratório. Nenhum dos patógenos testados ou seus respectivos *primers* jamais foram introduzidos em qualquer um desses laboratórios, minimizando o risco de resultados falso-positivos devido à contaminação do DNA. Além

disso, os dados sobre a origem dos dentes ou a finalidade real do teste não estavam disponíveis aos funcionários dos laboratórios que participaram do estudo. A partir dos resultados encontrados, os autores concluíram que a febre tifóide seria uma provável causa da praga em Atenas. Porém, investigações subseqüentes a partir do DNA são necessárias para continuar a testar os resultados deste estudo e abordar os fatores relacionados, como a preservação de DNA obtido a partir de material antigo.

Silveira (2006) apresentou um artigo de revisão demonstrando a importância da Odontologia Legal e do DNA proveniente da cavidade bucal para identificação humana. Na cavidade bucal, os dentes, principalmente a polpa dentária, são importantes fontes de DNA, pois resistem melhor do que qualquer tecido humano à degradação *post mortem*, variações de pressão e temperatura possibilitando a preservação da identidade genética individual. Os dentes são fonte útil de DNA principalmente em acidentes em massa no qual a identificação por outras vias se torna impossível. Mesmo se o dente estiver fragmentado é possível coletar DNA e realizar a análise deste fragmento. Em crimes de natureza sexual, o DNA salivar encontrado nas marcas de mordida é fundamental para descoberta do agressor. O DNA salivar se mantém estável e pode ser recuperado sobre a vítima viva ou no cadáver dependendo do tempo em que ocorreu a lesão. Por mais de quinze anos os métodos de análise de DNA vêm sendo utilizados mundialmente para solucionar identidades em crimes violentos, atentados terroristas, desastres em massa e pessoas desaparecidas. Portanto, o DNA vem desempenhando um papel de fundamental importância na identificação humana através da Odontologia Legal.

Penido e Faro (2006) realizaram um estudo experimental sobre a genética na identificação de restos mortais em caso criminal por análise de DNA nuclear com o objetivo de identificar uma ossada (vítima de esquartejamento) e verificar o vínculo genético com

amostras de referência coletadas de familiares. Foram obtidos perfis genéticos completos de todas as amostras e uma vez estabelecidas compatibilidades entre as amostras, tomou-se os valores das freqüências alélicas, calculou-se o índice de paternidade reversa combinado na ausência do pai e o índice de paternidade combinado na ausência da mãe, de cujos valores foi possível estabelecer as probabilidades. Portanto, os testes utilizando DNA nuclear demonstraram que a amostra de dente analisada apresentava vínculo genético compatível com as amostras coletadas dos familiares.

Silva e Pereira (2007) realizaram uma pesquisa bibliográfica sobre a genética e a biologia molecular demonstrando que os dentes apresentam uma boa fonte para a obtenção de material genético devido a grande resistência dos tecidos (esmalte, dentina, cemento e polpa) contra fatores externos. Vários casos relatam a aplicabilidade dos dentes em fornecer amostras biológicas para análise de DNA, como por exemplo, a identificação de 109 vítimas de guerra na ex-Iugoslávia por meio da análise de DNA obtido de ossos e dentes. Estudos relatam que o ambiente apresenta uma forte influência na degradação do DNA. Um dente com polpa exposta a agentes externos apresenta uma degradação significativa em 18 semanas, porém dentes que foram enterrados no solo por um certo período de tempo, apresentaram uma preservação do material genético, permitindo a amplificação de DNA mitocondrial em todas as amostras. Na identificação de corpos carbonizados, a grande resistência dos tecidos mineralizados, permitem que as vítimas possam ser identificadas somente pelo DNA extraído dos ossos e dentes, por exemplo, a identificação de uma vítima de homicídio que tinha sido queimada foi possível a partir do DNA obtido da polpa dentária de terceiro molar. A identificação de um corpo carbonizado, cuja cabeça foi encontrada 4 meses após o corpo foi comprovada de acordo com o DNA extraído de tecido muscular e de dentina. A ciência forense apresenta uma das técnicas mais confiáveis por meio da análise do DNA tornando-se uma ferramenta essencial para ajudar ou resolver questões de investigação criminal e

medicina forense. Portanto, para a área de investigações forenses é essencial a aquisição de conhecimentos sobre a genética forense a fim de aumentar as chances de solucionar as investigações policiais.

Dolinsky e Pereira (2007) apresentaram um artigo de revisão sobre o DNA forense. O DNA forense é aplicado na identificação de suspeito em casos de crimes sexuais; identificação de cadáveres carbonizados, em decomposição, mutilados, etc; relação entre instrumento lesivo e vítima; identificação de cadáveres abandonados; aborto provocado; infanticídio; investigação de paternidade; estudo de vínculo genético; raptos, seqüestros e tráfico de menores e anulação de registro civil de nascimento. Um cuidado especial deve-se ter com as evidências criminais e civis, nos casos que envolvem a análise de DNA, principalmente em relação à contaminação das evidências criminais que contenham material genético. Podem ocorrer degradação e contaminação de DNA nos laboratórios e nos locais de crime. Nas células, o DNA de interesse forense encontra-se tanto no núcleo como nas mitocôndrias. Os tipos de amostras mais comuns são sangue, sêmen, cabelo, urina, pele, unha, ossos, dente, suor, etc. Nos casos em que não é possível a tipagem utilizando-se DNA nuclear, pode ser usado DNA mitocondrial. Por exemplo, fios de cabelos que não possuem mais bulbos e ossos antigos podem ser utilizados para extração de DNA mitocondrial. Qualquer tecido ou fluido biológico pode ser utilizado como fonte de DNA desde que possua células próprias ou células de outros tecidos. Por exemplo, na urina podemos encontrar células oriundas da bexiga. Nos seres humanos, o DNA que carrega o código genético ocorre em todas as células que possuem núcleo, inclusive os glóbulos brancos, os espermatozoides, as células que envolvem as raízes capilares e as células encontradas na saliva. O DNA mitocondrial é de origem extracelular e seu genoma circular é encontrado em grande quantidade no citoplasma das células. É utilizado quando a amostra em questão tem uma quantidade pequena ou não tem DNA nuclear; como, por exemplo, quando a única amostra

que se tem do possível criminoso é um pêlo ou cabelo sem bulbo. Dessa forma, a análise do DNA ostenta duas vantagens sobre os métodos convencionais: a estabilidade química mesmo após longo período de tempo e a sua ocorrência em todas as células nucleadas do organismo humano.

Silva (2007) apresentou um artigo de revisão referente à principais estudos sobre Odontologia Forense que envolve a utilização de DNA para identificação humana, e faz uma panorâmica da evolução desta tecnologia nos últimos anos, destacando a importância da biologia molecular nas ciências forenses. Até a década de 1980, a identificação de casos criminosos era baseada apenas em análises sorológicas de proteínas, grupos sanguíneos e de alguns marcadores genéticos. A análise forense de amostras biológicas foi iniciada no início do século XX pela aplicação do sistema de grupo sanguíneo ABO em evidências relacionadas a crimes de identificação humana. As provas de identificação individual pela utilização de testes de grupo sanguíneo ganharam valor jurídico nos tribunais alemães, em 1920, sendo legalmente aceito no Reino Unido apenas em 1935. No Brasil, esses exames tiveram valor jurídico com o primeiro inquérito de paternidade em 1948. A tipagem molecular do material genético foi oficialmente empregada pela primeira vez na Inglaterra para a resolução de um problema de imigração. A introdução da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) tornou possível a amplificação de pequenas amostras de DNA. Testes de DNA foram aceitos pela legislação brasileira somente após a década de 1990 e são ainda muito questionadas por alguns indivíduos. Em São Paulo, existe um projeto intitulado "Caminho de Volta", que utiliza tecnologia da biologia molecular na busca de crianças desaparecidas. As impressões digitais têm sido historicamente utilizadas para identificação. No entanto, em algumas situações, como incêndios e esqueletização, são facilmente destruídos. Atualmente, através da biologia molecular é possível realizar a identificação humana utilizando uma pequena quantidade de material biológico o que é relativamente freqüente nas análises forenses. Este

fato pode ser demonstrado no tsunami ocorrido na Ásia do Sul em 2004, no qual várias técnicas de identificação humana foram aplicadas para a identificação de milhares de vítimas, como patologia forense, medicina dentária forense e DNA. Porém, 99% dos corpos foram identificados utilizando registros dentários ou impressões digitais e apenas 1% por meio do DNA. Os principais fatores exógenos que podem limitar a recuperação de informações a partir de restos humanos e restringir os processos de identificação humana são os elementos presentes ou associados com o fogo, como chamas, calor e explosivos. Neste sentido, os dentes têm um papel importante na identificação devido a sua capacidade de suportar as alterações ambientais representando uma excelente fonte de DNA. Além disso, o DNA da polpa dentária não é afetado por condições ambientais tais como pH, temperatura e umidade permitindo obter DNA de boa qualidade para identificação humana. Um caso registrado de identificação de restos humanos de uma vítima de homicídio o qual teve o corpo incinerado e quase completamente carbonizado, reduzido cerca de 25% do seu tamanho original, sendo impedindo a análise do DNA pelos métodos tradicionais, foi solucionado através da obtenção de um terceiro molar no qual foi possível a extração do DNA a partir da polpa dentária e realizado a identificação do mesmo. Portanto, esse artigo demonstra que os dentes representam uma excelente fonte de DNA, principalmente em casos onde o material para identificação é escasso como, por exemplo, corpos carbonizados ou em estágio avançado de decomposição.

Nedel *et al.* (2007) realizaram um levantamento experimental sobre a Odontologia Legal na cidade de Pelotas (RS). O levantamento dos dados foi realizado no Instituto Medico Legal (IML) da cidade de Pelotas (RS) no qual realizaram a análise quantitativa dos registros de entradas de corpos não identificados, no período de 2004 a 2006 (período em que o IML possuía um odontologista contratado) que passaram por um odontologista para a realização de identificação dos corpos por arcada dentária. Foi observado que entre o ano de 2004 a 2006

deram entrada no IML 10 cadáveres não identificados e no qual foi realizada a técnica de identificação por arcada dentária. No entanto, esses exames foram realizados pelo fato de se ter um profissional contratado para este fim, sendo na verdade a identificação feita a partir da análise de DNA. Portanto, verifica-se a falta de valorização da Odontologia Legal assim como a ausência da utilização dos seus resultados.

Koch e Andrade (2008) realizaram uma pesquisa bibliográfica sobre a utilização das técnicas de biologia molecular na genética forense. Do ponto de vista técnico e criminalística, o DNA pode ser coletado da maioria dos espécimes biológicos, pois sendo uma molécula estável em ambiente seco e frio, se armazenado em tais condições, tem grandes chances de resultados confiáveis. O método de coleta específico dependerá do estado e condição da evidência biológica. Em geral, uma quantidade significativa de material deve ser coletada para garantir a extração de DNA suficiente para os testes. No entanto, é importante preservar a coleta de sujeira adicional, gorduras, fluidos e outros materiais que possam afetar o processo de tipagem de DNA. Deve-se, também, levar em conta que o material biológico recuperado na cena do crime pode sofrer alterações ambientais (luz, altas temperaturas, reativos químicos, etc) que poderão ocasionar quebras e alterações da cadeia de nucleotídeos e, como consequência, modificar a composição e a estrutura normal do DNA, impossibilitando a análise. Nos últimos anos foram desenvolvidas diversas técnicas para estudo de diferentes tipos de polimorfismos de DNA, formando assim um verdadeiro cardápio, no qual os cientistas e laboratórios podem escolher o método mais adequado para solucionar o problema em mãos. O método mais usado hoje em dia é o estudo de regiões repetitivas de DNA, chamadas de “minissatélites” (VNTR’s) e “microsatélites” (STR’s). A chave da diversidade nessas regiões é que o número de repetições varia entre indivíduos e pode ser estudada com sondas de DNA, ou através de PCR, como vem sendo feito em maior escala atualmente. Com o advento da reação em cadeia da polimerase (PCR), os marcadores moleculares passaram a

ser detectados a partir de quantidades menores de amostras, pois a PCR é capaz de amplificar seqüências a partir do DNA-alvo e, até mesmo, do DNA de uma única célula, em um curto espaço de tempo freqüentemente menos de 24 horas e, portanto, muito útil na análise forense onde em alguns casos, a quantidade de material biológico de algumas amostras, é muito pequena. Portanto, a análise do DNA é um dos maiores progressos técnicos da investigação criminal desde a descoberta das impressões digitais e a tecnologia do perfil e os métodos relacionados à análise de DNA progrediram a ponto de não colocar em dúvida a admissibilidade dos dados sobre o DNA quando adequadamente coletados e analisados.

Baraldi (2008) desenvolveu uma pesquisa para avaliar a utilização da técnica de identificação genética pelos serviços oficiais de identificação brasileiro e a importância da atuação do cirurgião-dentista na equipe forense tendo como objetivo de conhecer a realidade brasileira diante da tecnologia do DNA. Para isso, foi realizado o contato com o serviço oficial de identificação central da capital de cada um dos vinte e seis estados brasileiros além do Distrito Federal. Participaram da pesquisa 17 Estados brasileiros (Minas Gerais, Goiás, Rio Grande do Sul, Pará, Pernambuco, Alagoas, Paraná, São Paulo, Paraíba Bahia, Rio de Janeiro, Roraima, Amapá, Maranhão, Rio Grande do Norte, Ceará e Tocantins). A coleta de dados foi realizada através de um questionário. A partir deste foi possível estabelecer que a maioria dos serviços (88%) faz uso da técnica de identificação genética. Dentre eles, apenas o Rio Grande do Norte não adota protocolos de coleta e armazenamento das amostras biológicas. O sangue é a amostra biológica de eleição, porém em casos de ossadas ou quando o cadáver encontra-se carbonizado e/ou avançado estado de decomposição, os dentes são utilizados como fonte de DNA. Geralmente as amostras biológicas coletadas são provenientes de crimes sexuais. Apesar de marcas de mordida serem evidências freqüentemente encontradas em crimes desta natureza, a coleta de saliva (swab) é realizada apenas em 43% dos Estados. Dentre as diversas categorias de profissionais que compõem a equipe de DNA

forense, os farmacêuticos se destacaram (43%). Através dos resultados obtidos foi possível verificar a influência crescente exercida pela técnica de DNA nos processos de identificação e que o odontologista é importante na equipe forense pelos conhecimentos específicos principalmente pelo fato dos elementos dentários e da saliva constituírem potenciais fontes de DNA.

Frari (2008) realizou uma pesquisa bibliográfica sobre a importância do odontologista no processo de identificação humana de vítima de desastre em massa. Destacaram que a Odontologia Legal é de suma importância no processo de identificação de vítimas de acidentes aéreos em desastres em massa e que na maioria dos casos apresenta grande porcentagem de identificação. Apesar do advento do DNA e outros métodos de identificação, o acidente ocorrido em 8 de setembro de 1997 em Aquitaine, na França, 92% das vítimas carbonizadas foram identificadas sendo que somente um caso, e somente para estar totalmente certo foi utilizado a técnica de biologia molecular. Em catástrofes aéreas como as acontecidas com o grupo musical Mamonas Assassinas ou entre os 99 passageiros do avião da TAM que caiu em São Paulo, a identificação em grau de certeza, somente foi possível com base nos dados oferecidos pelo exame odontológico em 75% dos casos, sendo que apenas nos casos restantes a identificação se procedeu pelo exame de DNA ou outros procedimentos. Como pode ser visto, a tipologia dos desastres em massa pode ser muito diversa, porém são nos acidentes aéreos em sua maior porcentagem, onde a Odontologia Forense é de suma importância para a identificação das vítimas. Portanto, a Odontologia Legal adquire um papel relevante no processo de identificação de vítimas de desastres em massa, sendo incontestável a fundamental importância do odontologista nestas situações. E por fim, sugerem um protocolo de trabalho para o odontologista no qual destacam a importância do armazenamento de material ósseo e dentário, caso haja necessidade de se realizar um exame de DNA.

Silva, Oliveira (2008) realizaram uma pesquisa bibliográfica sobre Antropologia Forense e Biologia Molecular para verificar se são técnicas de identificação independentes ou ciências complementares. A biologia molecular é uma ferramenta útil em casos forenses. As discussões envolvendo as áreas pertinentes a investigação forense são importantes para elucidar algumas questões. Os principais fatores exógenos que podem prejudicar a recuperação de elementos do corpo, mesmo com o uso da tecnologia molecular e, portanto, de processos de identificação humana, são os elementos de combustão, tais como o fogo, o calor e as explosões. Além disso, a deteriorização do tecido e outros fatores externos também podem influenciar a qualidade da amostra. Em um estudo experimental a fim de verificar a resistência do DNA ao calor, amostras de DNA extraídas de dentes humanos foram submetidos a temperatura de 200°C, 400°C, 500°C e 600°C. A amplificação de todas as amostras em todas as temperaturas foi possível, portanto, a utilização de dentes em investigações forenses é permitida independentemente das condições do dente (Remualdo *apud* Silva, Oliveira 2008). Além dos dentes, a biologia molecular aplicada à Odontologia Legal também permite a análise de saliva humana, que pode ser obtido em casos de violência física, como os crimes sexuais, assassinatos e abuso infantil, na qual as marcas de mordida podem ser encontradas. Observa-se que a aplicação da Antropologia Forense, mesmo com a contribuição inestimável de recursos antropométricos, não permite uma indicação precisa do indivíduo, pois a análise exclusiva dos ossos dá uma estimativa da espécie, gênero, raça, idade e estatura, mas não de uma forma exata como a biologia molecular. Portanto, as técnicas de biologia molecular devem ser adicionadas aos meios de investigação das ciências forenses, fornecendo uma ferramenta para a prática forense na identidade humana.

Reis Júnior *et al.* (2009), realizaram uma pesquisa bibliográfica sobre os aspectos históricos da Odontologia Legal. Neste estudo observou-se que a Odontologia Legal emergiu da casualidade e tornou-se evidente após alguns acidentes, que apontaram para a necessidade

de técnicas de identificação das vítimas. Uma das alternativas utilizadas foi o reconhecimento dos corpos através dos dentes. Nos casos em que é necessário realizar a identificação de corpos que se encontram queimados, decompostos, esqueletizados, mutilados ou fragmentados por qualquer outra razão, é extremamente comum a dentição estar intacta e ser a única fonte de informação para esta investigação. O primeiro caso relatado pela literatura ocorreu em 04 de maio de 1897 em Paris, após um incêndio no Bazar da Caridade, local onde a burguesia estava reunida em torno de leilões beneméritos. Houve quase 200 mortos, dos quais 40 restaram sem identificação, dentre eles a Duquesa de D'Aleman e a Condessa Villeneuve. Os cirurgiões-dentistas dessas personalidades foram chamados para identificar, através dos restos carbonizados, seus supostos pacientes, o que tornou possível a identificação das citadas pessoas dentre outras que também pereceram na tragédia. Nos casos de carbonização humana, usualmente há uma limitação do emprego dos remanescentes biológicos para estudo. Nestes casos, tem-se usado, por eleição, dentes para análises forenses, já que sua constituição anatômica proporciona proteção ao material genético. Isto é possível devido a capacidade do dente em agir como uma cápsula protetora das células nucleadas da polpa dentária, de onde se extrai o material genético sendo a polpa dentária um dos poucos materiais orgânicos disponíveis para análise do DNA. Quando impressões digitais, verificação de marcas de mordida, do sexo, exames antropométricos já estabelecidos são inviáveis para proceder-se à identificação humana; pode-se, então, utilizar-se a tipagem de um DNA para tal processo. A tipagem molecular de material genético foi utilizada, oficialmente, pela primeira vez, por Jeffereys et al. em 1985, na Inglaterra, para a resolução de um problema de imigração. Um ano após, o mesmo autor empregou esta técnica para identificar o verdadeiro estuprador e assassino de duas vítimas; a partir deste caso, a Criminalística e a Odontologia Legal ganharam novo fôlego e têm empregado a técnica de tipagem molecular de DNA como potente arma no esclarecimento de diversos delitos e na identificação humana.

Carvalho (2009) realizou uma pesquisa para avaliar a qualidade do DNA obtido de saliva humana armazenada e sua aplicabilidade na identificação forense em Odontologia Legal. Foram analisadas amostras salivares de 100 sujeitos da pesquisa, coletadas nas formas de saliva *in natura* e saliva coletada de swab. A saliva foi armazenada à 20 °C. Após 7 dias, o DNA foi extraído das 200 amostras de saliva e, posteriormente, submetido à PCR e à eletroforese. Após 180 dias de armazenamento da saliva, repetiu-se a mesma técnica da primeira fase, porém em apenas 20 amostras, selecionadas aleatoriamente do total de 100 amostras de saliva coletadas por swab bucal. Os resultados da primeira etapa indicaram que o DNA foi extraído com sucesso em 96% das reações realizadas para as 200 amostras de saliva, fato observado também quando se analisou as amostras separadamente de saliva *in natura* (94%) e saliva advinda do swab (98%). Além disso, não houve diferenças estatisticamente significativas na extração do DNA entre as duas formas de coleta de saliva utilizadas ($p=0,289$). Na segunda fase, foi possível a detecção do gene alvo nas 20 amostras analisadas (100%). Os resultados mostraram que a quantidade e qualidade do DNA advindo de saliva do swab bucal, bem como as técnicas empregadas estão adequadas à análise forense do DNA. Portanto, a saliva humana é bastante útil como fonte de DNA e pode ser armazenada, em temperatura e condições ideais, para análise posterior.

Em estudo realizado por Santos (2009) para avaliar a viabilidade da utilização de amostras biológicas obtidas de dentes humanos para obtenção de perfis genéticos de DNA, teve como objetivo comparar a extração de DNA feita a partir de dentes humanos com a extração por meio de amostras de sangue fixadas em papel FTA® utilizadas como grupo controle, de maneira a comparar os alelos mapeados e definir se os dentes constituem, nestas circunstâncias, fonte viável de amostras para obtenção de perfis genéticos, comparando os protocolos. Dezoito participantes doaram voluntariamente amostras de sangue e elementos dentários (terceiro molar superior direito) os quais foram indicados para exodontia. Os

resultados obtidos indicaram que os dentes humanos constituem fontes viáveis de acordo com a análise estatística realizada, entretanto quando comparado com o protocolo de extração de material genético através do sangue, deixa de ser viável devido ao número de passos necessários para a obtenção dos resultados.

DISCUSSÃO



4. DISCUSSÃO

As impressões digitais têm sido historicamente utilizadas para identificação humana. No entanto, em algumas situações, como incêndios e esqueletização, são facilmente destruídas. Porém, através da biologia molecular é possível realizar a identificação humana utilizando uma pequena quantidade de material biológico o que é relativamente freqüente nas análises forenses (SILVA, 2007).

A tipagem do DNA, com seu poder extremamente elevado para diferenciar um ser humano do outro, tem por base um amplo conjunto de princípios e técnicas que são universalmente aceitos. Técnicas moleculares mais novas permitem o estudo da incerteza humana em seu nível mais básico, o do próprio material genético, o DNA (CONSELHO NACIONAL DE PESQUISA, 2001; BONACCORSO, 2000). O DNA possui uma alta estabilidade química mesmo após um longo período de tempo e está presente em todas as células nucleadas do organismo humano, o que facilita a obtenção do mesmo (KOCH e ANDRADE, 2008; SILVEIRA, 2006; SILVA, PEREIRA, 2004). Além disso, somente pequenas quantidades de DNA são necessárias para a identificação de um indivíduo (CONSELHO NACIONAL DE PESQUISA, 2001; KOCH, ANDRADE, 2008), especialmente se forem empregados métodos que utilizam a PCR (CONSELHO NACIONAL DE PESQUISA, 2001).

Nas células, o DNA de interesse forense encontra-se tanto no núcleo como nas mitocôndrias (DOLINSKY, PEREIRA, 2007). O DNA mitocondrial determina a herança materna, pois o genoma mitocondrial masculino é destruído durante ou logo após a fecundação, sendo assim o DNA mitocondrial é idêntico entre irmãos e parentes maternos (SILVEIRA, 2006). Portanto, o DNA mitocondrial apresenta vantagem em relação ao DNA

nuclear, pois é utilizado quando a amostra em questão tem uma quantidade pequena ou não tem DNA nuclear (DOLINSKY, PEREIRA, 2007; SILVEIRA, 2006).

Qualquer tipo de tecido ou fluido biológico pode ser utilizado como fonte de DNA para determinação de um perfil genético (BONACCORSO, 2000), desde que possua células próprias ou células de outros tecidos como, por exemplo, na urina podemos encontrar células oriundas da bexiga (DOLINSKY, PEREIRA, 2007). Os tipos de amostras mais comuns são: sangue, sêmen, secreções, saliva, urina, tecidos moles, pêlos e anexos dérmicos, dentes, ossos e outros (BONACCORSO, 2000; DOLINSKY, PEREIRA, 2007).

A identificação humana através de análise de DNA extraído de ossos humanos, é um avanço na medicina legal e tem contribuído para identificação de cadáveres humanos em várias situações tais como, em grandes catástrofes, exumação de corpos, guerras, pessoas desaparecidas, assim como cadáveres e restos humanos não identificados, pois quantidades significativas de informação genética podem sobreviver por longos períodos de tempo (IWAMURA *et al.*, 2004); são também utilizados na identificação de suspeito em casos de crimes sexuais; identificação de cadáveres carbonizados, em decomposição, mutilados, etc; relação entre instrumento lesivo e vítima; identificação de cadáveres abandonados; aborto provocado; infanticídio; investigação de paternidade; estudo de vínculo genético; raptos, seqüestros e tráfico de menores e anulação de registro civil de nascimento (DOLINSKY e PEREIRA, 2007).

Em algumas situações especiais em que os métodos tradicionais não podem ser realizados, tais como ausência de polpas digitais ou fichas odontológicas ou em casos extremos onde corpos estão carbonizados ou em estágio avançado de decomposição, ou ainda quando ossadas são o único material a serem aproveitados de maneira a identificar as vítimas comparadas a possíveis pessoas desaparecidas, os únicos materiais a serem coletados pelos

peritos são dentes e ossos; o que torna o DNA o único método para se realizar a identificação humana.

O uso do DNA na identificação de uma vítima de incêndio no qual o corpo da vítima não possuía impressões digitais ou outras formas para identificação, porém com suspeita sobre sua identidade, pôde ser utilizado o DNA dos supostos pais biológicos comparado-os com o DNA extraído do corpo queimado e fornecendo um resultado positivo da vítima. (VIEIRA *et al.*, 2000).

Relatos em que o sangue é a amostra biológica de eleição, nos casos em que ossadas ou quando o cadáver encontra-se carbonizado e/ou em avançado estado de decomposição, os dentes são utilizados como fonte de DNA (BARALDI, 2008; SANTOS, 2009). Entretanto, Silveira (2006), relatou que os dentes, principalmente a polpa dentária, são importantes fontes de DNA, pois resistem melhor do que qualquer tecido humano à degradação *post mortem*, variações de pressão e temperatura possibilitando a preservação da identidade genética individual. Mesmo se o dente estiver fragmentado é possível coletar DNA e realizar a análise deste fragmento. Isto é possível devido à capacidade do dente em agir como uma cápsula protetora das células nucleadas da polpa dentária, preservando o material genético até 600°C, de onde pode-se extrair o material genético para análise (BRKIÉ *et al.* 2002; MALAVER e YUNIS, 2003; NEDEL *et al.*, 2007; REIS JÚNIOR *et al.*, 2009; REMUALDO (*apud* SILVA e OLIVEIRA, 2008). Os autores concluíram que a utilização dos dentes para extração de DNA, em investigações forenses, é possível independentemente das condições do mesmo.

Gaytmenn e Sweet (2003) avaliaram as regiões do dente que apresentam quantidades suficientes de DNA com o objetivo de justificar a sua extração a partir de um fragmento de dente encontrado. O estudo foi realizado em 194 dentes humanos os quais foram divididos em quatro regiões (ponta da coroa, corpo da coroa, corpo da raiz e ápice da raiz,) e submetidos à extração de DNA. A análise dos dados demonstrou que 49 das 194 amostras da ponta da

coroa não produziram DNA quantificável. A amostragem aleatória de 12 dessas 49 amostras da ponta da coroa foi ainda analisada para confirmar que não havia concentração suficiente de DNA. Os resultados confirmaram que 11 das 12 amostras não continham quantidades suficientes de DNA. Portanto, os resultados deste estudo podem fornecer, ao analista forense de DNA, informações necessárias para escolher o fragmento de dente ideal para análise.

Apesar do advento do DNA e do grande poder de identificação, este ainda não é o primeiro método utilizado em casos de identificação forense. Silva e Pereira (2004) demonstraram a confiabilidade do exame odontolegal na identificação humana e concluíram que a análise de DNA proporciona resultados precisos com extrema aceitação jurídica, porém com custo muito elevado para se tornar um exame rotineiro. Em algumas situações é utilizado somente para validar e/ou confirmar um resultado ou quando outros métodos de identificação não puderam ser aplicados.

Em uma pesquisa bibliográfica realizada por Frari *et al.* (2008) sobre a importância do odontologista no processo de identificação humana de vítimas de desastre em massa, relatou que em um acidente na França, 92% das vítimas carbonizadas foram identificadas, sendo que somente um caso, e somente para estar totalmente certo foi utilizado a técnica de biologia molecular. Em catástrofes aéreas como as acontecidas com o grupo musical Mamonas Assassinas em 2 de março de 1996, ou entre os 99 passageiros do avião da TAM que caiu em São Paulo, a identificação em grau de certeza, foi possível com base nos dados oferecidos pelo exame odontológico em 75% dos casos, sendo que apenas nos casos restantes a identificação se procedeu pelo exame de DNA ou outros procedimentos.

Brkić *et al.* (2002) relatou um caso de identificação de uma vítima de acidente de carro no qual os corpos foram carbonizados pelo incêndio. Um dos corpos só foi possível a identificação através da análise do DNA extraído da polpa dentária, pois o mesmo, por se tratar de um estrangeiro, não possui a ficha odontológica.

Segundo Koch e Andrade (2008), o material biológico recuperado na cena do crime pode sofrer alterações ambientais (luz, altas temperaturas, reativos químicos, etc) que poderão ocasionar quebras e alterações da cadeia de nucleotídeos e, como consequência, modificar a composição e a estrutura normal do DNA, impossibilitando a análise. Portanto, torna-se essencial a etapa do isolamento do local em que se encontra a amostra, a coleta e o armazenamento adequado da amostra obtida que será submetida a análise de DNA, bem como, o correto procedimento dos laboratórios de análise forense assegurando resultados inquestionáveis para serem válidos nos tribunais.

Segundo Bonaccorso (2000), a qualidade, exatidão e confiabilidade dos resultados obtidos na análise de DNA em vestígios coletados ou relacionados a ocorrências criminais dependem de procedimentos próprios que devem ser rigorosamente adotados nas etapas do isolamento do local do delito e do levantamento das amostras biológicas a serem encaminhadas para a unidade orgânica responsável pela genotipagem forense.

CONCLUSÃO



5. CONCLUSÃO

Em alguns casos especiais nos quais os métodos tradicionais de identificação humana não podem ser utilizados, a análise de DNA tem contribuído de forma expressiva no processo de identificação humana. As pesquisas em diversos campos da ciência tem procurado contribuir nos processos de identificação humana e tem de forma fundamental auxiliado a Justiça

A Odontologia Legal através de pesquisas laboratoriais e de investigação realizadas com seres humanos, comprovou que devido à resistência dos elementos dentários à ação do fogo e a altas temperaturas, há preservação do material genético e os resultados comprovaram também que o dente e os seus tecidos dentais podem ser usados como fonte de DNA apesar de terem sido submetidos à putrefação, demonstrando que a dentina e o cimento contêm DNA suficiente para permitir a amplificação do DNA mitocondrial, contribuindo no processo de identificação humana.

**REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS**



6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANZAI-KANTO, Evelyn. **DNA extraction from human saliva deposited on skin and its use in forensic identification procedures.** Braz Oral Res., v. 19, p. 216-222, jul. 2005.

BARALDI, Andréia Moribe. **A utilização de técnica de identificação genética: panorama da realidade dos serviços oficiais de identificação brasileiros e a importância da atuação do cirurgião-dentista na equipe forense.** 2008. 78 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Odontológicas) - Faculdade de Odontologia de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo.

BONACCORSO, Norma. **Análise forense de DNA.** FDUSP, 2000. www.peritocriminal.com.br/juriddna.htm. Acessado em 12 de outubro de 2009.

BRKIĆ, Hrvoje; PETROVECKI, Vedrana; GUSIC, Stjepan. **Dental identification of the carbonized body: case review.** Rev. Acta Stomatol Croat, v. 36, p. 127-128, jan. 2002.

CARVALHO, Suzana Papile Maciel. **Avaliação da qualidade do DNA obtido de saliva humana armazenada e sua aplicabilidade na identificação forense em Odontologia Legal.** 2009. 193 f. Dissertação (Mestrado em Ortodontia e Odontologia em Saúde Coletiva) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, Bauru.

CONSELHO NACIONAL DE PESQUISA: Comitê sobre tecnologia do DNA na ciência forense. **A avaliação do DNA como prova forense.** Ribeirão Preto: FUNPEC, 2001. 283 p.

DOLINSKY, Luciana; PEREIRA, Lissiane. **DNA forense: artigo de revisão.** Revista Saúde & Ambiente, Duque de Caxias, v. 2, n. 2, p. 11-22, jul. /dez. 2007.

FRARI, Pamela. **A importância do odontologista no processo de identificação humana de vítima de desastre em massa: sugestão de protocolo de exame técnico-pericial.** Rev. Odontológica, São Paulo, v. 16, n. 31, p. 38-44, jan. / jun. 2008.

GAYTMENN, Roshale; SWEET, David. **Quantification of forensic DNA from various regions of human teeth.** J. Forensic Sci, May, v. 48, n. 3, 2003.

IWAMURA, Edna; VIEIRA, José; MUÑOZ, Daniel. **Human identification and analysis of DNA in bones.** Rev. Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina, São Paulo, v. 59, p. 383-388, Jul. 2004.

KOCH, Analara; ANDRADE, Fabiana. **A utilização de técnicas de biologia molecular na genética forense: uma revisão.** RBAC, Rio Grande do Sul, v. 40, p. 17-23, 2008.

MALAVAR, Piedad; YUNIS, Juan. **Different dental tissues as source of DNA for human identification in forensic cases.** Croat Medical Journal, p. 306-309, 2003.

MANOLIS, J. Papagrigorakis et al. **DNA examination of ancient dental pulp incriminates typhoid fever as a probable cause of the plague of Athenas.** International Journal of Infectious Diseases. International J of infectious diseases. Elsevier, Apr. / Sep. 2005.

MICKLOS, David; FREYER, Greg. **A ciência do DNA.** 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 575 p.

NEDEL, Fernanda et al. **Odontologia Legal na cidade de Pelotas.** XVI Congresso de Iniciação Científica. Rio Grande do Sul, 2007.

PENIDO, Ciro; FARO, José. **A genética na identificação de restos mortais em caso criminal por análise de DNA nuclear.** XII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VIII Encontro Latino Americano de Pós-graduação, Macapá, 2006.

SANTOS, Leonardo Soriano de Mello. **Viabilidade da utilização de amostras biológicas obtidas de dentes humanos para obtenção de perfis genéticos de DNA.** 2009. 59 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Buco dental) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo.

SILVA, Rhonan; PEREIRA, Sávio. **A confiabilidade do exame odontolegal na identificação humana.** Revista Robrac, São Paulo, v. 13, n. 35, p. 46-50, 2004.

Genetics and molecular biology: a literature review of forensic dentistry application. Rev. Braz J. Oral. Sci., v. 6, n. 20, p. 1254-1258, jan. / mar. 2007.

SILVA, Ricardo. **Use of DNA technology in forensic dentistry.** J Appl Oral Sci, v. 15, p. 156-161, may. /dec. 2007.

SILVA, Ricardo; OLIVEIRA, Rogério. **Forensic anthropology and molecular biology: independent or complementary sciences in forensic dentistry; An overview.** Braz J Oral Sci, v. 7, n. 25, p. 1575-1578, apr. / jun. 2008.

SILVEIRA, Emanuela. Odontologia legal: a importância do DNA para as perícias e peritos. *Revista Saúde, Ética & Justiça*, São Paulo, v. 11, p.12-18, 2006.

VIEIRA, José et al. Post-mortem forensic identity testing: application of PCR to the identification of the victim. *Medical Journal / Revista Paulista de Medicina*, São Paulo, 2000.