APLICABILIDADE DO DNA EM ODONTOLOGIA FORENSE

Applicability of DNA in Forensic Dentistry

Hassan Lavalier de Oliveira Lima¹, Urubatan Vieira de Medeiros²

1-Especialista em Odontologia Legal (SLMandic)

2- Doutor em Odontologia (USP)

Palavras-Chave:

DNA forense, Identificação humana, Odontologia Legal.

RESUMO

A utilização de testes de perfil de DNA em Odontologia Legal oferece uma nova perspectiva para a identificação humana, sendo considerada um dos principais progressos da biologia molecular do século XXI. O objetivo deste trabalho foi pesquisar a aplicabilidade do DNA no processo de identificação forense na Odontologia Legal visto que a biologia molecular vem desempenhando um papel de grande relevância nos processos de identificação em casos mais complexos onde os vestígios biológicos são praticamente inexistentes. A análise do DNA ostenta algumas vantagens sobre os métodos convencionais de identificação. As amostras biológicas de DNA podem ser encontradas em amostras de sangue, ossos, sêmen, cabelo, dentes, unhas, saliva, urina entre outros fluidos biológicos. Em casos onde os corpos se encontram em avançado estado de decomposição, carbonizados ou putrefatos, ou até mesmo quando a identificação não pode ser realizada por meio de métodos odontológicos tradicionais, 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. Desse modo os dentes e a saliva são considerados fontes seguras de obtenção do DNA.

KEY WORDS:

Forensic DNA, human identification, Forensic Dentistry

ABSTRACT

The use of DNA profile in forensic dentistry testing offers a new perspective on human identification, is considered one of the major developments in the molecular biology of the XXI century. The aim of this study was to investigate the applicability of DNA in forensic identification process in forensic dentistry since molecular biology is playing a role of great importance in the identification in more complex cases where biological traces are virtually nonexistent. DNA analysis bear some advantages over the conventional identification methods. The DNA from biological samples can be found in samples of blood, bones, semen, hair, teeth, nails, saliva, urine and other biological fluids. In cases where the bodies are in an advanced state of decomposition, charred or rotting, or even when identification can not be performed by traditional dental methods, teeth are the only elements that can be used to identify, for better resist than any human tissue for post mortem degradation, variations in pressure and temperature enabling the preservation of individual genetic identity. Thus the teeth and saliva are considered safe sources of obtaining DNA.

801

AUTOR CORRESPONDENTE:

Hassan Lavalier de Oliveira Lima
Rua Barão da Torre, 205/502, Ipanema, CEP: 22411-001,
Rio de Janeiro- RJ, Brasil

INTRODUÇÃO

A identificação humana por meio da análise do DNA representa um avanço revolucionário da Genética Moderna. Em pouco tempo tornou-se uma ferramenta indispensável na investigação criminal, sendo aceita rotineiramente em processos judiciais em todo o mundo¹. O perfil genético de um indivíduo, comumente utilizado na identificação humana, é baseado na combinação de diversos marcadores que são herdados de seus progenitores. Esses marcadores ou polimorfismos são considerados diferenças nas sequências de DNA entre os indivíduos. A análise de DNA incorpora inúmeras técnicas e princípios de muitos campos do conhecimento, tais como biologia molecular, bioquímica, genética e estatística. Sua utilização têm se tornado uma técnica forense padrão para a investigação e resolução de

vários tipos de crimes². A utilização do DNA em Medicina e Odontologia Forense tornou possível a identificação de despojos humanos através da análise de perfis de DNA polimórficos. A degradação voluntária, acidental, ou naturais post-mortem, bem como das condições ambientais, influencia o estado de conservação do corpo, tornando-se por vezes difícil a obtenção de material biológico adequado para a análise genética do DNA (por exemplo, o cabelo e o tecido mole). De acordo com suas características anatômicas e morfológicas, os dentes são particularmente resistentes às agressões externas e são, portanto, adequados para este tipo de pesquisa^{3,4,5}. Pelo fato de o esmalte dentário ser a substância mais dura do corpo humano, os dentes e suas estruturas frequentemente resistem a eventos *post mortem* que provocam a destruição de outros tecidos. Durante as duas últimas décadas, uma nova metodologia

foi incorporada e denominada de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR, do inglês Polymerase Chain Reaction) técnica desenvolvida por Kary Mullins em 1983 que permite a amplificação de quantidades minúsculas de DNA a concentrações aceitáveis para análise diagnóstica ^{6,7}. 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 dentária protegida por este arcabouço pode ser recuperada para extração do DNA ⁸. Outra característica importante é o fato do elemento dentário possuir quantidades suficientes de DNA para permitir a identificação humana, sendo a região radicular a que permite a maior recuperação de DNA. Outra amostra biológica de grande valor é a saliva, muito usada como fonte de DNA, devido ao fato de ser coletada sem dor e de maneira não invasiva ⁹. As células desprendidas da mucosa bucal 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 células da mucosa bucal na investigação de vínculo genético em crianças de pequena 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 e homicídios, dentre outros. A saliva se torna importante pelo fato que quando uma mordida é executada, 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 ¹⁰. A habilidade de recuperar sequências de DNA de ossos e dentes expostos por algum tempo a uma variedade de condições ambientais se tornou uma ferramenta valiosa para a identificação de indivíduos desaparecidos e ossadas não identificadas. Várias técnicas de identificação estão disponíveis hoje, como impressões digitais, perfis de DNA e a comparação das estruturas dentárias, porém nem todos os métodos de identificação são igualmente úteis na prática e na identificação final, sendo frequentemente utilizada uma combinação de várias técnicas. Diante do exposto acima, é notório que a utilização dos testes de perfil de DNA em Odontologia Legal oferece uma nova perspectiva na identificação humana e devem definitivamente ser adicionados à constelação de recursos de investigação das ciências forenses.

O presente estudo tem como objetivo realizar uma pesquisa bibliográfica sobre a aplicabilidade do DNA como método de identificação forense em Odontologia Legal.

METODOLOGIA

A pesquisa é caracterizada, metodologicamente, como exploratória retrospectiva da literatura disponível. Baseia-se na revisão não exaustiva da literatura nacional e internacional sobre o tema, apoiada pelas bases de dados literários disponíveis na atualidade.

REVISTA DA LITERATURA

Os questionamentos sobre a origem da vida emergiram em várias civilizações e culturas, ao longo do tempo, tendo como objetivo obter conhecimento sobre o mundo natural e o desenvolvimento de técnicas que garantissem sua sobrevivência ¹¹.

Em 1839, Mathias Schleiden e Schwann propuseram a teoria celular, que estabelecia que a célula fosse a unidade básica de constituição dos organismos e que as mesmas eram produzidas por células pré-existentes. Em 1859 o britânico Charles Darwin publicava sua grande obra, *A Origem das Espécies*, na qual descreve a seleção natural como mecanismo primário da evolução, considerada o paradigma central para explicação de diversos fenômenos na biologia. Em 1866, a genética dava os seus primeiros passos graças ao trabalho do monge austríaco Gregor Mendel, que formulou as leis da hereditariedade. Oswald Avery, em 1943, mostrou que era o DNA e não as proteínas, que compunham o material genético dos cromossomos. Em 1953, James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins e Rosalind Franklin demonstraram o funcionamento e a estrutura em dupla hélice do DNA. Deste modo, ficou claro que a informação genética está armazenada na forma de duas fitas diretamente complementares compostas por letras de um alfabeto de quatro símbolos ¹².

O ácido desoxirribonucleico foi descoberto em 1869 pelo bioquímico suíço Johann Friedrich Miescher (1844-1895), que desenvolveu vários estudos importantes, principalmente no que se refere à hemoglobina. Desde então, não se conhecia a estruturação tridimensional do DNA e nem como poderia ser sua configuração molecular. Em 1951, em Nápoles, sul da Itália, Francis Crick (biólogo molecular, biofísico e neurocientista britânico) conheceu James Watson, (biólogo molecular, geneticista e zoologista americano), dando início a uma parceria que, dois anos mais tarde, seria responsável por uma das mais importantes descobertas das ciências biológicas: juntos, elaboraram o modelo da dupla hélice para a molécula de DNA ^{11,13}.

Atualmente se sabe que as duas cadeias polinucleotídicas são rigorosamente complementares: se houver uma base nitrogenada do tipo adenina (A) em uma das cadeias, haverá, na outra cadeia, na mesma posição, uma timina (T). Da mesma forma, se houver uma citosina (C) em uma das cadeias, haverá uma guanina (G) na posição correspondente da cadeia complementar. Os nucleotídeos de uma das cadeias da molécula de DNA mantêm-se unidos aos nucleotídeos da outra cadeia por ligações de hidrogênio, estabelecidas entre as bases: a adenina liga-se especificamente à timina, e a citosina liga-se especificamente à guanina ^{7,14}.

O DNA determina o que uma célula tem, e possui informações de controle não só da célula em si, mas também (e principalmente nos seres multicelulares) da relação com as demais células. O material responsável pelo comando e coordenação de toda a atividade celular e pelas divisões celulares e transmissões das características hereditárias está organizado nas células em unidades conhecidas como cromossomos, que, por sua vez, compõem o genoma de um organismo. Cada cromossomo é constituído por uma longa fita dupla de DNA. O DNA contém genes, promotores, sequências repetitivas, RNA (Ácido Ribonucleico) não codantes, mas que são expressos, etc. Os genes são sequências compostas de éxons e íntrons que, após a transcrição, são traduzidas em proteínas¹¹.

De acordo com DIAS¹⁵ a identificação de casos criminais até a década de 1980 era baseada somente em análises sorológicas de polimorfismo de proteínas, grupos de sangue e alguns marcadores genéticos. O exame forense em amostras de fatores biológicos iniciou-se no início do século XX, por aplicação do sistema de grupo sanguíneo ABO em evidências relacionadas a crimes ou identificação humana. As provas de identificação individual pelo uso de testes de grupo sanguíneo ganhou valor legal nos tribunais alemães em 1920, sendo legalmente aceito nos Estados Unidos apenas em 1935. No Brasil, estes exames tiveram valor legal com a primeira investigação de paternidade em 1948. Estes sistemas têm sido substituídos na maioria dos centros e são raramente empregados nos dias atuais¹³.

A análise do DNA revolucionou a ciência forense e se transformou em um instrumento dominante na aplicação da lei. Atualmente, a evidência do DNA é a chave para a condenação ou exoneração de suspeitos de vários tipos de crime, do roubo ao estupro e assassinato¹.

O DNA é o material genético nuclear de todos os seres humanos e está presente em todas as células do nosso organismo dando a cada indivíduo suas características, que podem se manifestar ao longo de sua vida. Ele determina as características de cada indivíduo, fazendo com que haja uma individualização, e pelo fato de estar presente em qualquer fluido ou resíduo humano, sua aplicação como prova forense está em grande evidência, justamente pela comparação entre as amostras biológicas colhidas na cena do crime com a do suspeito. A comparação desses perfis genéticos poderá determinar a inocência, se forem diferentes, ou a culpabilidade do(s) mesmo(s), se forem iguais¹⁶.

BONACCORSO¹⁷ descreveu algumas vantagens da aplicação do exame de DNA. A primeira e principal importância é a possibilidade de sua aplicação sobre toda e qualquer fonte de material biológico. Entretanto, com estudos de DNA qualquer quantidade com ínfima porção de material biológico, incluindo o sangue, cabelos, ossos, saliva, sêmen, tecido, urina, ou qualquer outro fluido biológico, pode ser analisada para associar um suspeito ao crime. A segunda e mais ampla vantagem do exame de DNA é seu potencial discriminatório. A terceira vantagem do DNA é sua resistência aos fatores ambientais, pois é uma molécula robusta, relativamente resistente aos ácidos, álcalis e detergentes, diferentemente dos determinantes

proteicos, lipídicos e carboidratos. Observou que a informação da tipagem do DNA independe da conformação da molécula. Consequentemente, os exames com DNA, diferentemente dos marcadores sorológicos tradicionais, podem ser realizados com maior segurança em amostras muito antigas e que estiveram expostas a maiores agressões ambientais, como por exemplo, a temperatura.

O uso desta tecnologia nos Estados Unidos teve início em casos criminais no ano de 1988. Com o surgimento de implicações científicas e legais foi criado, em 1989, o National Research Council (NRC) Committee on DNA Technology in Forensic Science (Comitê do Conselho Nacional de Pesquisa sobre Tecnologia do DNA na Ciência Forense), que tem como objetivo de clarificar e desmistificar o uso desse meio de prova. Em relatório datado de 1992, esse Conselho advoga pelo uso da tipagem do DNA na análise forense, considerando-o um progresso importante no campo da investigação criminal. No Brasil, a presença do DNA no âmbito forense ocorreu somente em 1994, com a criação da Divisão de Pesquisa de DNA Forense vinculado à Polícia Civil do Distrito Federal. Os casos inicialmente analisados por esse órgão restringiram-se a homicídios ou a investigações de paternidade, sem contar os casos de identificação de pessoas desaparecidas à época do regime militar, solicitados por parentes. O conhecimento para o implemento desta tecnologia fora adquirido dos Estados Unidos, a partir de cursos ministrados pelo Federal Bureau of Investigation (FBI). Desde então, intensificou-se o uso do DNA com prova forense¹⁸.

É necessário um conhecimento mínimo sobre as técnicas de estudo para extração e identificação sequencial do DNA sendo de fundamental importância, pois evita que sejam valorizados exames feitos de forma não idônea⁷.

A análise dos vestígios deixados na cena de crime é necessária para a identificação do criminoso e para a resolução dos casos investigados pelos peritos criminais, sendo a análise do DNA um dos métodos mais confiáveis para a identificação humana. Qualquer que seja a técnica de reconhecimento, não há um resultado eficiente sem que haja dois elementos fundamentais: a evidência e o objeto de comparação. Nos casos criminais, a evidência é o material biológico encontrado em um local de crime e o objeto de comparação é o acusado de ter praticado o delito ou a própria vítima¹⁹.

Existem diversas técnicas de identificação pelo DNA, como a amplificação dos fragmentos de polimorfismo de comprimento pela técnica da reação em cadeia da polimerase (AmpFLP), também chamada de amplificação das repetições seguidas de números variados (VNTR por PCR), as técnicas de *Dot Blotting*. Contudo, as técnicas de restrição dos fragmentos de polimorfismo de comprimento (RFLP) de minissatélites (VNTR por RFLP) e de PCR de microsatélites (PCR de STR), sem dúvida alguma, são as técnicas mais comumente utilizadas em genética forense. A reação da polimerase em cadeia possibilita a amplificação de pequenas amostras de DNA até um nível grande o suficiente para permitir a identificação. O conceito da amplificação do DNA por essa técnica é simples, entretanto

o seu impacto nas ciências biológicas foi extraordinário, tanto que em 1993, seu criador KARY MULLIS recebeu o prêmio Nobel de Química^{6,7}.

A identificação a partir do DNA é o método mais confiável de identificação humana, mas seu alto custo e a dificuldade de localizar parentes próximos que possam ser utilizados para estabelecer vínculo genético com a vítima, limitam sua utilização na identificação pessoal. Em situações nas quais ocorrem incêndios, explosões, que restringem a recuperação de informações a partir de restos mortais, os dentes apresentam-se como material eletivo para análise de DNA, sendo a polpa dentária uma excelente fonte. Na há uma uniformização dos protocolos a serem empregados na extração do DNA a partir de dentes submetidos ao calor, nem se tem claro qual é a possibilidade de recuperação de DNA desses dentes^{7,11,14}.

Existem vários líquidos e tecidos corporais para extração do DNA, que utilizam diferentes metodologias e espécimes biológicos. O sangue é o melhor material utilizado para extração de DNA porque é fonte abundante de informação genética e por fornecer amostra fresca para análise. No entanto, muitos outros materiais podem ser efetivamente analisados: células epiteliais da mucosa oral; unhas, pêlos e fios de cabelo (região do bulbo capilar); manchas de material biológico (líquido seminal, urina, saliva) em vidro, faca, têxtil; ossos carbonizados, ossadas ou dentes; material anatomopatológico; e inclusive células deixadas por impressão digital em selos, filtros de cigarro, copos, talheres e telefone⁷.

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 pois mesmo se o dente estiver fragmentado é possível fazer a coleta e análise do DNA^{3,5,15}.

A atuação da Odontologia Legal não se restringe a análise, perícia e avaliação de eventos relacionados com a área de competência do Cirurgião Dentista podendo, se a circunstância o exigir, estender-se a outras áreas, se disso depender à busca da verdade no estrito interesse da justiça e da administração. Desde modo 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 fim¹⁴.

Os elementos dentais são importantes no processo de identificação humana podendo compor a peça chave para a elucidação de casos periciais em que há o desconhecimento do indivíduo por falta de história jurídica e/ou familiar, médica

e/ou odontológica. O emprego dos métodos de identificação é necessário tanto em indivíduos vivos como em cadáveres, restos cadavéricos, esqueletos, ossada e até mesmo em objetos, armas e vestes. Sabe-se, também, que o tempo de preservação da estabilidade da polpa dental varia de quatro dias a duas semanas, dependendo das variações ambientais, existindo três condições para que a polpa dental seja conservada: condições de degradação do DNA *post-mortem*; condições em que foi feito o sepultamento, e questões relacionadas à *causa mortis*. E, ao encontrar cadáveres, ou parte deles, carbonizados, submersos ou enterrados, sofrendo, portanto, a ação de fatores ambientais, é possível interferência em informações biológicas tais como a quantidade de DNA viável para exame, condições dentais, presença de microorganismos, degradação física química²⁰.

Foi realizado um estudo dos casos de afogamento, revalidando os registros do Instituto Médico Legal Nina Rodrigues, na cidade de Salvador-BA, com o objetivo de verificar o potencial de recuperação de DNA em 40 dentes humanos imersos em água doce e salgada. O DNA foi recuperado em 37,5% das amostras, a maioria dos dentes imersos em água doce. A análise em gel de poliacrilamida em amostras que foram amplificadas em gel de agarose permitiu a identificação correta do gênero em 83,3% dos casos. No entanto, observou-se perda de alelos em amostras de duas vítimas, prejudicando a determinação do sexo e a exposição dental à água interferiu na recuperação de DNA⁸.

Uma avaliação de diferentes tecidos dentais (polpa, dentina e cimento) como fontes de DNA foi realizada para análise forense. Foi utilizado um total de 20 dentes obtidos a partir de corpos não identificados enterrados no Cemitério Central em Bogotá em 1995 e exumados em 2000. Os tecidos de três dentes obtidos após a cirurgia foram utilizados como controle. A cavidade da polpa foi exposta após o corte de cada dente com uma peça manual de alta velocidade. A polpa foi removida e processada separadamente da dentina e do cimento. A dentina e o cimento foram obtidos através da utilização de alta velocidade e colocados em tubos separados. O DNA foi extraído a partir de tecidos mineralizados, após descalcificação com EDTA (ácido etilenodiaminotetracético). O DNA foi quantificado por hibridação e realizada a reação em cadeia de polimerase para a região do DNA mitocondrial, seguido por eletroforese em gel para avaliar a quantidade e a eficiência da amplificação. Desse modo concluiu-se que os cementoblastos e odontoblastos localizados dentro do cimento e dentina estão rodeados pela matriz mineral da estrutura dental e, assim, protegido de quaisquer forças de degradação ambiental, o que os torna fontes adequadas para a análise de DNA²¹.

Os métodos rotineiros de identificação pessoal incluem: reconhecimento visual de vestuário e objetos pessoais pelos familiares; impressões digitais; investigação médica, investigação odontológica, lesões buco-dentais: características de dentição, radiologia, rugoscopia palatina, mordedura, superposição de imagens, DNA e outros²².

Apontada como a grande revolução científica na esfera forense desde o reconhecimento das impressões digitais como

uma característica pessoal, as técnicas de identificação fundamentada na análise do DNA ostentam duas vantagens sobre os métodos convencionais de identificação, a estabilidade química do DNA mesmo após longo período de tempo e sua ocorrência em todas as células nucleadas do organismo humano, o que permite condenar ou absolver um suspeito com uma única gota de sangue, ou através de um único fio de cabelo encontrado na cena do crime. As amostras mais frequentes nos laboratórios para a realização de perícias são, pela ordem, o sangue (líquido ou sob forma de mancha seca), o sêmen (colhido no exsudado vaginal, peças íntimas ou manchas), os pêlos (no qual o DNA está concentrado na raiz) e os objetos com saliva (as salivas não contêm células, mas nela podem ser encontradas células epiteliais da cavidade bucal, os quais possuem DNA), restos cadavéricos, amostras de músculos, ossos e polpa dentária^{1,7}.

A utilização da análise de DNA para identificar restos mortais é um processo de cinco passos que segundo o Comitê Internacional da Cruz Vermelha envolve:

- obter (coleta, armazenagem e extração) do DNA de restos mortais;
- obter o DNA, para análise comparativa, dos parentes da pessoa desaparecida, ou de outras fontes como cabelo, manchas de saliva ou outro material biológico sabido pertencer à pessoa desaparecida e anterior ao seu desaparecimento.
- gerar um perfil de DNA dos restos mortais e das amostras de referência;
- comparar os perfis de DNA; e decidir o grau de vinculação que é compatível com a suposta relação entre a pessoa falecida e o parente (ou outro material de referência), levando em conta outras provas¹.

O DNA nuclear extraído de sangue fresco, de amostras bucais (bochechas) ou de tecidos pode ser analisado fácil e rapidamente desde que as condições de armazenamento antes das análises tenham sido adequadas. No passado, era difícil extrair DNA nuclear apropriado de material ósseo fresco e, nos casos em que as condições de preservação eram adequadas, de material antigo. A comparação mais poderosa é feita na situação em que o DNA nuclear de qualidade pode ser coletado de material biológico como cabelo ou saliva deixados pelos indivíduos antes de sua morte, o que permite que seja comparado com os restos; ou ainda quando vários parentes próximos estão disponíveis para os exames. O DNA nuclear não pode ser utilizado facilmente com parentes que não são próximos. O ideal é que pais e filhos sejam usados para a comparação¹.

O mundo passou por uma infinidade de desastres de massa nos últimos anos: atos de terrorismo, atentados, terremotos, furacões, tufões, acidentes aéreos e outros percalços de transporte, para não mencionar os conflitos armados e os imigrantes que se afogaram no Mar Mediterrâneo. Ao analisar desastres de massa até o momento, as principais

dificuldades não mudaram: (1) um grande número de seres humanos fragmentados, misturados e queimados permanece; (2) dificuldade em determinar quem estava envolvido no desastre; (3) aquisição de úteis registros médicos e dentários e radiografias; (4) questões legais, jurídica, organizacional e política; (5) documentação interna e externa e os problemas de comunicação; (6) aplicação de códigos universais de identificação humana. A Odontologia Legal desempenha um papel importante na identificação de vítimas. DNA e identificação dental de restos humanos dependem da disponibilidade suficiente de informações ante a morte.²³

Para avaliar a qualidade do DNA obtido de saliva humana armazenada e sua aplicabilidade da identificação de pessoas CARVALHO *et al.*¹⁰ analisaram amostras salivares de 20 indivíduos, coletadas nas formas de saliva in natura e de swab bucal, sendo armazenadas a 20°C. Após 7 dias, o DNA foi extraído das 40 amostras de saliva e submetido à PCR e à eletroforese. Após 180 dias repetiu-se a técnica nas 20 amostras de swab. Os resultados da primeira etapa indicaram que o DNA foi extraído com sucesso em 97,5% das reações, e, analisando-se separadamente, em 95% de saliva in natura e em 100% da saliva do swab, não havendo diferenças estatisticamente significantes entre as duas formas de saliva. Na segunda fase, o resultado foi positivo para as 20 amostras analisadas (100%). Desse modo concluiu-se que a quantidade e a qualidade do DNA advindo de saliva e as técnicas empregadas estão adequadas à análise forense do DNA.

Em casos de desastre em massa os cadáveres sofrem ações destruidoras pela ação de agentes mecânicos, físicos ou químicos, dificultando o processo de identificação em função do estado em que normalmente os corpos são encontrados mutilados, carbonizados ou putrefados, o que torna impossível a utilização dos procedimentos normalmente utilizados no reconhecimento das vítimas, tais como a datiloscopia, fotografias e documentos de identidade. Dentro das metodologias de identificação pôde-se verificar que a identificação através do DNA é sem dúvida alguma, o método de maior confiabilidade para a identificação, entretanto possuem limitações como o alto custo e a dificuldade de localizar parentes próximos da vítima, para estabelecer o vínculo genético com a vítima, de forma que a pessoa possa ser positivamente identificada²³.

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 percentual de identificação. Apesar do advento do DNA e outros métodos de identificação, no 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 observado, a tipologia dos desastres em massa pode ser muito diversa, porém são nos acidentes aéreos em seu maior percentual, onde a Odontologia Forense é de suma importância para a identificação das vítimas. Seria interessante um protocolo de trabalho para o Odontologista, no qual destaca-se a importância do armazenamento de material ósseo e dentário, caso haja necessidade de se realizar um exame de DNA²³.

DISCUSSÃO

O uso de testes de perfil de DNA em Odontologia Legal oferece uma nova perspectiva na identificação humana. Técnicas de biologia molecular vêm definitivamente sendo adicionados à constelação de recursos de investigação das ciências forenses, fornecendo uma variedade de ferramentas para a prática da Antropologia Forense na pesquisa da identidade humana, especialmente quando os métodos de identificação habituais falham devido aos efeitos deletérios do calor, trauma ou processos autolíticos que acometem os corpos.

Na literatura científica inúmeros trabalhos têm sido publicados acerca do DNA e a sua aplicação na Antropologia Forense. O surgimento da técnica do DNA permitiu uma grande mudança no meio científico e no meio forense. A importância estabelecida da Odontologia Legal para identificação humana, principalmente quando há pouco material restante para realizar tal identificação (por exemplo, em incêndios, explosões, corpos em decomposição ou corpos esqueletizados), levou os Dentistas que trabalham com investigação forense tornar-se mais familiarizados com as novas técnicas de biologia molecular. Os testes de DNA atualmente disponíveis têm alta confiabilidade e são aceitos como provas legais em tribunais, com o que concordam MYAJIMA¹⁹, FRARI²⁴, SHAMBULINGAPPA et al.¹³.

A identificação pelo DNA, com seu poder extremamente elevado para diferenciar um ser humano do outro, apresenta um amplo conjunto de princípios e técnicas que são universalmente aceitos. O DNA apresenta uma alta estabilidade química mesmo após um longo período de tempo ou depois de sofrer alterações de temperaturas e outros contaminantes, e está presente em todas as células nucleadas do organismo humano, o que facilita a obtenção do mesmo, o que está de acordo com VANRELL¹⁴, CARVALHO et al.¹⁰. Além disso, somente pequenas quantidades de DNA são suficientes para a identificação de um indivíduo, especialmente se forem empregados métodos que utilizam a PCR, cuja utilização revolucionou a genética molecular por ser uma das técnicas mais comuns utilizadas em laboratórios de pesquisas médicas e biológicas para diversas tarefas, tais como o sequenciamento de genes e diagnóstico de doenças hereditárias, identificação de fingerprint genético e na medicina forense, onde pequenas amostras de DNA retiradas da cena de um crime (pedaços de cabelo que contenham bulbo, gotas de sangue ou saliva, pedaços de pêlo ou até mesmo a minúscula quantidade de DNA deixada em uma impressão digital) são amplificadas para serem analisadas pelo método de *fingerprinting*.

Desde sua introdução, a tecnologia da PCR tem sido reconhecida como uma ferramenta de diagnóstico rápida, sensível e específica e pode ser aplicada a qualquer situação que exija amplificação de DNA para que ele possa ser detectado, principalmente, quando a quantidade de DNA é limitada. Apesar de ser o método mais confiável, a identificação através de DNA é dispendiosa, depende da localização de parentes próximos que possam ser utilizados para estabelecer vínculo genético com a vítima a ser identificada confirmando o estudo de VIEIRA et al.⁷. A tipagem do polimorfismo do DNA através da reação em cadeia da polimerase (PCR) pode ser efetuada com o DNA de algumas poucas células, de longe superando a sensibilidade dos exames tradicionais.

Na literatura pesquisada ressaltam-se inúmeras vantagens da utilização DNA na identificação pela possibilidade de sua aplicação sobre toda e qualquer fonte de material biológico, podendo ser utilizado pequenas quantidades de qualquer material biológico, incluindo o sangue, cabelos, saliva, sêmen, tecido, urina ou outro fluido biológico e possui sensibilidade e resistência aos fatores ambientais. Outra vantagem do exame de DNA é seu potencial discriminatório, diferentemente dos exames envolvendo o grupo sanguíneo ABO. Os exames com DNA, diferentemente dos marcadores sorológicos tradicionais, podem ser realizados com maior segurança em amostras muito antigas e que estiveram expostas a maiores agressões ambientais, com o que concorda BONACCORSO¹⁷.

A Odontologia Legal permite uma grande aproximação entre os profissionais envolvidos na clínica e na pesquisa científica, podendo, num futuro próximo ampliar, de um lado a qualidade do diagnóstico e tratamento, e de outro, as chances de investigação efetiva em doenças bucais através da expressão gênica de populações e indivíduos. Apresenta-se de suma importância nos casos de identificação humana, oferecendo informações importantes durante a investigação criminal. Frequentemente, os peritos utilizam elementos comparativos anteriores à 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 e estatura do corpo, mesmo assim não sendo suficientes para a identificação humana. Entretanto, o exame de DNA pode ser usado juntamente com essas técnicas tradicionais, obtendo-se ótimos resultados.

O perfil genômico e o gênero de diferentes seres humanos, a partir da análise do DNA obtidos de polpas dentais, com a utilização da técnica de PCR tem sido utilizados por VIEIRA et al.⁷ e REMUALDO²⁵ que concordam que as polpas dentais são um dos poucos materiais orgânicos disponíveis para análise do DNA em alguns casos especiais, tais como: vítimas de acidentes aéreos e corpos carbonizados ou putrefeitos.

Essas afirmativas estão de acordo com o trabalho de SILVA et al.⁵ que avaliaram a extração de DNA a partir da polpa dentária e chegaram a conclusão que não havia nenhuma

correlação entre o tempo de armazenamento de amostras e da quantidade de DNA obtido das amostras. Em um estudo similar, Remualdo²⁵ avaliou a amplificação por PCR de DNA obtidas a partir de dentes submetidos ao calor (a 200 ° C, 400 ° C, 500 ° C e 600°C) durante 60 minutos, sendo testados três métodos de extração (orgânicos; isopropílico de amônio/acetato de etilo, e sílica). O método de isopropilo/acetato de amônio produziram os melhores resultados para a extração do DNA mitocondrial.

Por conseguinte, existe uma preocupação sobre garantir a preservação da amostra biológica de DNA para a extração e análise, e estes passos são especificados nos poucos regulamentos existentes, tal como o utilizado pelo FBI, especialmente porque a técnica de PCR permite a amplificação do DNA a partir de uma única célula, mesmo se for degradada. Além disso, outros cuidados ao realizar reações de PCR para evitar a contaminação das amostras, como o isolamento físico da área de preparação de PCR e dos reagentes utilizados, bem como o controle da temperatura, umidade e pH e correta escolha de negativo e os controles positivos ajudaram MALAVER & YUNES²¹ em seu estudo com diferentes tecidos dentais como fontes de DNA para análises forenses. A polpa produziu sinais mais fortes de amplificação por PCR, enquanto que sinais de cimento e dentina foram muito semelhantes um ao outro. Este efeito era esperado, uma vez que o cimento possui pouco teor de matéria orgânica altamente mineralizado.

Nesse mesmo contexto, o DNA salivar como objeto de estudo para identificação humana foi objeto de vários estudos documentando a possibilidade de seu uso, dentre os quais citamos CARVALHO et al.¹⁰ e DOLINSKY et al.¹. Entretanto, poucas publicações foram feitas correlacionando o DNA salivar e as superfícies sobre o qual é depositado. No estudo de ANZAI - KANTO et al.⁹ foi utilizada a saliva obtida de voluntários e recuperada da pele para extração de DNA com o objetivo de avaliar a sua utilidade para a investigação de casos práticos o qual indicou que a análise da saliva depositada sobre a pele pode ser incorporada numa investigação criminal, uma vez que pode ter um grande poder discriminatório.

Os dentes, principalmente a polpa dentária, são importantes fontes de DNA, pois resistem melhor do que qualquer tecido humano a diversos tipos de degradação possibilitando a preservação da identidade genética individual, com o que concordam OLIVEIRA et al.⁸.

Pode-se dizer que os estudiosos do assunto são unânimes no que diz respeito à fundamental contribuição da Odontologia Legal nos processos de identificação humana ante e post-mortem. Esta contribuição está presente desde os procedimentos iniciais de identificação geral até a incontestável possibilidade de identificação individual. Estabelecer a identidade de uma pessoa pode ser um processo muito complexo, e um dos principais objetivos da ciência forense. Os avanços tecnológicos rápidos em pesquisa de DNA revolucionaram o campo da medicina forense e proporcionaram uma visão para os recentes conceitos de perfis de DNA em Odontologia Forense. Os perfis de DNA fornecem

uma identificação exata de um indivíduo em desastres de massa, identificação de culpados em investigações da cena do crime e resolvem problemas de paternidade, fornecendo informações sobre as características físicas, etnia e ajudam na determinação do sexo. Desse modo, as técnicas de biologia molecular devem ser adicionadas à constelação de recursos de investigação das ciências forenses, fornecendo uma variedade de ferramentas para a prática de Antropologia Forense na pesquisa da identidade humana.

CONCLUSÕES

Baseado na análise da literatura disponível sobre o DNA e sua aplicabilidade em Odontologia Legal parece-nos lícito concluir que:

1. O uso de testes de perfil de DNA em Odontologia Legal oferece uma nova perspectiva na identificação humana e devem ser adicionados à constelação de recursos de investigação das ciências forenses;
2. Os testes de DNA atualmente disponíveis têm alta confiabilidade e são aceitos como provas legais em tribunais;
3. A resiliência das estruturas dentais à agressão post-mortem, os dentes e a saliva como fonte de DNA são amplamente utilizados na identificação forense, não apenas em situação de fatalidade única, mas também em casos fatais de massa e em casos de pessoas desaparecidas.

REFERÊNCIAS

1. Dolinsky, L C et al. DNA forense. *Saúde Amb. Rev. Duque de Caxias*, 2007, 2(2):11-22.
2. Marano, L A et al. Polimorfismos genéticos e identificação humana: o DNA como prova forense. *Gen. na Escola, Ribeirão Preto*, 2010, 5 (1): 53-56.
3. Manjunath B C et al. DNA profiling and forensic dentistry - a review of the recent concepts and trends. *J Forensic Leg Med*, 2011, 18(5): 191-7.
4. Schwartz T R et al. Characterization of deoxyribonucleic acid (DNA) obtained from teeth subjected to various environmental conditions. *J Forensic Sci*, 1991, 36: 979-990.
5. Silva, R H A et al. Use of DNA technology in Forensic Dentistry. *J. Appl. Oral Sci.* 2007, 15(3): 156-61.
6. Cury, P A et al. Técnica e aplicação da reação de polimerase em cadeia na área de odontologia. *Rev Odont Araçatuba*. 2005, 26 (2):34-39.
7. Vieira, G S. et al. Análise de DNA em Odontologia Forense. *Arq. Bras. Odontol.* 2010, 6(2): 64-70.
8. Oliveira, T H G et al. O ADN: uma sinopse histórica. *Rev Bras Ens Bioq e Biol Mol*, 2004, 1 (1):13-23.
9. Anzai-Kanto E et al. DNA extraction from human saliva deposited on skin and its use in forensic identification procedures. *Braz Oral Res*, 2005, 19(3): 216-22.
10. Carvalho, S P M et al. Quality evaluation of DNA obtained from stored human saliva and its applicability to identification in Forensic Dentistry. *Rev Odont Cienc.*, 2010, 25(1): 48-53.

11. Faria, L C B . Existências de Códigos Corretores de Erros e Protocolos de Comunicação em Sequências de DNA (Tese Doutorado- Fac. Eng. Elet. e Computação). São Paulo: Universidade Estadual de Campinas, 2011.
12. Andrade, M A S. A et al. O modelo de DNA e a Biologia Molecular: inserção histórica para o Ensino de Biologia. *Filos. e Hist. da Biol.*, 2009, 4 (1): 139-165.
13. Shambulingappa, P. Use of DNA technology in Forensic Dentistry. *J. Forense Res.* 2012, 3(7):1-5.
14. Vanrell, J P. *Odontologia legal & Antropologia Forense*. 2ª. ed. Rio de Janeiro. Ed. Guanabara Koogan, 2012. Cap. XV, 321-330 .
15. Dias, F.D. A importância do DNA como método de identificação forense na odontologia legal. (Monografia). Manaus: Universidade Federal do Amazonas; 2009.
16. Koch, A. Andrade, F M. Utilização de técnicas de biologia molecular na genética forense: uma revisão. *Rev Bras An Ci*, 2008, 40(1): 17-23.
17. Bonaccorso, N. *Análise Forense de DNA*. São Paulo: 2004. 24p. (Monografia apresentada no Concurso de Ingresso para professor da ACADEPOL) Academia de Polícia de São Paulo. Disponível em: <http://www.peritocriminal.com.br/dnaforense.htm>. 2006. Acesso em 08/01/2013.
18. Neto, J. B. A. Banco de dados genéticos para fins criminais: aspectos jurídicos (Monografia). Rio Grande do Sul: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2010.
19. Miyajima, F.; Daruge, E.; Daruge Júnior, E. A importância da odontologia na identificação humana: relato de um caso pericial. *Arq Cent Estud Curso Odontol Univ Fed Min. Gerais*; 2001, 37(2): 133-142.
20. Menon, L. M. L. et al. *Tanatologia forense e odontologia legal: interface e importância na rotina periciais*. São Paulo., *Odonto.UMESP*, 2011. 19 (37):15-23.
21. Malaver P.C; Yunis J.J. Different dental tissues as source of DNA for human identification in forensic cases. *Croat Med J.* 2003, 44(3): 306-9.
22. Santos, L. S. M. Viabilidade da utilização de amostras biológicas obtidas de dentes humanos para obtenção de perfis genéticos de DNA.(Dissertação). Piracicaba : Universidade Estadual de Campinas, 2009.
23. Leite, M. M. et al. A importância da atuação do odontologista no processo de identificação humana de vítimas de desastres aéreos. *Rev. Odontol. Bras. Central*, 2011, 20(52): 52-58.
24. Frari, P. et al. A importância do odontologista no processo de identificação humana de vítima de desastre em massa. Sugestão de protocolo de exame técnico-pericial. *Rev. Odonto., S Ber Campo*, 2008, 16 (31):38-44.
25. Remualdo, V.R. Avaliação de três métodos de extração de DNA de dentes humanos submetidos ao calor / DNA extraction of human teeth submitted to high temperatures: evaluation of three methods (Dissertação). São Paulo, Universidade de São Paulo, 2004. 75 p.