

ANÁLISE DE DNA EM ODONTOLOGIA FORENSE*Analysis of DNA in Forensic Dentistry*Grasiele de Sousa Vieira¹, Carlos Alberto Pereira Tavares²,
Fernanda Capurucho Horta Bouchardet³¹Especialista em Odontologia Legal - PUC Minas. Pós-graduada em Valoração do Dano Corporal - Universidade de Coimbra, Portugal.²Doutor em Imunologia pela USP. Professor Titular do Departamento de Bioquímica e Imunologia da UFMG.³Doutoranda em Ciências da Saúde – Universidade de Coimbra – Portugal. Especialista em Odontologia Legal – USP. Coordenadora do Curso de Especialização em Odontologia Legal – PUC Minas.*Trabalho realizado no Departamento de Odontologia da PUC Minas*

Resumo - Apresentar as técnicas de DNA utilizadas para a identificação humana, realizadas através da análise de saliva e polpa dentária. Procurou-se demonstrar a aplicabilidade do DNA dentro da Odontologia Legal e ilustrar sua importância, contrapondo os métodos utilizados para identificação humana. Nesse contexto, este estudo apresenta-se como oportunidade de consolidação de conceitos e conteúdos fundamentais do DNA aplicados à Odontologia Legal, buscando prestar maiores esclarecimentos às pessoas que estão ingressando em seu estudo.

Descritores - Identificação humana, Odontologia legal, DNA.

INTRODUÇÃO

Há mais de uma década a tecnologia do DNA foi utilizada pela primeira vez como método de identificação humana no campo forense. A análise de DNA contribui de forma importantíssima nos processos de identificação humana, principalmente nos casos em que as impressões digitais, exames de arcos dentários e exames antropométricos são inviáveis de serem realizados, devido à decomposição, fragmentação, incineração ou inexistência de dados comparativos *antemortem*.

Existem análises do DNA utilizadas para identificação humana odontológica através da saliva e polpa dentária. Para que estas análises sejam feitas de forma correta e devidamente validadas, é inquestionável a utilização tanto dos conhecimentos científicos quanto dos conhecimentos tecnológicos. Desta forma, neste estudo, são caracterizados protocolos de coleta, preservação, extração, quantificação e amplificação do DNA; pois os cirurgiões – dentistas, quando na qualidade de peritos, devem se familiarizar com os conhecimentos tecnológicos para a análise de DNA. Desta forma, a identificação humana

deve ser sempre vista como uma das grandes áreas de estudo e pesquisa da Odontologia Legal. O presente trabalho buscou prestar maiores esclarecimentos e aplicabilidade do DNA dentro da Odontologia Legal, ilustrando sua importância e se contrapondo a outros métodos utilizados para identificação humana.

REVISÃO DA LITERATURA

O DNA é uma molécula extremamente longa, formada por duas cadeias de polinucleotídeos enrolados de forma helicoidal e ligados transversalmente através de pontes de hidrogênio. Cada nucleotídeo é constituído por três unidades básicas: uma base nitrogenada, uma molécula de açúcar (desoxirribose) e um grupamento fosfato (PO₄). A adenina e a guanina contêm dois anéis carbônicos, sendo chamadas de purinas; a citosina e a timina são conhecidas como pirimidinas¹. A adenina forma pontes com a timina (ligações de duas pontes de hidrogênio); e a guanina com a citosina (ligações de três pontes de hidrogênio). Para cada nucleotídeo de adenina existe um de timina (A-T), e para cada nucleotídeo de guanina existe um de citosina (G-C), formando duas

cadeias que são designadas por complementares. Neste caso, as informações genéticas estão armazenadas sob a forma de ácidos nucleicos.

Os ácidos nucleicos foram descobertos em 1869 por Friedrich Miescher e no início do século XX o bioquímico Kossel evidenciou a existência de dois tipos de ácidos nucleicos: o ácido desoxirribonucleico (DNA) e o ácido ribonu-cléico (RNA). O DNA contém o gene enquanto que o RNA serve como agente intermediário na atividade do gene. O RNA mensageiro (mRNA) é transcrito a partir do DNA e traduzido em seqüências de aminoácidos que formam as proteínas².

O DNA pode ser extraído de amostras de sangue, esfregaços bucais, saliva, osso, dente, tecidos, órgãos, fios de cabelo, sêmen, urina, entre outros materiais biológicos³. Ele pode ser encontrado nos cromossomos do núcleo (DNA genômico) e nas mitocôndrias (DNA mitocondrial). Os cromossomos são filamentos espiralados de cromatina existente no suco nuclear de todas as células. Cada cromossomo é formado por uma única molécula de DNA com vários milhões de pares de bases. A análise do DNA mitocondrial para fins forenses fica reservada para tecidos antigos como ossos, cabelos, dentes e em grandes desastres (incêndios, explosões, queda de aviões) nos quais o DNA nuclear já não oferece mais condições de análise^{2,4}. No entanto não podemos nos esquecer que nem sempre será possível a realização do exame de DNA, devido ao fato das amostras biológicas estarem contaminadas, degradadas ou em quantidades tão pequenas que não possibilitem seu estudo.

DNA genômico/mitocondrial

O DNA genômico é encontrado no núcleo de cada célula do corpo humano e representa uma fonte de DNA para a maioria das aplicações forenses. Sua molécula é linear. Neste DNA estão localizados os genes, depositários das informações genéticas responsáveis pelas atividades da célula². Por outro lado, o interesse nos estudos forenses pelo DNA mitocondrial se deve principalmente ao fato deste apresentar resistência à digestão enzimática devido a sua estrutura circular, sendo desta forma a análise desse tipo de DNA excepcional no estudo de tecidos antigos e até arqueológicos, como ossos, dentes e cabelos.

Praticamente todo mtDNA de um indivíduo apresenta a mesma seqüência, devido o seu caráter monoclonal, porém uma condição chamada de heteroplastia pode existir. Isto devido ao fato que uma mesma pessoa pode apresentar mais de um tipo de mtDNA. Logo a análise de fios de cabelo pode demonstrar resultados diferentes ou ambíguos⁵. É sabido que a mitocôndria tem um número que varia de 100 a 10.000 cópias por célula, permitindo a análise de material com quantidade limitada e de amostras de DNA parcialmente degradado⁶.

O DNA mitocondrial apresenta características únicas que o tornam uma fonte de informação para os estudos forenses: (1) possui alta taxa de mutação⁷ e (2) apresenta herança uniparental. O DNA mitocondrial é passado exclusivamente da mãe para filhos e filhas, permitindo traçar a linhagem materna de uma pessoa. A mitocôndria paterna quando presente no citoplasma do ovócito é rapidamente marcada para ubiquitinação e imediatamente degradada na grande maioria das vezes^{8,9} (3) a ausência de recombinação (genoma haplóide) permite que as mutações sejam

acumuladas de maneira cronológica (seqüencial) na molécula de DNA mitocondrial; (4) o grande número de cópias do DNA mitocondrial em cada célula humana facilita sua obtenção para as análises genéticas, e finalmente (5) o DNA mitocondrial é mais resistente á degradação que o DNA nuclear.

Análise Forense do DNA

No Brasil, até março de 2004, tramitavam na Câmara Federal, trinta e um projetos de lei relacionando o papel do exame de DNA para fins de identificação humana. Percebe-se assim a cobrança da sociedade e a preocupação do Estado em respaldar legalmente a utilização do DNA para tal fim. Destaca-se o Projeto de Lei PL 417/2003, alterando o artigo 1º da lei 10.054 de 07/12/2000, que insere o DNA para a identificação criminal¹⁰. A importância da Odontologia Legal para a identificação humana, principalmente em casos nos quais pouco resta para se proceder a essa identificação (incêndios, explosões, corpos em decomposição ou esqueletizados), levou os odontologistas, a se familiarizarem com as novas tecnologias da biologia molecular.

A competência para a execução deste tipo de atividade, na área odontológica é explicitada pela Lei 5.081/66, em seu artigo 6º, que define as competências do cirurgião-dentista: I - praticar todos os atos pertinentes à Odontologia, decorrentes de conhecimentos adquiridos em curso regular ou em cursos de pós-graduação; IV - proceder à perícia odontolegal em foro civil, criminal, trabalhista e em sede administrativa.

Além disso, a Resolução CFO 63/2005¹¹ regulamentou, através do artigo 64, as áreas de atuação do profissional especialista em Odontologia Legal, entre elas:

identificação humana e perícia em vestígios correlatos, inclusive de manchas ou líquidos oriundos da cavidade bucal ou nela presentes.

E a mesma norma diz em seu art. 63, parágrafo único: A atuação da Odontologia Legal restringe-se a análise, perícia e avaliação de eventos relacionados com a área de competência do cirurgião-dentista podendo se as circunstâncias o exigir, estender-se a outras áreas, se disso depender à busca da verdade, no estrito interesse da justiça e da administração. Assim, constata-se que o Odontologista é um profissional que possui um papel fundamental em vários casos de identificação humana. Este profissional deve se familiarizar com as técnicas de tipagem de DNA, pois ele não é um mero captador e encaminhador de amostras biológicas, e quando imbuído das funções periciais tem competência de fazer uso da biologia molecular para esse fim¹².

Nos dias atuais muitos casos de identificação necessitam de uma abordagem multidisciplinar, porque existe a ausência ou falta de material padrão para ser comparado ou por existir a presença de mais de um tipo de evidência para ser examinada¹³. Como exemplo deve ser citado o trabalho que apresentou a abordagem multidisciplinar para se identificar um corpo, cuja cabeça foi encontrada seis meses após o achado do corpo. Foram utilizadas técnicas antropológicas, odontologia forense, superposição computadorizada (face/crânio) e a investigação de DNA. O sexo foi determinado pelas características do crânio como também pela amelogenina; a idade foi estimada usando medidas de divisão coronal longitudinal; a superposição computadorizada mostrou uma identificação positiva entre as estruturas faciais da vítima e a cabeça

encontrada; o DNA extraído da polpa dental, ossos e tecidos musculares foram comparados ao perfil genético das supostas filhas e esposa da vítima. A paternidade foi verificada pela análise de 11 *locus*¹⁴.

Amostras biológicas para análise de DNA forense em Odontologia

O tecido dental é reconhecido como uma fonte rica de DNA para uso em casos de identificação humana. As análises de DNA de polpa e folículo dentário também são utilizadas em outros casos forenses como, por exemplo, para reconstruir os eventos em casos cujo corpo da vítima foi retirado da cena do crime e incinerado¹⁵. Os dentes têm uma importância fundamental na identificação humana por possuir extraordinária resistência a putrefação e aos efeitos externos (físicos - traumatismos, calor, químicos e biológicos), mais que qualquer outro tecido humano, preservando assim a identidade genética individual¹⁶.

Na prática forense, o dente tem sido priorizado para análises genéticas devido ao fato da cavidade pulpar, que se constitui em arcabouço formado pelas paredes entre esmalte, dentina e cimento propiciar o meio estável para o DNA; ou seja, seus componentes celulares são providos de eficiente proteção contra agressões do meio ambiente. A polpa dentaria protegida por este arcabouço pode ser recuperada para extração do DNA com o uso de limas endodónticas. Outra característica importante é o fato do elemento dentário possuir quantidades suficientes de DNA para permitir a identificação humana, sendo a região do corpo radicular a que permite a maior recuperação de DNA^{10,17}.

Outra amostra biológica de grande importância dentro do estudo do DNA forense é a saliva. A saliva, ou melhor,

o fluido bucal, é composto pelo fluido que contém leucócitos que se infiltram através da junção dento gengival e células epiteliais descamadas. É possível a análise de DNA em amostras forenses contendo saliva, não se encontrando diferenças na análise, sendo comparada à da saliva recém-coletada¹⁰. Por outro lado, a saliva é muito usada como fonte de DNA, devido ao fato de ser coletada sem dor e de maneira não invasiva⁶. As células desprendidas da mucosa oral têm se mostrado também uma excelente fonte de DNA de alto peso molecular. Devido a isso, numerosos laboratórios de genética utilizam as amostras de saliva e de escovação da mucosa oral para investigação de vínculo genético em crianças de curta idade.

Outro fato importante é que, através das células presentes na saliva, é possível isolar o DNA para proceder à identificação de criminosos; para elucidação de crimes envolvendo casos de violência física, como abuso sexual de adultos e crianças, homicídios dentre outros. Devido ao fato que quando uma mordida é executada, sempre é acompanhada pela presença de saliva, ou seja, a saliva do agressor é depositada na pele da vítima ou objetos durante a mordida, beijo ou a sucção. O DNA salivar se mantém estável podendo ser recuperado até 48-60 horas após a salivagem sobre a pele cadavérica; logicamente esse tempo dependerá das condições ambientais e da manipulação que tenha sido sofrido. Sobre a vítima viva o DNA da saliva seca pode ser recuperado por mais de 72 horas^{2,18}.

Coleta e processamento das amostras de DNA

Para se obter o perfil genético através do DNA necessita-se das seguintes etapas: extração, quantificação,

amplificação e análise da região estudada. O sucesso na análise do DNA está diretamente relacionado ao tipo de amostra colhida e de como foram preservadas. Desta forma, deve-se prestar bastante atenção quanto á técnica empregada na coleta e documentação do vestígio, bem como sua quantidade e modo como foi manuseado, embalado e preservado devido ao fato de serem pontos críticos para este tipo de exame¹⁷.

DISCUSSÃO

A odontologia legal é de suma importância nos casos de identificação humana, oferecendo informações importantes durante a investigação criminal. Frequentemente os odontologistas utilizam elementos comparativos anteriores á morte como, por exemplo, o prontuário odontológico, radiografias dos dentes e seios da face, para realizar a identificação. Quando se encontram apenas ossadas, estes profissionais conseguem algumas informações tais como: etnia, idade estimada, descendência, sexo, estatura do corpo; porém não conseguem nomear o indivíduo.

Na odontologia legal o exame de DNA pode ser usado juntamente com técnicas tradicionais, obtendo-se ótimos resultados para identificar corpos em alto estado de decomposição¹³.

A análise de DNA contribui de forma importantíssima nos processos de identificação humana, principalmente nos casos em que a decomposição, fragmentação, incineração ou inexistência de dados comparativos *antemortem* impossibilitem a utilização de outros métodos forenses¹⁹.

Na qualidade de perito, o odontologista entra em contato com diferentes tipos de materiais biológicos, em especial com os dentes e a saliva, que podem possibilitar a extração do DNA. Quando

a amostra biológica é corretamente coletada e preservada, o DNA pode permanecer por vários anos em condição de estudo. Para que estas análises sejam feitas de forma correta e devidamente validadas, o perito deve seguir protocolos de coleta, preservação, extração, quantificação e amplificação do DNA.

No entanto, nem sempre será possível a realização do exame de DNA, devido ao fato das amostras biológicas poderem estar contaminadas, degradadas ou em quantidades tão pequenas que não possibilitem seu estudo. Outro fator que muitas vezes impossibilita a utilização do exame de DNA é o baixo número de institutos públicos capazes de realizar este exame, tendo como consequência seu alto custo. Os casos de identificação necessitam da abordagem multidisciplinar. Isso acontece por que existe a ausência ou falta de material padrão para ser comparado ou por existir a presença de mais de um tipo de evidência para ser examinada¹³. E para o maior grau de certeza da identificação humana.

CONCLUSÕES

Calcado na análise e na discussão de trabalhos publicados sobre análise de DNA na identificação humana em Odontologia Legal, este estudo mostrou que:

1. A análise de DNA contribui de forma importantíssima nos processos de identificação humana, principalmente nos casos em que as impressões digitais, exames de arcos dentários e exames antropométricos são inviáveis de serem realizados;
2. Os odontologistas, quando na qualidade de peritos, devem se familiarizar com os conhecimentos da análise do DNA;

3. Há necessidade de aumentar sua utilização para identificação humana em casos forenses.
4. Em algumas situações o exame de DNA não pode ser realizado.
5. O ideal é sempre a abordagem multidisciplinar.

ABSTRACT - This work must by objective present a revision of literature describing the used DNA techniques for the human identification, made to traverse the analysis of saliva and dental pulp. One looked for to demonstrate the applicability of the DNA within the Forensic Dentistry and to illustrate his importance, opposing the methods used for human identification. In that context, this study presents like opportunity of consolidation of concepts and fundamental contents of the applied DNA the Forensic Dentistry, looking for to lend greater elucidations the people than are entering their study.

DESCRIPTORS - Human identification, Forensic dentistry, DNA

REFERÊNCIAS

1. Griffithus AJV, Gelelbart WM, Miller JH, Lewontin RC. *Genética Moderna*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.
2. Musse JO, Marques JAM, Silva RHA, Oliveira RN. Aplicação do DNA na análise de marcas de mordidas. In: Marques JAM, Galvão LCC, Moacir S. *Marcas de Mordidas*. Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana; 2007. p.165-86.
3. Strachan T, Read A. *Genética Molecular Humana*. Porto Alegre: Artmed; 2002.
4. Silva LAF, Passos NS. *DNA Forense: coleta de amostras biológicas em locais de crime para estudo do DNA*. Maceió: Ed. UFAL; 2006.
5. Jobim LF, Costa LR, Silva M. *Identificação Humana/ identificação pelo DNA, Identificação Médico-Legal e Perícias Odontológicas*. Campinas: Millennium Editora; 2005.
6. Silva RHA, Musse JO, Melani RFH, Oliveira RN. Human bite mark identification and DNA technology in forensic dentistry. *Braz J Oral Sci* 2006;19(5):1193-97.
7. Minaguchi K, Maruyama S, Kasabara I, Nohira C, Hanaoka Y, Tsai T, Kiriyama H, Takahashi N. Identification of unknown body using DNA analysis and dental characteristics in chest X-ray photograph. *Bull Tokyo Dent Coll* 2005;46(4):145-53.
8. Sutovsky P, Moreno RD, Ramalho-Santos J, Dominko T, Silmerly C, Schatten G. Ubiquitin tag for sperm mitochondria. *Nature* 1999;402(6760):371-2.
9. Gonçalves VF. *O uso do DNA mitocondrial em quatro estudos envolvendo a ancestralidade de populações americanas nativas e miscigenadas*. (Tese de Doutorado). Minas Gerais: Universidade Federal de Minas Gerais; 2007.
10. Remualdo VR, Oliveira RN. Potencial de análise forense do DNA de diferentes amostras biológicas. *Rev Ass Paul Cir Dent* 2005;59(6):421-4.
11. Conselho Federal de Odontologia. Resolução CFO-63/2005, de 25 de maio de 2005. *Consolidação das Normas para Procedimentos nos Conselhos de Odontologia*. Disponível em: <<http://www.cfo.org.br/download/pdf/consolidacao.pdf>> Acesso em 21 mar. 2009.
12. Silveira EMSZSF. *Odontologia legal: a importância do DNA para as perícias e peritos*. *Saúde, Ética e Justiça* 2006;11(1/2):12-8.
13. Silva RF, Pereira SDR, Daruge Júnior E, Barcelos RS, Godinho NMO, Souto R. *Genetics and molecular biology: a literature*

- review of forensic dentistry application. Braz J Oral Sci 2007;20(6):1254-9.
14. Bilge Y, Kedici PS, Alakoç YD, Ülküer KÜ, Ilkyaz YY. The identification of a dismembered human body: a multidisciplinary approach. Forensic Sci Int 2003;137:141-6.
 15. Sweet D; Dizinno JA. Personal identification through dental evidence- Tooth fragments to DNA. J Calif Dent Ass 1996;24(5):35-42.
 16. Calabrez MCT, Saldanha PH. A pesquisa de DNA em Odontologia Forense. In: Silva M. Compêndio de Odontologia Legal. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997. p.167-221.
 17. Musse JO. A influência do meio aquático nos processos de identificação humana: estudo epidemiológico e laboratorial (recuperação do DNA). (Dissertação de Mestrado). São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2007.
 18. Vanrell, J P. Odontologia Legal e Antropologia Forense. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002. p.265-75.
 19. Watson JD. Impressão digital (fingerprinting) do DNA e DNA forense. In: Watson JD, Myers RM, Caudy AA, Wiltkowski JA. DNA Recombinante: genes e genomas. Porto Alegre: Artmed; 2009. p.431-57.

Recebido em:

Aceito em:

Correspondência:

Grasiele de Sousa Vieira

Rua Dona Inhazinha Epifânio, 547

35.500-062 – Divinópolis - MG

Telefones: (37) 8818-1519 / (31) 9126-3908

E-mail: grasysv@hotmail.com