

Artigo Original de Pesquisa
Original Research Article

Avaliação histológica da dentina e do cimento após diferentes tempos de inumação: estudo *in vitro*

Histological evaluation of dentine and cementum after different periods of burial: an *in vitro* study

Livia Maria Liberali Menon¹
Karina Fittipaldi Bombonato Prado²
Ricardo Henrique Alves da Silva¹

Endereço para correspondência:
Corresponding author:

Ricardo Henrique Alves da Silva
Universidade de São Paulo – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social
Avenida do Café, s/n.º – Monte Alegre
CEP 14040-904 – Ribeirão Preto – SP
E-mail: ricardohenrique@usp.br

¹ Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social, Área de Odontologia Legal, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto – SP – Brasil.

² Departamento de Morfologia, Estomatologia e Fisiologia, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto – SP – Brasil.

Recebido em 21/9/2010. Aceito em 13/12/2010.

Received for publication: September, 21, 2010. Accepted for publication: December 13, 2010.

Palavras-chave:

Antropologia Forense;
elemento dentário;
Odontologia Legal.

Resumo

Introdução e objetivo: Frequentemente são encontrados corpos em que a única peça disponível para o processo de identificação humana é o dente, uma das estruturas do corpo humano mais resistentes a alterações ambientais e fatores externos. O presente trabalho objetivou realizar um estudo histológico do elemento dentário e as alterações que podem acontecer no complexo dentina-polpa depois de passados diferentes períodos de inumação, bem como a sua utilidade na prática forense em Odontologia Legal, a fim de verificar a possibilidade de inferência quanto ao tempo decorrente e às modificações histológicas no elemento dentário. **Material e métodos:** Em recipientes de barro,

cobertos por solo comum e mantidos ao ar livre, submeteram-se 48 terceiros molares extraídos a variados tempos de inumação (sete, 30, 60 e 180 dias). Após, os dentes foram retirados e analisados por descalcificação e realizaram-se cortes longitudinais de 6 μm de espessura, corados com hematoxilina-eosina. Depois da montagem dos cortes nas lâminas, efetuaram-se análises histológicas da dentina e do cimento. **Resultados:** A análise qualitativa em microscópio de luz possibilitou ver que as partes mineralizadas dos dentes apresentavam bom estado de conservação (cimento e dentina). No entanto tecidos moles, como polpa dentária e ligamento periodontal, estavam fragmentados e, na maioria das vezes, ausentes. **Conclusão:** A dentina e o cimento não tiveram alterações histológicas significativas, não permitindo nenhuma inferência quanto ao tempo decorrente da inumação.

Keywords: Forensic Anthropology; dental element; Forensic Dentistry.

Abstract

Introduction and objective: Frequently, bodies are found, in which the only piece available for the human identification process is the tooth, one of the structures most resistant to the environmental changes and external factors to the human body. This research aimed to perform a histological study of the dental elements and the changes that may occur in the dentin-pulp complex after different periods of burial and its use in Forensic Dentistry, in order to verify the possibility of inferring the elapsed period of burial and the histological changes in the dental element. **Material and methods:** Extracted third molar teeth (48) were submitted to different burial periods (7, 30, 60 and 180 days) after they were stored in ceramic containers, covered by common soil, and kept outdoors. Then, they were removed and analyzed by decalcification; longitudinal cuts of 6 μm thick were made and stained by hematoxylin-eosin. Histological sections were obtained, and the histological analysis of dentin and cementum were carried out. **Results:** Qualitative analysis by optical microscope showed that the teeth's mineralized parts were in a good condition (cement and dentin). On the other hand, soft tissues, such as dental pulp and periodontal ligament, were fragmented, and in most cases, absent. **Conclusion:** Dentin and cement did not present significant histological changes, consequently it was not possible to infer the elapsed period of burial.

Introdução

O ato pelo qual se estabelece a identidade de alguma pessoa ou coisa, pela presença dos atributos que a caracterizam, recebe o nome de identificação [16]. A identificação humana visa ao estudo do homem no todo e nas suas partes componentes, analisando-o nos seus aspectos morfológicos, fisiológicos e psíquicos, com a ajuda dos quais se determina a identidade [22].

De acordo com Sweet (2001) [21], pelo fato de todos os seres humanos possuírem uma identidade em vida, a sociedade requer que ela seja

reconhecida após a morte, tanto para o conforto dos familiares da vítima quanto para a resolução de questões jurídicas. Além disso, a identificação humana mostra-se um problema de importância legal, em virtude da necessidade de investigação, uma vez que as autoridades judiciárias procuram apurar a responsabilidade da morte, mesmo num caso de suicídio.

Arbenz (1988) [2] dividiu, tecnicamente, o processo de identificação em duas partes: judiciária ou policial e médico/odonto-legal ou antropológica. A primeira independe de conhecimento médico e

objetiva a caracterização dos indivíduos por meio de processos rápidos, realizados por técnicos cujo saber médico não é relevante, tais como voz, retrato falado, fotografias, impressões digitais etc. Já a segunda demanda de quem a pratique conhecimentos de Medicina Legal, Odontologia Legal e áreas afins.

Segundo Galvão (1996) [6], a Odontologia Legal emergiu da causalidade e tornou-se indispensável após alguns acidentes, que apontaram para a importância de técnicas de identificação das vítimas. Uma das alternativas usadas foi o reconhecimento dos corpos pelos dentes. Nesse sentido, em relação à Odontologia Legal, Arbenz (1988) [2] afirma: “Os dentes e os arcos dentários podem fornecer, em certas circunstâncias, subsídios de real valor para solução de problemas médico-legais e criminológicos, de sorte a constituir, às vezes, os únicos elementos com os quais pode contar o perito”.

O estudo dos elementos dentários no processo de identificação humana é capaz de elucidar casos periciais em que se desconhece o indivíduo por falta de história jurídica e/ou familiar, médica e/ou odontológica. Por isso, o emprego dos métodos de identificação tornou-se importante tanto em indivíduos vivos como em cadáveres, remanescentes cadavéricos, esqueletos, ossada e até mesmo em objetos, armas e vestes [13]. As características dentárias têm alta probabilidade de jamais serem as mesmas em duas pessoas [11]. Graças ao alto grau de resistência dos dentes, do osso em que estes estão fixados e dos materiais restauradores utilizados, os elementos dentais resistem melhor do que qualquer tecido humano à degradação *post mortem*, como variações de temperatura e pressão [20].

Usualmente são encontrados cadáveres ou parte deles carbonizados, submersos ou enterrados, sofrendo, portanto, ação de fatores ambientais, o que pode interferir em informações biológicas: quantidade de DNA recuperado, condições dentárias, crescimento de microrganismos, degradação física, química e biológica [3, 18]. Assim, o objetivo do presente estudo foi realizar avaliação histológica da dentina e do cimento em dentes submetidos a diferentes períodos de inumação.

Material e métodos

A fim de cumprir todos os requisitos exigidos pela Resolução n.º 196/96, enviou-se o projeto ao

Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (Forp-USP), sendo aprovado sob o Processo n.º 2009.1.387.58.4 (CAAE n.º 0030.0.138.000-09).

Coletaram-se 48 elementos dentários (terceiros molares inclusos e semi-inclusos, íntegros e não expostos à atuação de qualquer estado patológico, não apresentando condições que levem à alteração tecidual, como, por exemplo, degeneração dos tecidos mineralizados) na Clínica de Cirurgia da Forp-USP. Destes, 24 pertenciam a homens e 24 a mulheres. Feita a extração, os dentes foram limpos com auxílio de gaze estéril e curetas odontológicas esterilizadas, para posterior conservação em geladeira (4°C) até o momento de sua inumação.

Em grupos de seis dentes obtidos de cada gênero, formando um total de 12 dentes por grupo de inumação, inumaram-se quatro grandes grupos, em solo comum, por períodos de sete, 30, 60 e 180 dias. O procedimento de inumação foi realizado em vasos de barro de 16 cm de altura, onde se colocou uma primeira camada de solo com altura de 4 cm. Os elementos dentários foram então depositados e cobertos por 12 cm de solo comum.

Considera-se solo comum aquele presente no *campus* de Ribeirão Preto da USP. Trata-se do tipo latossolo roxo, predominante em 63% de toda a área do município de Ribeirão Preto, de característica espessa e homogênea, coloração avermelhada, textura argilosa (a argila constitui 64% de toda a composição básica desse solo), com alto teor de óxido de ferro (em torno de 3,4%) em comparação aos demais do tipo latossolo, sendo classificado como ácrico. Além disso, tem baixa capacidade de armazenamento de água (em média esta atinge 6,5% da composição total do solo), baixa quantidade de matéria orgânica, teor de carbono orgânico por volta de 2%, pH 5,3 – o qual varia de acordo com a profundidade, em centímetros, da camada de solo escavada, podendo atingir valores em torno de 6,4 –, possui dispersão de caulinita (argilomineral predominante em solos ácricos) e capacidade de formação de agregados estáveis em água, quando da ocorrência de intempéries como chuva [1].

Tal caracterização do solo é relevante, uma vez que as especificidades físico-químicas do meio ambiente da inumação influenciam na conservação e nas propriedades da dentina. Inumações em

solos secos e alcalinos ou em valores próximos do pH alcalino facilitam a preservação dos remanescentes esqueléticos, em contraste a solos úmidos, ácidos e que contenham fósforo [23] em valores significativos. No solo aqui empregado a quantidade de fósforo presente alcançou 0,06 e.mg/100 ml de solo seco [7]. Não é, portanto, um valor digno de nota para gerar alguma alteração nos tecidos mineralizados nem tem condições próximas - estas anteriormente citadas, como presença de umidade e acidez no solo - que favoreçam alteração tecidual, sem compactação do solo.

Os vasos sofreram a ação do tempo (sol, chuva e outras condições) em local aberto, no Centro de Medicina Legal da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP (Cemel-FMRP/USP). Terminados os tempos de inumação de cada grupo, os espécimes foram exumados e fez-se o processamento histológico do material (durante o período máximo de inumação - 180 dias - a temperatura média em Ribeirão Preto chegou a 25,4°C e o índice pluviométrico em torno de 1.500 mm) [10].

Os dentes foram fixados por imersão em solução de formol a 10% durante 48 horas e descalcificados com solução de ácido fórmico a 5% associada a um descalcificador elétrico de ossos (método eletrolítico) [8]. Após verificação de total descalcificação dos elementos dentários (tempo médio de descalcificação de aproximadamente 20 dias), estes foram retirados da solução descalcificadora e lavados em água corrente por 1 hora. As peças foram desidratadas em soluções de alcoóis, diafanizadas, incluídas em parafina e orientadas de modo a permitir cortes longitudinais de 6 μ m de espessura, corados com hematoxilina-eosina. Obtiveram-se 20 cortes por bloco, correspondendo a um intervalo de dez cortes distanciados um do outro por uma medida de 60 μ m. Em lâminas os cortes foram cobertos por lamínulas e analisados em microscópio de luz Leica DM4000B (Wetzlar, Hessen, Alemanha).

Resultados

Avaliou-se a dentina com suas linhas incrementais e canalículos dentinários. Apenas em algumas amostras puderam-se observar pequenos fragmentos de polpa dentária associados à pré-dentina. O cimento também se apresentou íntegro

na análise de todos os períodos, com camadas de deposição e lacunas dos cementócitos visíveis (figuras de 1 a 4).

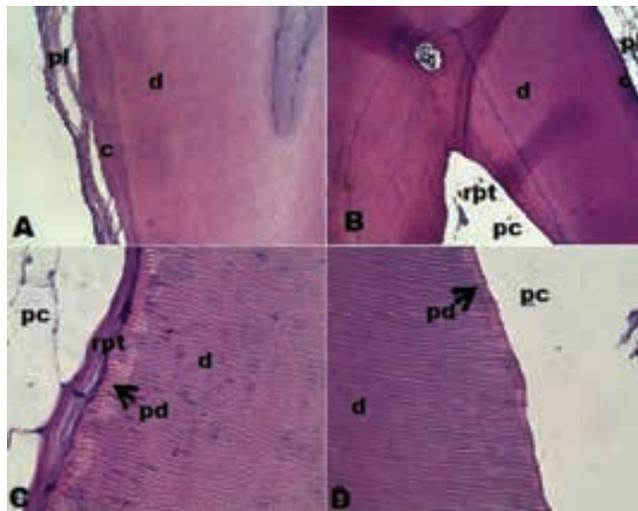


Figura 1 - Os cortes histológicos mostram cimento secundário (c), dentina (d), região de ligamento periodontal (pl), cavidade pulpar (pc), tecido pulpar remanescente (rpt) e pré-dentina (pd) dos terceiros molares inumados de indivíduos dos gêneros feminino (A e C) e masculino (B e D) exumados após sete dias (HE, magnificação original 10 vezes). Cortes realizados nos terços radiculares apical (A e B) e médio (C e D)

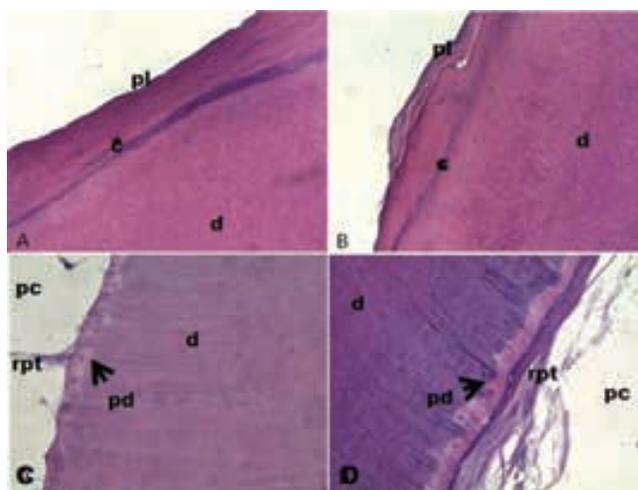


Figura 2 - Os cortes histológicos evidenciam cimento secundário (c), dentina (d), região de ligamento periodontal (pl), cavidade pulpar (pc), tecido pulpar remanescente (rpt) e pré-dentina (pd) dos terceiros molares inumados de mulheres (A e C) e homens (B e D) exumados após 30 dias (HE, magnificação original 40 vezes). Cortes feitos nos terços radiculares apical (A e B) e médio (C e D)

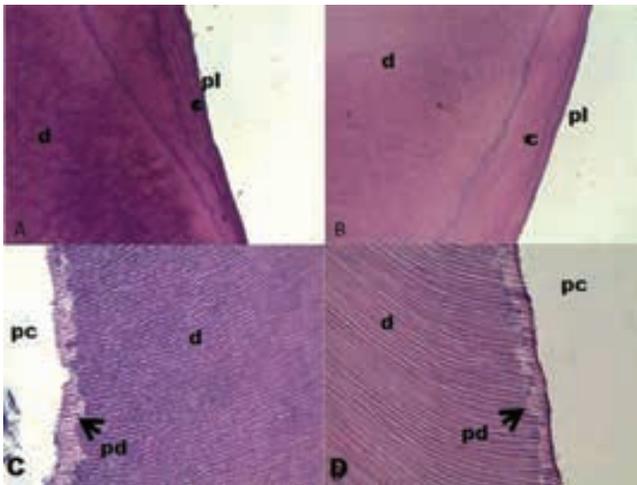


Figura 3 - Os cortes histológicos indicam cemento secundário (c), dentina (d), região de ligamento periodontal (pl), cavidade pulpar (pc) e pré-dentina (pd) dos terceiros molares inumados de pessoas dos gêneros feminino (A e C) e masculino (B e D) exumados após 60 dias (HE, magnificação original 40 vezes). Cortes efetuados nos terços radiculares apical (A e B) e médio (C e D)

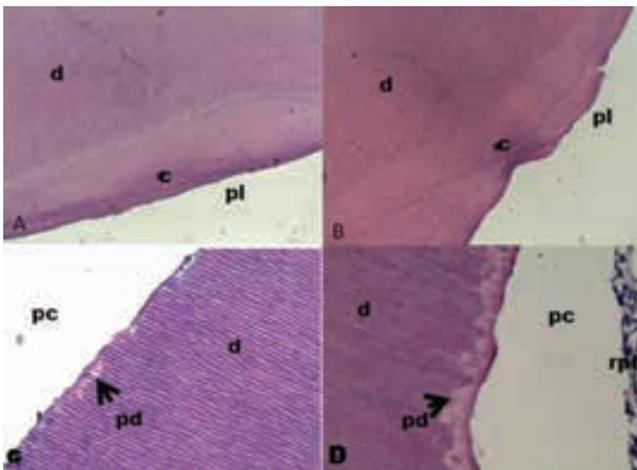


Figura 4 - Os cortes histológicos mostram cemento secundário (c), dentina (d), região de ligamento periodontal (pl), cavidade pulpar (pc), tecido pulpar remanescente (rpt) e pré-dentina (pd) dos terceiros molares inumados de indivíduos dos gêneros feminino (A e C) e masculino (B e D) exumados após 180 dias (HE, magnificação original 40 vezes). Cortes realizados nos terços radiculares apical (A e B) e médio (C e D)

Discussão

Por meio da análise qualitativa das lâminas obtidas com os elementos dentários inumados em variados períodos, percebeu-se que, em todas

as amostras, as partes mineralizadas dos dentes (cimento e dentina) estavam em bom estado de conservação. De acordo com a literatura consultada, os dentes resistem melhor a diversos tipos de agentes de degradação *post mortem* [5]. *In vivo* notou-se a presença de ácidos liberados pela bactéria da cárie dentária *Streptococcus mutans* capazes de dissolver o esmalte dentário, facilitando a entrada de outras bactérias [19].

A metodologia usada neste trabalho não possibilitou analisar o tecido pulpar, uma vez que, segundo Duffy *et al.* (1991) [5], o tempo de preservação da estabilidade da polpa dentária varia de quatro dias a duas semanas, dependendo das mudanças ambientais. Três itens interferem na conservação da polpa dentária: condições de degradação do DNA *post mortem*, condições em que foi feito o sepultamento e *causa mortis*.

Os dentes, como todo remanescente esquelético, sofrem alterações *post mortem* graças a fatores físico-químicos relacionados ao processo de putrefação ou à ação de agentes biológicos pela infiltração de fungos e bactérias [12]. No entanto, no presente estudo, as imagens deixam claro que a dentina e o cimento, independentemente do gênero (masculino ou feminino) e dos tempos averiguados, apresentaram bom estado de conservação, sem alterações histológicas expressivas. Isso demonstra que, em virtude de sua resistência (as estruturas dentárias representam os mais duros e resistentes tecidos do corpo humano), podem suportar a putrefação, o calor, os traumatismos e a ação de certos agentes químicos [4]. A dentina e o cimento também constituem uma particularidade do sujeito (cada arco dental é único, não há duas pessoas ou mais com as mesmas características dentárias) e destacam-se, portanto, como essenciais ao processo de identificação.

A verificação da presença de agentes biológicos capazes de interferir em materiais íntegros é de suma importância, pois pode haver contaminações que, conforme a severidade, ocasionam alterações e perdas que inviabilizam uma análise de investigação ou diagnóstico, haja vista o material aparentemente íntegro conter em suas estruturas internas modificações e perdas [12].

Os espécimes desta pesquisa estiveram submetidos a um processo de inumação, aspecto ainda mais relevante [12]. Conforme descrevem alguns autores, nos dentes a infiltração de fungos

na dentina não se apresenta nos primeiros 50 anos após a morte do indivíduo e a presença de tais fungos indica que o material não tem origem recente, embora seja possível haver hifas filamentosas entremeadas pelos túbulos dentinários em cadáveres de pessoas com tempo de morte bastante reduzido [11]. A presença de microrganismos não foi determinada, uma vez que métodos microbiológicos devem ser realizados para verificar se há fungos ou bactérias, não sendo esse o escopo do presente trabalho.

Gustafson (1969) [9] considera que o processo de identificação humana se desenvolve em três fases principais, cuja sequência lógica é a seguinte: quando aparece um cadáver desconhecido, procede-se à observação e à descrição cuidadosas de todas as suas características que possam ser úteis para a posterior identificação. Em seguida recolhem-se informações de tipo semelhante e relacionadas com a pessoa desaparecida. Por fim, faz-se uma comparação dos dados obtidos do cadáver com aqueles recolhidos em relação ao sujeito desaparecido.

Rothwell *et al.* (1989) [15] esclarecem que a Odontologia Forense exerce um papel preponderante na identificação de restos cadavéricos, para certificação da identidade de pessoas falecidas, e tem grande utilidade nas investigações de homicídios. Além disso, o estudo e o reconhecimento da Tanatologia Forense são muito importantes na Odontologia, pois se trata de uma das competências do especialista em Odontologia Legal [17], bem como na Medicina e no Direito, estreitamente relacionados com o tema discutido.

Observa-se que a interface entre a Odontologia Legal e a Tanatologia Forense se mostra fundamental para um efetivo desempenho de atividades periciais, por intermédio do estudo de características odontológicas associadas aos efeitos *post mortem*. Ainda que alterações no tratamento dentário possam desafiar os métodos de identificação, a Odontologia Legal permanece um instrumento imprescindível para identificar uma pessoa morta cuja identidade é desconhecida [14]. O crescente avanço da biologia molecular no processo de identificação humana vem desempenhando um papel crucial em situações nas quais os vestígios biológicos são quase inexistentes. Em tais casos, a utilização dos dentes como fonte viável para obtenção de amostras biológicas demonstra o valor da Odontologia Legal nesse processo.

Conclusão

A inumação de dentes por períodos de sete, 30, 60 e 180 dias mostrou boa conservação de tecidos mineralizados dos dentes e fragmentação da polpa dentária. De acordo com a técnica usada, a dentina e o cimento mantiveram os aspectos histológicos estáveis.

Referências

1. Alleoni LRF, Camargo OA. Atributos físicos de latossolos ácidos do norte paulista. *Sci Agr.* 1994;51(2):321-6.
2. Arbenz GO. *Medicina Legal e Antropologia Forense*. São Paulo: Atheneu; 1988.
3. Bender K, Farfán MJ, Schneider PM. Preparation of degraded human DNA under controlled conditions. *Forensic Sci Int.* 2004;139:135-40.
4. Bowers MC, Bell G. *Manual of Forensic Odontology*. 3. ed. ASFO; 1995.
5. Duffy JB, Skinner MF, Waterfield JD. Rates putrefaction of dental pulp in the Northwest Coast environment. *Forensic Sci Int.* 1991;36(5):1492-502.
6. Galvão LCC. Identificação médico-legal através da ficha dentária anterior. *Estudos Médico-legais*. Porto Alegre: Sagra; 1996. p. 35.
7. Gargantini H, Baumgartner JG. Nível mínimo de fósforo disponível num latossolo roxo, necessário ao desenvolvimento do milho. *Rev Bragantia.* 1972;31:43-8.
8. Gonçalves RP. Electrical descalcification of bone. *Mikroskopie.* 1965;20:154-6.
9. Gustafson C. *Odonto - Stomatologie médico-légale*. Bruxelas; 1969.
10. Martorano L, Angelocci LR, Vettorazzi CA, Valente ROA. Zoneamento agroecológico para a região de Ribeirão Preto utilizando um sistema de informações geográficas. *Sci Agric.* 1999;56(3):739-47.
11. Miyajima F, Daruge E, Daruge-Júnior E. A importância da Odontologia na identificação humana: relato de um caso pericial. *Arq Odontol.* 2001;37(2):133-42.

12. Oliveira RN, Silva SFS, Uchoa DP, Mesquita RA, Nunes FD. Presença de fungos na dentina humana: implicações arqueológicas e forenses. *Ciênc Odontol Bras.* 2004;7(3):87-90.
13. Rissech C, García M, Malgosa A. Sex and age diagnosis by ischium morphometric analysis. *Forensic Sci Int.* 2003;135(3):188-96.
14. Rothwell BR. Principles of dental identification. *Dent Clin North Am.* 2001;45(2):253-70.
15. Rothwell BR, Haglund W, Morton-Junior TH. Dental identification in serial homicides: the Green River murders. *J Am Dent Assoc.* 1989;119(3):373-9.
16. Rumjanek FD, Rinzler CMC. Os exames de DNA nos tribunais. *Ciênc Hoje.* 2001;169(29):24-30.
17. Sales-Peres A, Silva RHA, Lopes-Junior C, Carvalho SPM. Forensic tanatology: biological and legal aspects. *Braz J Oral Sci.* 2006;5(19):1198-202.
18. Schwartz TR, Schwartz EA, Mieszerski L, McNally L, Kobilinsky L. Characterization of deoxyribonucleic acid (DNA) obtained from teeth subjected to environmental conditions. *J Forensic Sci.* 1991;36(4):979-90.
19. Silva LAB, Perassi FT, Ito IY, Yamashita JC, Bonifácio KC, Tanomaru Filho M. A presença de fungos nas infecções endodônticas. *Rev Fac Odontol Lins.* 2000;12(1/2):62-6.
20. Silveira EMSZSF. Odontologia Legal: a importância do DNA para as perícias e peritos. *Saúde Ética Just.* 2006;11(1/2):8-12.
21. Sweet D. Why a dentist for identification? *Dent Clin North Am.* 2001;45(2):237-51.
22. Vieira SJA, Billerbeck AEC, Iwamura ESM, Cardoso LA, Munoz DR. Post-mortem forensic identity testing: application of PCR to the identification of fire victim. *São Paulo Med J.* 2000;118(3):75-7.
23. Whittaker DK. The principles of forensic dentistry. 2. Non-accidental injury, bite marks and archaeology. *Dental Update.* 1990;17:386-90.