

AMOSTRAS ÓSSEAS HUMANAS COMO FONTE DE DNA PARA IDENTIFICAÇÃO EM CONTEXTOS FORENSES

HUMAN BONE SAMPLES AS A DNA SOURCE FOR FORENSIC IDENTIFICATION

Yasmin Lima Lourenço Da Silva, Carolina Rodrigues Lincoln de Carvalho

Universidade Santa Cecília, Faculdade de Biomedicina, Curso de Biomedicina

E-mail para contato: yasminmomi26@gmail.com; crlcarvalho@unisanta.br

RESUMO – A extração de DNA de ossos é uma alternativa significativa em casos mais complexos no cenário investigativo forense, sobretudo em situações em que há maior degradação em tecidos que poderiam apresentar material viável. Ainda que fatores ambientais como temperatura e umidade afetem a preservação do material genético, métodos de extração adaptados, permitem a recuperação de perfis de DNA mesmo que em condições adversas. Logo, o DNA de amostras ósseas mantém-se como recurso promissor para a perícia criminal em cenários desafiadores.

Palavras-chave: DNA; Fatores ambientais; Degradação; Ossos; Métodos.

ABSTRACT – DNA extraction from bones is significant alternative in more complex cases in the forensic investigation scenario, especially in situations where there is greater degradation in tissues that could present viable material. Although environmental factors such as temperature and moisture affect the preservation of genetic material, adapted extraction methods allow the recovery of DNA profiles even under adverse conditions. Therefore, DNA from bone samples remains a promising resource for forensic science challenging scenarios.

Keywords: DNA; Environmental factors; Degradation; Bones; Methods.

1 INTRODUÇÃO

A identificação humana, capaz de individualizar humanos e caracterizar códigos genéticos por meio do uso do DNA, aplica-se criteriosamente como etapa essencial em

investigações criminais na área da perícia criminal, pois serve de base para a condenação ou inculpabilidade de um suspeito (BRASIL, 2012; OLIVEIRA, J. L. M., 2013).

A utilização de técnicas da biologia molecular, como a reação em cadeia de polimerase (PCR), é amplamente consolidada e aplicada rotineiramente em laboratórios de caráter forense, permitindo a extração e amplificação de DNA a partir de variadas amostras biológicas humanas, como sangue, saliva e fios de cabelo (VIANA VALADARES FRANCO, J. et al., 2022). Todavia, em situações de maior complexidade, como acidentes em massa ou casos de desaparecimentos, frequentemente restam somente amostras ósseas para serem identificadas (SANTINHO CUNHA E FERREIRA, 2015).

Nessas circunstâncias, a análise do DNA ósseo expõe desafios limitantes e requer maior atenção, pois aspectos como o tempo de decomposição, eventos traumáticos e condições ambientais, podem comprometer a qualidade e acurácia do resultado obtido (LATHAM, K. E.; MILLER, J. J., 2018).

Apesar dos desafios, pesquisadores e especialistas em genética forense seguem em busca do aperfeiçoamento de técnicas e na integração de tecnologias modernas que melhore a eficiência da análise de DNA em tecidos ósseos. Diante disso, o presente estudo visa revisar os principais métodos empregados na extração de DNA de restos ósseos humanos, discutindo suas limitações e potenciais aplicações no campo forense.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de revisão bibliográfica de caráter descritivo, voltada à avaliação fundamentada de métodos de extração de DNA em amostras ósseas, direcionada a identificação humana na perícia criminal, baseada em literaturas científicas disponíveis. Dentre os artigos e arquivos científicos analisados, as fontes de referências utilizadas foram obtidas de endereços eletrônicos como PubMed, Google Scholar, ScienceDirect, MDPI, livros de referência no assunto e repositórios institucionais publicados nos últimos 13 anos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Fontes de DNA nos ossos

Na investigação de restos ósseos humanos, é frequente a ocorrência de coletas insuficientes de DNA, demonstrando ser um processo desafiador para a realização de sua análise. Para isso, é indispensável a seleção de matrizes esqueléticas adequadas que forneçam o DNA necessário, preservando o máximo de conteúdo ósseo possível (GERŠAK ET AL, 2019; PARKER ET AL, 2020; SIMÕES DUTRA CORRÊA ET AL, 2021; BOŽIČ ET AL, 2022).

Segundo Sobotta (2017), a classificação dos ossos é baseada principalmente em seu tamanho, forma, espessura e funcionalidade, categorizados em: ossos longos, curtos, irregulares, sesamoides, pneumáticos e planos, esses sendo diferenciados por seu tecido compacto ou esponjoso.

O fêmur, classificado como representante dos ossos longos, de tecido compacto e espesso, é amplamente utilizado na identificação forense, pois a presença de seu córtex espesso propicia a preservação do DNA (LATHAM KE, ET AL., 2013). Diferentemente de tarsos, carpos e patela, alguns dos representantes dos ossos curtos e sesamoides, que são mais suscetíveis à degradação em condições ambientais incompatíveis, já que são recobertos por uma fina camada cortical do tecido ósseo trabecular (SOBOTTA, 2018; GOLOB, A. ET AL., 2024; KRAVANJA, P. ET AL., 2025).

A parte petrosa do osso temporal, em destaque a capsula óptica, também é uma via de extração de DNA endógena altamente concentrada por sua elevada densidade mineral (PILLI, E. et al., 2018; HAARKÖTTER, C. et al., 2023). Todavia, raramente o osso petroso é recuperado como amostra e sua obtenção requer um procedimento altamente destrutivo, o que reforça a procura por fontes alternativas de DNA bem preservado (PINHASI, R. et al., 2015; PINHASI, R. et al., 2019; PARKER, C. et al., 2020).

Nesse contexto, comparações demonstram que ossos como vértebras, falanges, tálus e molares podem ser uma boa opção substituível para o osso petroso na obtenção de DNA (PARKER, C. et al., 2020). Apesar de maior suscetibilidade à degradação dos ossos

trabeculares por sua porosidade, a simplicidade na recuperação e quantidade endógena elevada de DNA, demonstram sua eficiência na análise forense (MUNDORFF, A.; DAVOREN, J. M., 2014; FINAUGHTY, C. et al., 2023).

3.2 Processamento e recuperação de DNA

O êxito da identificação genética forense em amostras ósseas depende diretamente da escolha técnica de extração e condições de preservação do material. Em cenas de crime, a recuperação de DNA a partir de restos ósseos humanos apresenta obstáculos adicionais quando comparado a análise de tecidos moles, uma vez que o material genético se encontra fragmentado, em quantidades insuficientes e regularmente favorável a possíveis contaminações ambientais. Desta maneira, interpretar os métodos disponíveis, fatores influenciáveis na preservação da qualidade e limitações do processo são cruciais para aperfeiçoar os resultados (LATHAM, K. E.; MILLER, J. J., 2018).

Técnicas tradicionalmente mais utilizadas baseiam-se na pulverização do osso em pó fino, efetuada com o auxílio de almofariz e nitrogênio líquido. Essa fase, busca expor uma área maior de superfície da matriz mineral, contribuindo para a ação de agentes desmineralizantes, como o EDTA (Ácido Etileno Diamino Tetracético, agente quelante que remove íons de cálcio da matriz mineral), favorecendo a liberação de partículas de DNA ligado a hidroxiapatita, mineral do tecido ósseo composto de fosfato de cálcio e hidroxila (LATHAM, K. E.; MILLER, J. J., 2018; CAMPOS, P. F. et al., 2012).

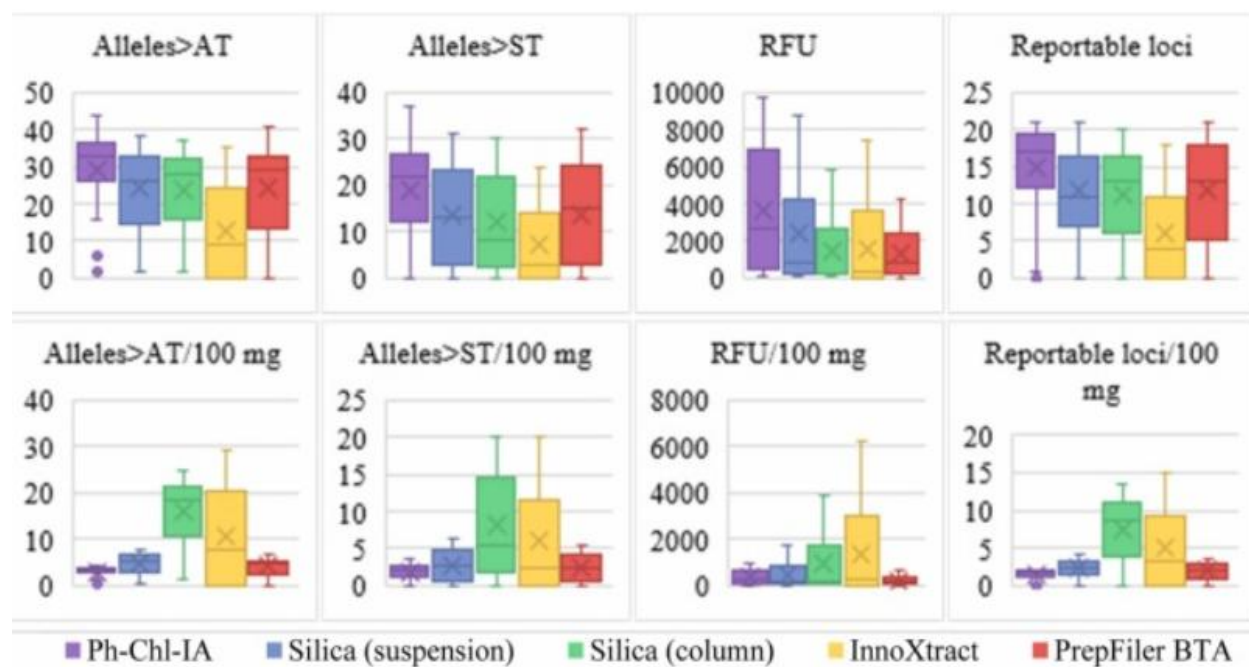
Ainda que esse procedimento seja consolidado e amplamente utilizado na análise forense, estudos comparativos revelaram que, quando processadas em pó, as amostras são menos eficazes quanto ao resultado do perfil STR (Short Tandem Repeat), técnica oriunda da genética molecular forense, que realiza a identificação humana através de curtas sequências de DNA. Diferentemente quando obtidas por cortes ósseos que podem apresentar melhores respostas (CAPUTO, M. et al., 2013). Outro transtorno observado é o co-isolamento de substâncias, como colágeno e íons metálicos, que alteram a PCR (Polymerase Chain Reaction), método molecular utilizado na amplificação de fragmentos de DNA. O cálcio, por exemplo, pode competir com o

magnésio por meio de reações enzimáticas, comprometendo a ação da enzima Taq polimerase e reduzindo a eficiência da amplificação (BUTLER, J. M., 2015; EMMONS, A. L. et al., 2020; RHODES, C. et al., 2025).

De outro modo, técnicas baseadas em sílica, tanto em colunas quanto em suspensão, têm apresentado maior eficiência na purificação e redução de contaminantes, favorecendo a geração de melhores perfis genéticos (HAARKÖTTER, C. et al., 2023).

Ainda assim, se faz necessário mais validações práticas em amostras de diferentes origens com cenários depredatórios distintos, para que sua aplicabilidade forense seja consolidada permanentemente. Isso, pois, apesar de avanços metodológicos e recorrentes estudos, ainda não existe um protocolo universalmente aceito como método padrão para extração de DNA em tecidos ósseos, já que a eficiência do resultado varia com o tipo de amostra óssea, o tempo post-mortem e o grau de exposição a contaminantes (DABNEY, J. et al., 2013; GLOCKE, I.; MEYER, M., 2017; NIEVES-COLÓN, M. A. et al., 2018; ROHLAND, N. et al., 2018; EPP, L. S.; ZIMMERMANN, H. H.; STOOF-LEICHSENRING, K. R., 2019).

Figura 1: Gráficos de parâmetros do perfil de DNA, tanto dados brutos.



Dessa maneira, embora a base sílica seja destaque como uma opção promissora, o fenol-clorofórmio se mantém como importante método por sua robustez e tradição no meio forense, justificando seu uso contínuo em laboratórios forenses. A figura 1 abaixo obtida a partir do estudo prático de Haarkötter et al. (2023), ilustra a diferença de eficiência entre as técnicas, demonstrando possível potencial da sílica em uso futuro em comparação ao método orgânico.

Cores utilizadas para comparar parâmetros de perfis genéticos entre diferentes métodos de extração de DNA: Roxo (Método Fenol-Clorofórmio com Isopropanol/Álcool); Azul (Sílica em suspensão); Verde (Sílica em coluna); Amarelo (Kit comercial InnoXtract); Vermelho (Kit comercial PrepFiler BTA).

3.3 Fatores que afetam a qualidade da amostra óssea

Uma gama de fatores ambientais influencia diretamente na preservação do material genético, seja em diferentes esqueletos, ossos distintos de um mesmo indivíduo ou até mesmo gerar variações no rendimento do DNA em um único osso. Em vista disso, o ambiente deposicional tende a ter maior impacto na degradação de moléculas em níveis e aspectos divergentes, do que a própria idade da amostra de DNA. Ademais, razões intrínsecas como a densidade óssea, grau de degradação e tipo de tecido ósseo, desempenham um papel decisivo na preservação do DNA (LATHAM, K. E.; MILLER, J. J., 2018; KRAVANJA, P. et al., 2025).

Razões externas como a temperatura do ambiente, grau de umidade em que a amostra se encontra, composição do solo e níveis de oxigênio são alguns dos fatores que são capazes de preservar ou degradar ainda mais o material genético da amostra óssea analisada. Uma exemplificação de como tal fator pode influenciar na condição da amostra, é a reação oxidativa do oxigênio que exerce o papel central nas mesmas, modificando bases nitrogenadas, podendo gerar lesões na fita de DNA. Esse mecanismo favorece a degradação do material genético ao provocar distorções na dupla hélice, reprimindo análises posteriores (LATHAM, K. E.; MILLER, J. J., 2018). Além disso, taxas de disponibilidade de oxigênio estão relacionados com o crescimento microbiano e sua decomposição, no qual ambientes mais oxigenados aceleram o

processo de degradação do DNA (BOOTH, T., & MADGWICK, R., 2016; WILLIAMS, R. ET AL., 2025).

Perante as informações dadas, observa-se que tanto a escolha da amostra óssea quanto o método de extração influenciam diretamente na recuperação e amplificação do material genético, sendo vigorosamente impactado por fatores ambientais e intrínsecos ao material ósseo. Embora a introdução de tecnologias modernas e pesquisa de métodos alternativos como aqueles à base de sílica, o fenol-clorofórmio permanece como a técnica de referência mais utilizada atualmente, devido a sua eficiência já comprovada. Contudo, não há uma decisão consolidada universalmente quanto ao uso de um método padrão que garanta resultados consistentes em diferentes cenários, reforçando então a demanda por referências e dissecções extras que avaliem a aplicabilidade e eficácia de diferentes procedimentos frente condições variadas de contaminação e degradação.

4 CONCLUSÃO

Em sumo, a revisão analítica das literaturas revela que não há protocolo universal para modelos de extração de DNA em ossos no campo forense, uma vez que o resultado eficaz depende do tipo de amostra óssea e condições ambientais em que os materiais em análise foram expostos. O fenol-clorofórmio, mesmo com suas limitações, mantém-se como técnica de referência entre laboratórios forenses, ao passo que metodologias baseadas em sílica e abordagens enzimáticas repontam como futuras escolhas promissoras. Tais progressos, contudo, corroboram com a exigência de estudos adicionais que habilitem maior padronização e utilidade prática, especialmente em casos criminais. Independente disso, ainda que haja restrições técnicas e circunstâncias deposicionais, o DNA de tecido ósseo se consolida como uma das mais relevantes fontes de referência informativa para a identificação humana na perícia criminal.

5 REFERÊNCIAS

- BOOTH, T. J.; MADGWICK, R. New evidence for diverse secondary burial practices in Iron Age Britain: A histological case study. **Journal of Archaeological Science**, v. 67, p. 14–24, mar. 2016.
- BOŽIČ, L. et al. Comparison of DNA preservation between ribs and vertebrae. *International Journal of Legal Medicine*, v. 136, n. 5, p. 1247–1253, 22 jun. 2022.
- BRASIL, Lei nº 12.654. Diário Oficial da União. Maio, 2012.
- BUTLER, J. M. Advanced topics in forensic DNA typing. [s.l.] Academic Press, 2015.
- CAMPOS, P. F. et al. DNA in ancient bone – Where is it located and how should we extract it? *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger*, v. 194, n. 1, p. 7–16, jan. 2012.
- CAPUTO, M. et al. A DNA extraction method of small quantities of bone for high-quality genotyping. *Forensic Science International: Genetics*, v. 7, n. 5, p. 488–493, set. 2013.
- DABNEY, J. et al. Complete mitochondrial genome sequence of a Middle Pleistocene cave bear reconstructed from ultrashort DNA fragments. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 110, n. 39, p. 15758–15763, 9 set. 2013.
- EMMONS, A. L. et al. Characterizing the postmortem human bone microbiome from surface-decomposed remains. *PLOS ONE*, v. 15, n. 7, p. e0218636, 8 jul. 2020.
- EPP, L. S.; ZIMMERMANN, H. H.; STOOF-LEICHSENRING, K. R. Sampling and Extraction of Ancient DNA from Sediments. *Methods in Molecular Biology*, p. 31–44, 2019.
- FINAUGHTY, C. et al. Forensic DNA extraction methods for human hard tissue: A systematic literature review and meta-analysis of technologies and sample type. *Forensic Science International: Genetics*, v. 63, p. 102818, mar. 2023.
- GERŠAK, Ž. M. et al. Determination of DNA yield rates in six different skeletal elements in ancient bones. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, v. 7, n. 1, p. 120–122, dez. 2019.
- GLOCKE, I.; MEYER, M. Extending the spectrum of DNA sequences retrieved from ancient bones and teeth. *Genome Research*, v. 27, n. 7, p. 1230–1237, 13 abr. 2017.
- GOLOB, A. et al. Searching for alternative high DNA-yielding bone types for DNA analysis of aged skeletal remains. *Forensic Science International*, v. 362, p. 112184, 2 ago. 2024.

- HAARKÖTTER, C. et al. A comparison between petrous bone and tooth, femur and tibia DNA analysis from degraded skeletal remains. *Electrophoresis*, v. 44, n. 19-20, 19 jul. 2023.
- HOFREITER, M. et al. Progress in forensic bone DNA analysis: Lessons learned from ancient DNA. *Forensic Science International: Genetics*, v. 54, p. 102538, set. 2021.
- INKRET, J.; ZUPANIČ PAJNIČ, I. Bone Type Selection for Human Molecular Genetic Identification of Skeletal Remains. *Genes*, v. 16, n. 8, p. 872, 24 jul. 2025.
- KRAVANJA, P. et al. Effects of different environmental factors on preservation of DNA in petrous bones: A comparative study of two Slovenian archaeological sites. *Forensic Science International*, v. 371, p. 112495–112495, 8 maio 2025.
- LATHAM, K. E.; MILLER, J. J. DNA recovery and analysis from skeletal material in modern forensic contexts. *Forensic Sciences Research*, v. 4, n. 1, p. 51–59, 8 out. 2018.
- MUNDORFF, A.; DAVOREN, J. M. Examination of DNA yield rates for different skeletal elements at increasing post mortem intervals. *Forensic Science International: Genetics*, v. 8, n. 1, p. 55–63, jan. 2014.
- NIEVES-COLÓN, M. A. et al. Comparison of two ancient DNA extraction protocols for skeletal remains from tropical environments. *American Journal of Physical Anthropology*, v. 166, n. 4, p. 824–836, 30 mar. 2018.
- OLIVEIRA, J. L. M. Perícia e investigação criminal: uma proposta de melhoria do modelo organizacional visando a otimização de resultados. Rio de Janeiro: 2013.
- PARKER, C. et al. A systematic investigation of human DNA preservation in medieval skeletons. *Scientific Reports*, v. 10, n. 1, 26 out. 2020.
- PAULSEN, F.; JENS WASCHKE. *Sobotta Atlas of Anatomy*, Vol.1, 17th Ed., English/Latin.
- PILLI, E. et al. Neither femur nor tooth: Petrous bone for identifying archaeological bone samples via forensic approach. *Forensic Science International*, v. 283, p. 144–149, fev. 2018.
- PINHASI, R. et al. Isolating the human cochlea to generate bone powder for ancient DNA analysis. *Nature Protocols*, v. 14, n. 4, p. 1194–1205, 6 mar. 2019.
- PINHASI, R. et al. Optimal Ancient DNA Yields from the Inner Ear Part of the Human Petrous Bone. *PLOS ONE*, v. 10, n. 6, p. e0129102, 18 jun. 2015.
- RHODES, C. et al. Improved DNA recovery and STR profile development from weathered *Bos taurus* bones using demineralized bone slices. *Journal of Forensic Sciences*, 16 mar. 2025.

ROHLAND, N. et al. Extraction of highly degraded DNA from ancient bones, teeth and sediments for high-throughput sequencing. *Nature Protocols*, v. 13, n. 11, p. 2447–2461, 15 out. 2018.

SILVA, D. *Antropologia forense e identificação humana*, 2015.

SIMÕES DUTRA CORRÊA, H. et al. Forensic DNA Typing From Femurs and Bones of the Foot. *American Journal of Forensic Medicine & Pathology*, v. Publish Ahead of Print, 21 dez. 2021.

VIANA VALADARES FRANCO, J. et al. A influência da PCR na perícia criminal: revisão Sistemática de literatura. *Amazônia Science and Health*, v. 10, n. 2, 2022.

WILLIAMS, R. et al. Bone Diagenesis and Extremes of Preservation in Forensic Science. *Humans*, v. 5, n. 1, p. 2–2, 24 jan. 2025.

XAVIER, C. et al. Evaluation of DNA Extraction Methods Developed for Forensic and Ancient DNA Applications Using Bone Samples of Different Age. *Genes*, v. 12, n. 2, p. 146, 22 jan. 2021.