

## ANÁLISIS ESTRUCTURAL DE LOS INDICADORES DE EDAD DENTAL EN LOS TEJIDOS DUROS DEL DIENTE QUE HAN EXPERIMENTADO LA ACCIÓN DE ALTAS TEMPERATURAS.

J.L. Ferreira Paz<sup>a\*</sup>, A.I. Ortega<sup>a</sup>, F.A. Barrios<sup>a</sup>, A.I Espina-Ferreira<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Área de Odontología Forense. Laboratorio de Odontología Forense. Instituto de Investigaciones, Facultad de Odontología, Universidad del Zulia. Calle 65, esquina Avenida 19. Apartado postal 526. Maracaibo, República Bolivariana de Venezuela.

\*Autor de correspondencia, e-mail: jbacteria@hotmail.com, Teléfono: 00 58 261 3280322. Fax. 00 58 261 7597346.

Recibido: Junio 2010. Aprobado: Agosto 2010.

Publicado: Noviembre 2010.

### RESUMEN

Los dientes experimentan cambios ocasionados por el envejecimiento y éstos son empleados como indicadores para el diagnóstico de la edad con fines forenses. Se estudiaron los efectos de las altas temperaturas en la observación de los indicadores de edad en los tejidos duros del diente. Se emplearon 140 dientes permanentes sanos, mono y multirradiculares, de los cuales 112 fueron sometidos al incremento controlado de la temperatura y 28 conformaron el grupo control. Un total de 105 dientes fueron incluidos en polimetilmetacrilato, seccionados y desgastados para su estudio al microscopio óptico (MO) y 35 fueron recubiertos en oro para su análisis al microscopio electrónico de barrido (MEB). Al MO se observaron en el grupo control y en los dientes expuestos a los 250°C, los elementos estructurales de los tejidos duros del diente, así como la atrición del esmalte, aposición de dentina secundaria y esclerosis dentinal, mientras que en el cemento fueron reconocibles las líneas incrementales. A partir de los 500 °C, se evidenció la pérdida de integridad de los tejidos duros, debido a la formación de fracturas y combustión del tejido, lo que dificultó la observación de los indicadores. Al MEB fue posible reconocer en el grupo control y en los dientes sometidos a los 250 °C, la ultraestructura normal de los tejidos duros. Se concluye que todos los indicadores de edad dental fueron afectados por el incremento de la temperatura, independientemente de la edad.

**Palabras clave:** Odontología Forense, indicadores de edad dental, dientes quemados, microscopía óptica, microscopía electrónica de barrido.

### STRUCTURAL ANALYSIS OF THE INDICATORS OF DENTAL AGE IN HARD DENTAL TISSUES SUBMITTED TO HIGH TEMPERATURES.

#### ABSTRACT

Teeth undergo age related changes that are used as diagnostic indicators of age with forensic purposes. We studied the effects of high temperatures in the identification of age indicators present in hard dental tissues. One hundred forty permanent and healthy teeth, mono and multiradicular were studied. One hundred twelve were submitted to a controlled temperature increase. The control group consisted in 28 teeth. A total of 105 teeth were embedded in polymethacrylate, cut and worn away for Optic Microscopic (OM) study. 35 were coated with gold for Scanning Electron Microscope (SEM) analysis. The structural elements of the hard dental tissues, enamel attrition, apposition of secondary dentin and dentinal sclerosis were observed on OM in the control group and at 250°C, while the incremental lines were recognizable in the cementum. The loss of integrity of hard tissues, due to fractures and combustion of the tissue was evidenced at 500°C, thus making the observation of the age indicators difficult. With the SEM in the control group and at 250°C, it was possible to recognize the normal ultrastructure of hard tissues. In conclusion, all the indicators of dental age were affected by the increase of the temperature, independently of age.

**Key words:** Forensic Dentistry, dental age indicators, incinerated teeth, Optic Microscopy, Scanning Electron Microscopy

#### INTRODUCCIÓN

La Odontología Forense tiene un papel importante dentro de los procedimientos de identificación médico-legales tanto en individuos vivos como en cadáveres, debido a

que la dentición presenta características congénitas y adquiridas, que la hacen tan particular como una huella dactilar. Asimismo, los dientes presentan una alta resistencia a la acción de agentes externos,

conservándose hasta un tiempo después que otros tejidos del cuerpo han desaparecido, debido a las circunstancias que rodean la muerte o las condiciones de enterramiento [1-4].

La edad es uno de los elementos generales de identificación que puede ser inferida empleando las estructuras dentarias [5,6]. En individuos en desarrollo, la edad dental es estimada a través del estudio de la erupción de los dientes en la cavidad bucal ó mediante la evaluación radiográfica del estado de maduración de los dientes deciduos o permanentes [7-9]. El tercer molar se emplea para la determinación de la edad en jóvenes, con edades entre 18 y 21 años, en particular para predecir si el sujeto ha alcanzado una edad de relevancia legal [10-13]. La estimación de la edad dental en el adulto, se basa en los cambios que se producen en los dientes una vez que éstos han concluido su maduración, y por lo tanto requieren intervalos de tiempo relativamente largos para que puedan observarse y ser valorados como indicadores de edad [1,14].

El envejecimiento produce variaciones en las características químicas, histológicas, morfológicas y radiográficas de las estructuras duras del diente [5,15], por lo que se han desarrollado métodos cualitativos, cuantitativos o mixtos, con el fin de utilizar dichos cambios, como variables predictoras en una ecuación de regresión, ya sea de forma individual o en conjunto [16-19] o desde un enfoque bayesiano [20], para la estimación de la edad en adultos.

El esmalte constituye el tejido externo que cubre la corona del diente y está compuesto en un 96% por cristales de hidroxiapatita densamente empaquetados mediante una red de material orgánico. Su unidad estructural son los prismas, los cuales miden de 4 a 8  $\mu\text{m}$  y se extienden desde la unión amelodentinaria hacia la superficie dentaria, siguiendo un trayecto sinuoso. Según la orientación de la sección de corte de la muestra en estudio, el aspecto de los prismas ha sido descrito como de “ojo de cerradura”, “escama”, hexagonal, circular,

subcircular u ovalado. Se ha constatado la presencia de sustancia adamantina que no conforma prismas, recibiendo el nombre de esmalte aprismático [21-23]. En el esmalte se observan básicamente dos tipos de marcadores de crecimiento: unos de periodo corto, llamados estrías transversales, las cuales resultan de su aposición diaria y se presentan como bandas finas y transversas a lo largo del prisma; y los otros de periodo largo, constituidos por las estrías de Retzius que aparecen como bandas sucesivas de color pardo, con un espesor variable. En la interfase del esmalte con la dentina, se encuentran los penachos del esmalte, los cuales representan grupos o acúmulos de prismas hipomineralizados [21,24]. La pérdida del esmalte debido al desgaste fisiológico o atrición constituye el cambio relacionado con la edad más evidente. Esta disminución de su espesor ha sido evaluada por medio de indicadores, como en el método de Gustafson [16]. También se ha cuantificado empleando el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB), encontrándose que la disminución estadísticamente significativa del espesor del esmalte, se inicia a los 50 años de edad [25].

La dentina representa la mayor parte del tejido mineralizado del diente y proporciona soporte elástico al esmalte, permitiendo la dispersión del estrés masticatorio. El tejido dentinal está compuesto por túbulos de aproximadamente 0,8 - 2,5  $\mu\text{m}$  en su diámetro interno, que contienen los procesos odontoblásticos o remanentes de fluidos orgánicos. La luz del túbulo está rodeada por un cilindro mineralizado llamado dentina peritubular, y los túbulos están separados por una matriz externa de dentina intertubular, la cual está constituida en un 30% por fibras colágenas Tipo I mineralizadas. En la dentina peritubular están presentes menores cantidades de colágeno, representando alrededor del 10% del volumen total [23,26].

La formación de dentina continúa durante toda la vida mediante el depósito de capas de este tejido sobre la dentina primaria, la cual se deposita antes de la erupción

del diente. Esta dentina se denomina dentina secundaria y se genera debido al proceso de envejecimiento del individuo. Cuando el depósito de dentina se produce como respuesta defensiva ante condiciones patológicas, se denomina dentina terciaria. Estructuralmente, la dentina primaria puede diferenciarse de la secundaria, debido a que ésta última presenta menor número de túbulos dentinarios distribuidos de manera irregular [27-29]. Estudios sobre la aposición de la dentina secundaria como indicador de la edad, han comprobado que la misma puede ser determinada indirectamente mediante la medición de la proporción entre el tamaño de la cavidad pulpar y el tamaño del diente [31-33].

Por otro lado, a partir de la tercera década de la vida se incrementa la translucidez de la dentina radicular, lo cual se conoce como “dentina transparente” o “dentina esclerótica”, comenzando en la región del ápice. Se cree que esta alteración es causada por el depósito de cristales de hidroxiapatita en el interior de los túbulos dentinarios, reduciendo su luz [19,34,35]. En microrradiografías se evidencia que el diámetro de los túbulos, parcial o totalmente obstruidos, no es diferente al de los túbulos adyacentes de la dentina no esclerosada [36]. Al Microscopio Óptico (MO), se ha observado que el número de túbulos esta disminuido en la dentina transparente, en relación con las áreas correspondientes de dentina normal [37]. En cuanto a la aplicabilidad de la esclerosis dentinal como indicador de la edad, Bang y Ramm [34], comprobaron que la medición de esta característica en dientes intactos, es un método objetivo, fácil de aplicar y que proporciona resultados precisos para la estimación de la edad en el adulto.

El cemento es el tejido mineralizado que cubre por completo la superficie radicular, constituyendo la interfase entre la dentina y el ligamento periodontal. Aunque el cemento es un tejido propio del diente, pertenece funcionalmente al periodonto, al permitir el anclaje de las fibras del ligamento periodontal en la superficie del diente; también tiene un papel importante

en el mantenimiento de la relación oclusal y la protección de la integridad de la superficie radicular. El cemento es menos mineralizado que la dentina radicular del mismo diente, por lo que alrededor del 50% de su masa está constituida por material inorgánico. La matriz orgánica está compuesta principalmente por colágeno Tipo I (90%) y en menor proporción por colágeno Tipo III (5%). Tradicionalmente, el cemento ha sido clasificado en celular y acelular. Otra clasificación incluye el cemento fibroso intrínseco o extrínseco, dependiendo de la presencia de fibras colágenas formadas por cementoblastos o fibroblastos, respectivamente [21,38,39].

La aposición del cemento es continua y se produce mediante el depósito de capas, formando las llamadas líneas de aposición o líneas incrementales del cemento. Su apariencia al MO consiste en líneas estrechas y oscuras alternadas con bandas claras y anchas, siendo las primeras denominadas líneas incrementales y las segundas, bandas incrementales del cemento [3,18,38,40]. Existen varias teorías que intentan explicar la diferencia en el aspecto de las líneas y bandas. Se cree que las líneas incrementales representan zonas hipermineralizadas de cemento que constituyen periodos de reposo mientras que, las bandas hipomineralizadas son de rápida aposición [38-39]. Otros estudios plantean que el cambio de orientación de las fibras de Sharpey durante la mineralización de la capa de cemento, es el responsable del efecto óptico en la alternancia de capas oscuras y translúcidas [41,42].

La anulación del cemento, definida como el aspecto de las líneas y bandas en una sección transversal del diente, ha sido relacionada con el envejecimiento y empleada en métodos para la determinación de la edad [42,43]. Sin embargo, la utilidad de las líneas incrementales como indicador de ésta, es cuestionada debido a factores como la variabilidad con que el cemento se deposita en diferentes superficies del diente, la dificultad en la

identificación de las líneas y el método de conteo de las mismas [39,42]

Ahora bien, los dientes sobreviven a la exposición a elevadas temperaturas, no solo por su composición química particular, sino también porque están protegidos por el tejido óseo de los maxilares, así como por los tejidos blandos mucosos y musculares peribucales, que los aíslan de la fuente de calor y retardan el proceso de combustión. El examen a la estereomicroscopía [44-46], al MO [47,48], al MEB [44] y mediante el estudio radiográfico [49-50], han permitido identificar los cambios producidos en los tejidos duros del diente por la acción del calor, con la finalidad de recopilar información relacionada con la temperatura a la cual fueron sometidos, así como la respuesta de materiales restaurativos y dispositivos protésicos en estas circunstancias, lo que también es importante en el levantamiento del perfil reconstructivo postmortem, ya que la presencia de estos últimos constituyen elementos particulares de identificación. Estudios como los de Bonavilla y col. [51] y Bush y col. [52] han empleado el MEB en conjunto con espectroscopia de dispersión de rayos X, para la generación de una base de datos que permita la identificación de los materiales de restauración en dientes incinerados.

Por lo tanto, en circunstancias en las que el cadáver se encuentra extensamente quemado o carbonizado y, los dientes constituyen la única evidencia disponible para el diagnóstico de la edad, es importante reconocer indicadores de edad que permitan realizar una determinación confiable de la misma. La presente investigación se propuso evaluar el efecto de las altas temperaturas sobre la observación al Microscopio Óptico (MO) y al Microscopio Electrónico de Barrido (MEB), la atrición del esmalte, la aposición de dentina secundaria, la esclerosis dentinal y las líneas incrementales del cemento, como indicadores de edad dental en individuos adultos. Además, se evaluó el grado de integridad de los

tejidos duros del diente, luego de experimentar el tratamiento térmico en estudio.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### *Muestra*

La muestra consistió en 140 dientes permanentes, mono y multirradiculares, sanos, libres de caries y restauraciones, extraídos por indicación ortodóncica, protésica y/o periodontal, obtenidos de pacientes consultantes en las Clínicas Integrales de la Facultad de Odontología, de la Universidad del Zulia, Maracaibo. Después de la extracción, los dientes fueron lavados con agua corriente y cepillo dental para eliminar restos de tejidos blandos y se removieron los depósitos de sarro empleando un tartrectomo. Para su desinfección, los dientes fueron tratados con Hipoclorito de Sodio (1:200) y luego se almacenaron en Buffer Sodio Fosfato a 4°C.

Para el estudio al MO, 105 dientes fueron sometidos a cinco tratamientos térmicos, a saber: temperatura ambiente (Grupo Control), 250 °C, 500 °C, 750 °C y 1150 °C. A cada uno de estos tratamientos se sometieron 21 piezas dentales, de las cuales 3 fueron provenientes de sujetos ubicados en uno de los siguientes grupos etarios: menos de 20, 20-29, 30-39, 40-49, 50-59, 60-69, e iguales ó mayores a 70 años de edad. Los 35 dientes estudiados al MEB fueron distribuidos en cinco subgrupos (n = 7), los cuales fueron sometidos a los diferentes tratamientos térmicos empleados en el ensayo anterior, quedando a razón de un diente para cada uno de los grupos etarios estudiados, en esta investigación.

### *Tratamiento térmico*

Las piezas dentales a ser observadas al MO, fueron colocadas previamente en crisoles, de manera que un crisol contenía 7 dientes, cada uno correspondiendo a un grupo de edad estudiado. Los elementos dentarios fueron calentados, dentro de un horno mufla NEY (M-525 SII Barkermeyer Division, Yucaipa, CA, USA), iniciando el proceso a los 18 °C, con una tasa de incremento de 18,8

°C/min, hasta alcanzar la temperatura experimental específica, quedando expuestos a ésta, durante 15 minutos. De esta manera, el tiempo total de exposición para cada grupo de dientes fue 13,5 min para alcanzar los 250 °C; 27,02 min para los 500 °C; 40,54 min para los 750 °C y 62,16 min para los 1.150 °C.

Las piezas dentales que iban a ser observadas al MEB fueron distribuidas en 4 grupos, que contenían 7 dientes, siendo cada uno representativo de los grupos etarios en estudio y, fueron colocados en crisoles y sometidos a las temperaturas establecidas previamente. Al finalizar el tratamiento térmico, los crisoles fueron removidos del horno para dejarlos alcanzar la temperatura ambiente y luego, los dientes fueron almacenados en viales.

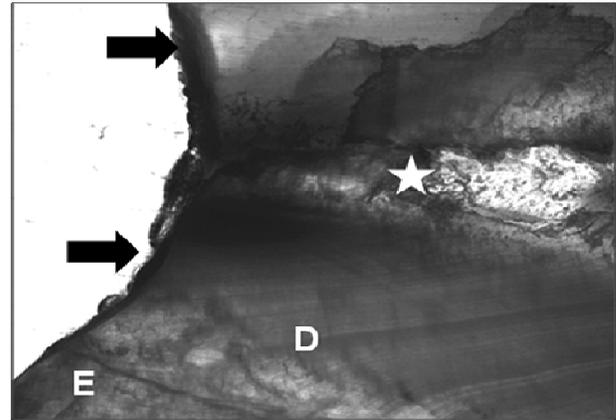
#### *Microscopía óptica (MO).*

Para continuar el estudio al MO, los dientes se incluyeron en polimetilmetacrilato siguiendo el protocolo publicado por Ferreira y col. [33]. El bloque obtenido fue seccionado con un disco de carborundo montado en una pieza de mano, siguiendo el eje mayor del diente, en dirección vestíbulo palatina-lingual para los dientes monorradiculares y, mesiodistal para los multirradiculares. Cada bloque fue montado en una lámina portaobjeto, desgastado y pulido hasta obtener un espesor de 100 µm y observado en un microscopio Leica (DM 1000, Leica Microsystems AG, Wetzlar, Germany). Se obtuvieron imágenes digitales de los dientes a través de una cámara Leica (DFC295, Leica Microsystems AG, Wetzlar, Germany) montada en el microscopio y se analizaron mediante el programa Leica Application Suite versión 3.3.0 (Leica Microsystems AG, Wetzlar, Germany).

#### *Microscopía electrónica de barrido (MEB).*

Para su observación al MEB los dientes fueron deshidratados, secados y recubiertos con oro. Las observaciones se realizaron en un MEB Phillips (XL-30 FEG, Phillips, Eindhoven, The Netherlands), y se

obtuvieron imágenes de las diferentes áreas de interés para este estudio. En algunos casos, las zonas de grietas y fracturas permitieron el estudio de la estructura interna del diente. Las imágenes fueron analizadas mediante el programa Image J versión 1.43 (Image Processing and Analysis in Java, National Health Institute, US Department of Health and Human Services, USA).



**Fig. 1.** Sección longitudinal de un incisivo central superior, perteneciente a un individuo de 65 años de edad. Se observa el desgaste del esmalte (E) y la dentina (D) debido a la atrición (flechas grandes). Es evidente la aposición de dentina secundaria (estrella). (40X)

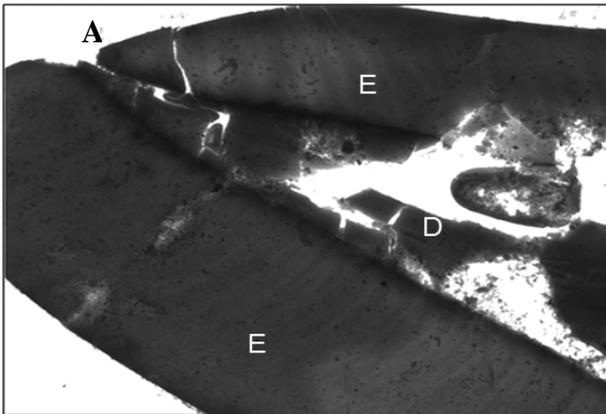
## RESULTADOS

#### *Hallazgos al microscopio óptico (MO)*

En relación al esmalte se lograron reconocer los elementos estructurales de este tejido, tanto en los dientes del grupo control (Fig. 1) como en los expuestos a 250 °C. A los 500 °C, se evidenció la presencia de fracturas, lo que fue más notable a partir de los 60 años de edad. Desde los 750 °C no fue posible la identificación de los elementos antes mencionados. Además, con el incremento de la temperatura, se dificultó la observación de la atrición dental, debido a la pérdida de la integridad de la capa de esmalte.

La aposición de dentina secundaria se observó desde los 30 años de edad, momento en el cual también se evidenció esclerosis dentinal en la región media y apical de la raíz. Con respecto al efecto del tratamiento térmico sobre estos indicadores de edad, se evidenció que la

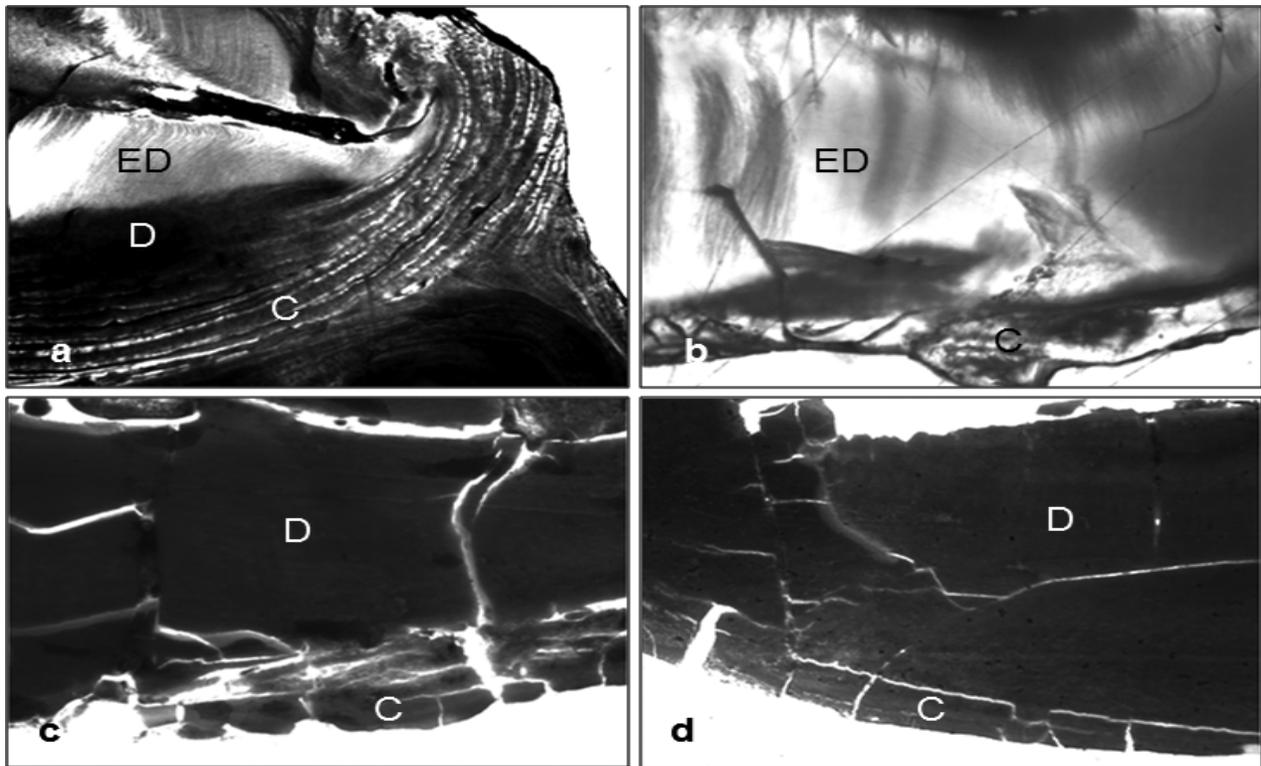
observación de la aposición de dentina secundaria, se dificulta a partir de los 500 °C (Fig. 2).



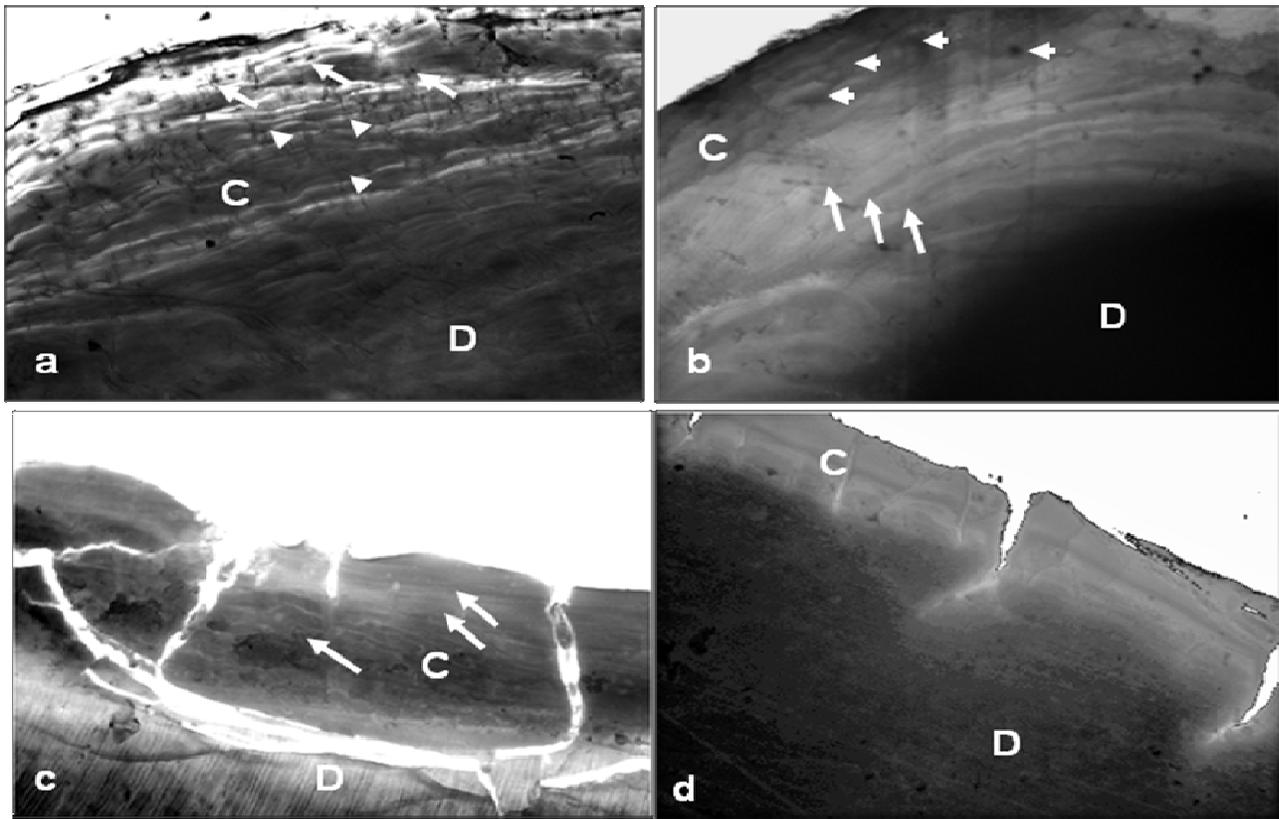
**Fig. 2.** Corte longitudinal de la porción coronal de un incisivo central superior sometido a 1150 °C, de un individuo de 63 años de edad. Se observa la destrucción del tejido dentinario. E= Esmalte, D=Dentina secundaria coronal. A=Atrición (40X)

Asimismo, se observó que el aumento de la temperatura imposibilita el estudio de la esclerosis dentinal (Fig. 3). La integridad de la capa de dentina es afectada con el avance de la edad, encontrándose fracturas en los dientes del grupo control a partir de los 40 años de edad, mientras que en los grupos experimentales, la pérdida de la integridad del tejido dentinal fue evidente desde los 500 °C, independientemente de la edad.

Fue posible diferenciar la capa de cemento de la del tejido dentinario, en todas las temperaturas y grupos etarios estudiados. El incremento en la presencia de las líneas de aposición del cemento tuvo una relación directa con el avance de la edad en el grupo control; en tanto que, la temperatura afectó la posibilidad de distinguir dichas líneas.



**Fig. 3.** Observación de la esclerosis dentinal (ED). **a)** Región apical de un tercer molar inferior sometido a 250 °C, de un individuo de 38 años de edad, donde es notable la ED. **b)** Sección longitudinal de un fragmento correspondiente a un segundo premolar superior sometido a 250 °C, de un individuo de 83 años de edad. Es notable la presencia de ED. **c)** Sección longitudinal de la porción radicular de un primer premolar superior expuesto a 1150°C, de un individuo de 45 años de edad. La acción de la temperatura no permite la diferenciación de la ED. **d)** Sección longitudinal de la porción radicular de un segundo premolar superior expuesto a 1150 °C, de un individuo de 75 años de edad. No se observa ED. D= dentina, C= cemento. (40X)



**Fig. 4.** Elementos estructurales del cemento. **a)** Líneas incrementales (flechas) del cemento (C) en un corte longitudinal de un tercer molar superior sometido a 250 °C, de un individuo de 24 años de edad, donde se observa la presencia de células cementocíticas (cabeza de flecha). **b)** Sección longitudinal de un tercer molar superior sometido a 500 °C, de un individuo de 34 años de edad, donde se aprecian las líneas incrementales de cemento (flecha larga) y células cementocíticas (flecha corta) aisladas. **c)** Sección longitudinal de un segundo molar inferior sometido a 750 °C, proveniente de un individuo de 36 años de edad, donde se dificulta la identificación de las líneas incrementales del cemento (flechas). Hay presencia de fracturas transversales del tejido y ruptura de la unión cemento-dentinaria. En la dentina (D) se identifican los canalículos dentinarios. **d)** Sección longitudinal de un incisivo central superior sometido a 1150 °C, de un individuo de 75 años de edad. Se aprecian las líneas incrementales del cemento. El efecto de la temperatura no permite distinguir la unión cemento-dentinaria. (40X)

La observación de las células del cemento, guardó una relación inversa con respecto al aumento de la temperatura. Se evidenció que la integridad estructural del cemento fue afectada por el tratamiento térmico, con la formación de fracturas transversales y longitudinales en el tejido (Fig. 4).

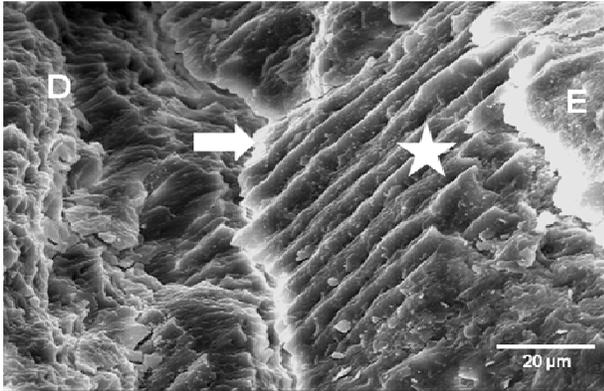
#### *Hallazgos al microscopio electrónico de barrido (MEB)*

En el grupo control, se observaron algunas líneas de fracturas transversales en la superficie del esmalte, a nivel de la unión amelo cementaria, así como la presencia de facetas de atrición en los bordes incisales y vértices de

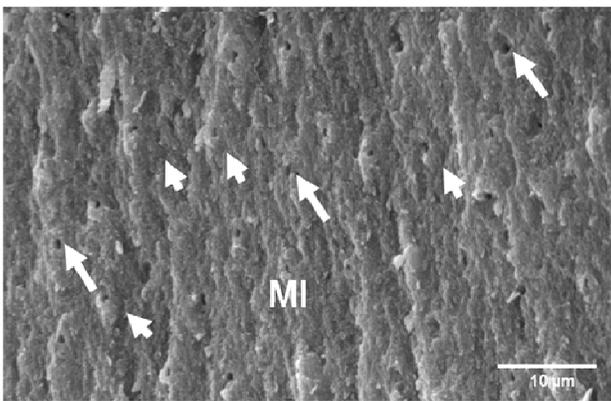
las cúspides de los molares, lo que guardó relación con el incremento de la edad. En los dientes sometidos a los diferentes tratamientos térmicos, fue posible evaluar la estructura prismática del esmalte y la presencia de fracturas. Estas últimas aumentaron en número y tamaño a medida que se incrementaba la temperatura (Fig. 5) y, este comportamiento fue independiente de la edad del individuo.

La ultraestructura normal de la dentina fue observada en todos los dientes sometidos a las diferentes temperaturas estudiadas, así como los cambios en este tejido asociados con el envejecimiento. A los 250 °C se observaron los

túbulos dentinarios bien definidos y la presencia de microtúbulos en la dentina intertubular. Con el aumento de la edad se incrementó la matriz intertubular provocando la desaparición de los microtúbulos dentinarios y fue evidente el aspecto cristalino, así como el incremento del espesor de la pared tubular, propios de la dentina esclerótica.



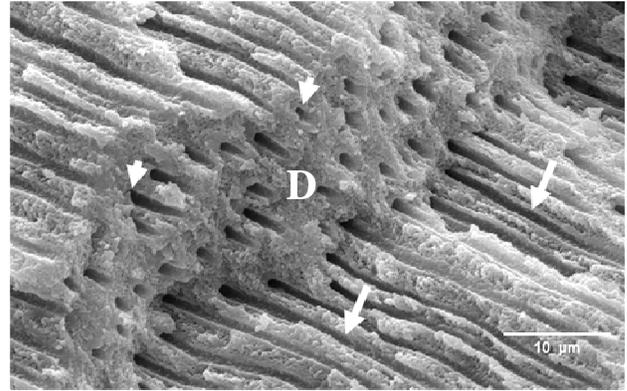
**Fig. 5.** Detalle submicroscópico de la interface esmalte-dentina (flecha) de un primer premolar superior sometido a 1150 °C, de un individuo de 62 años de edad. Se observa la estructura prismática del esmalte (estrella), la cual se mantiene a pesar del tratamiento térmico. E= esmalte, D= dentina. (1000X)



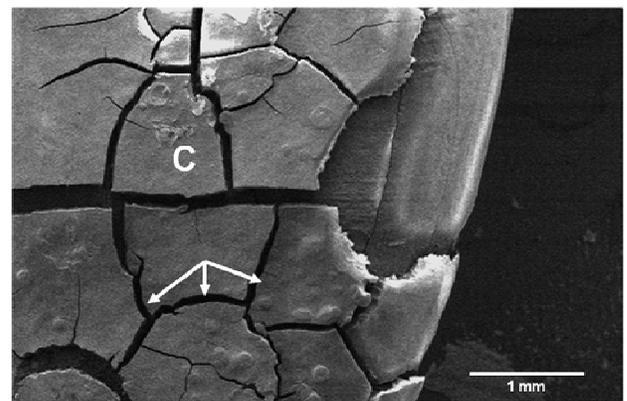
**Fig. 6.** Superficie dentinal de un incisivo central superior expuesto a 750 °C, de un individuo de 47 años de edad. Se observa la disminución de la luz de los túbulos dentinales (flecha larga), debido a la aposición de la dentina peritubular (flecha corta). Es notable el incremento de la matriz intertubular (MI). (2000X)

En el grupo de dientes tratados a 500 °C y 750 °C se conservaron los elementos ultraestructurales de la dentina y fue posible observar los cambios relacionados con el

envejecimiento (Fig. 6). Cabe destacar que en los dientes sometidos a 1150 °C, fue notable la presencia de fracturas, las cuales mostraron los túbulos dentinarios tanto en su luz como en su trayecto, así como también daño en la estructura de la pared tubular en los dientes más viejos (Fig. 7).



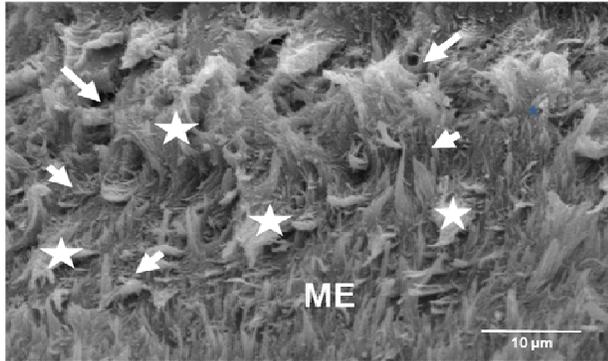
**Fig. 7.** Superficie de la dentina de un primer premolar superior sometido a 1150 °C, de un individuo de 62 años. Es notable la conservación de la estructura interna de los túbulos dentinarios, los cuales se observan seccionados transversal (flecha corta) y longitudinalmente (flecha larga). D= dentina. (2000X)



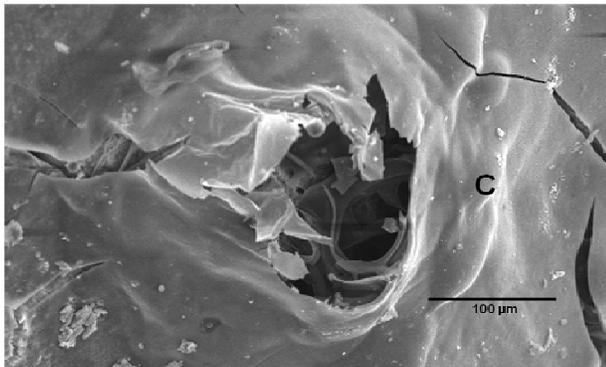
**Fig 8.** Superficie radicular de un incisivo lateral superior expuesto a 750 °C, de un individuo de 76 años de edad. Es posible reconocer la presencia del cemento (C) que muestra fracturas en patrón reticular (flechas). (21X)

En los dientes controles provenientes de pacientes jóvenes, se observaron forámenes apicales inmaduros; mientras que, en los dientes de sujetos de edad avanzada fue evidente la mayor aposición de cemento en el tercio apical, observándose también zonas de resorción.

Se evidenciaron además líneas finas de fracturas dispuestas en un patrón reticular, a nivel de toda la superficie del cemento (Fig. 8).



**Fig 9.** Estructura interna del cemento dental de un incisivo central inferior, expuesto a 750 °C, de un individuo de 47 años de edad. Se observan los elementos estructurales del cemento: matriz extracelular (ME), fibras colágenas (flecha corta) y cementocitos (estrella). Es notable la presencia de los orificios de anclaje de las fibras de Sharpey (flecha larga). (2000X)



**Fig. 10.** Superficie radicular de un tercer molar inferior expuesto a 500 °C, de un individuo de 18 años de edad. Se aprecia la ruptura de la superficie del cemento (C) con desprendimiento de los bordes, provocada por la dilatación del contenido de humedad en los tejidos radiculares. (272X)

Las características ultraestructurales del cemento se mantuvieron en todas las temperaturas evaluadas, a pesar de la aparición de múltiples fracturas y el desprendimiento del mismo en forma de capas, en los tercios cervical y medio de la raíz.

También fueron evidentes los cambios relacionados con el avance de la edad. En este sentido, se observó la presencia de líneas incrementales, principalmente en la región apical. A un mayor aumento, fue posible

identificar la ultraestructura de la matriz extracelular del cemento, independientemente de la edad del individuo y la temperatura a la cual fue sometido el diente (Fig. 9). Fue notable el daño en la superficie del cemento, sobretodo en dientes jóvenes (hasta los 30 años de edad), apreciándose como la formación de orificios redondeados con bordes elevados y desprendidos, distribuidos en forma dispersa y cuya luz permite la observación parcial de la estructura fibrosa del cemento radicular, principalmente en los tercios medio y cervical de la raíz (Fig. 10).

## DISCUSIÓN

El estudio de los cambios por envejecimiento que se producen en los tejidos duros del diente, proporciona información útil para el desarrollo de métodos que permiten la determinación de la edad en el adulto. Particularmente, en la práctica forense se realizan investigaciones con el propósito de disminuir el error estándar y mejorar su precisión.

La identificación de restos quemados o carbonizados mediante las piezas dentarias, es una tarea importante en desastres a gran escala, así como en casos donde el victimario intenta ocultar la identidad del fallecido mediante la incineración del cadáver [53]. El daño sufrido por los tejidos dentales en este tipo de víctimas, puede ser clasificado como sigue: intacto (ningún daño debido al fuego), quemados (sometido a la acción de altas temperaturas), carbonizados (reducido a carbón por combustión incompleta), incinerados (quemados hasta las cenizas) o desintegrados. Dependiendo del grado de alteración de la estructura dentaria, se dificulta entonces la preservación de la evidencia, así como el reconocimiento de los indicadores de especie, edad, raza y la obtención de muestras para el análisis del ADN [54,55].

En el presente estudio se evaluó la posibilidad de reconocer algunos indicadores de edad dental en el adulto, en dientes sometidos a altas temperaturas, tanto a

nivel microscópico como submicroscópico. En las observaciones al MO, se logró identificar la estructura del esmalte hasta los 500°C. Después de esta temperatura, la integridad del tejido se vio comprometida por el incremento en la formación de fracturas y la pérdida de la corona, lo que no permitió valorar la atrición.

Según Yamamoto y col. [56], el daño estructural en el esmalte se debe a que el calentamiento produce cambios en la disposición morfológica del mismo, causando su destrucción, lo que se ve favorecido por el hecho de que este tejido posee poca cantidad de material orgánico y agua en el intersticio, así como en la vaina del prisma y entre los cristales. Los resultados obtenidos en este trabajo concuerdan con los obtenidos por Merlati y col. [44] y Moreno y col. [47], quienes reportaron que en dientes completos sometidos al incremento gradual de la temperatura se encontraron a los 400 °C, grietas y fisuras en el esmalte. A los 600 °C, este tejido se desprendió de la dentina, mientras que después de los 800 °C la corona quedó reducida a fragmentos. Cabe destacar, que aún cuando en nuestra investigación fue evidente la pérdida progresiva de la integridad del esmalte en los dientes del grupo experimental, ésta se produjo en un rango de temperaturas levemente superior (500 °C) a lo reportado por los autores antes mencionados, lo cual puede explicarse considerando las diferentes metodologías empleadas para el calentamiento de los elementos dentarios.

En la dentina fue posible distinguir a nivel estructural, la relación entre el avance de la edad y la aposición de la dentina secundaria, así como la presencia de la esclerosis dentinal. Esta última se observó a partir de la tercera década de la vida, comenzando en el tercio apical de la raíz dentaria para luego avanzar en sentido coronal, tal como lo reportaron otros investigadores [16,25,34,37]. Vasiliadis y col. [37] destacan que los cambios que se producen en la dentina debido al envejecimiento son responsables de la formación de la dentina esclerótica y se han relacionado con la reducción del número de vasos

capilares en la zona sub-odontoblástica, y la disminución de la actividad de los odontoblastos adyacentes a las áreas translúcidas, si se compara con la capacidad funcional de dichas células, en las zonas de dentina normal. Por otra parte, la integridad del tejido se vio comprometida por el avance de la edad, pudiéndose observar la presencia de fracturas en los dientes del grupo control, a partir de los 40 años. Este hallazgo está relacionado con la disminución de la elasticidad de la dentina, debido a la pérdida del contenido orgánico y, con el consiguiente aumento en la mineralización del tejido, lo que es propio del proceso de envejecimiento.

Aún cuando la deshidratación debida al calor, es más lenta en la dentina que en el esmalte y el cemento [57], eventualmente el incremento de la temperatura complica el reconocimiento de los cambios que se producen en el tejido dentinal y que están asociados con el avance de la edad, en razón de la alteración de su arreglo morfológico y la pérdida de la integridad, dificultando así, la aplicación de los mismos como indicadores de la edad dental. Estos resultados son apoyados por los obtenidos por Moreno y col. [47] que lograron diferenciar la dentina primaria de la secundaria en dientes sometidos desde los 600 °C hasta los 1200 °C, y lo atribuyeron a la carbonización más rápida de la dentina secundaria, en razón de la presencia de odontoblastos activos.

En las observaciones del cemento al MO, se evidenció el aumento en el espesor de la capa del tejido en relación directa con la edad, apreciándose al corte longitudinal la presencia de líneas oscuras y bandas claras, que se corresponden con las líneas y bandas incrementales, respectivamente, tal como ha sido descrito en diversos trabajos [18,38,40]. En cuanto al efecto del calor sobre el cemento, fue evidente que a medida que se incrementó la temperatura, el daño estructural fue mayor observándose la formación de fracturas, así como desprendimiento del tejido, lo cual coincide con lo reportado en los estudios de Merlati y col. [44], Moreno y col. [47] y Ferreira y col. [33].

El acumulo de cemento como resultado de su continua aposición, fue más evidente en los dientes obtenidos de individuos de edad avanzada, lo cual se correspondería con los eventos de adaptación de los tejidos ante la función masticatoria para mantener la dimensión vertical, así como también podría estar asociada a la respuesta defensiva como consecuencia del trauma oclusal. En el estudio ultraestructural de los especímenes en esta investigación, pudieron ser observadas tanto la superficie externa como la estructura interna de los tejidos duros del diente, al quedar expuesta ésta última como consecuencia del tratamiento térmico, el cual originó la formación de fisuras, grietas y fracturas.

En los elementos dentarios que no fueron sometidos al tratamiento térmico fue posible observar en la superficie del esmalte, la presencia de atrición y líneas de fractura a nivel de la unión amelodentinaria, ambos hallazgos relacionados con la edad. La ultraestructura prismática del esmalte fue afectada con el incremento de la temperatura, lo que puede atribuirse a los cambios químicos y morfológicos que se producen en los tejidos duros del diente por conversión del carbonato de apatita a una fase pura de hidroxiapatita mineral con pérdida de agua y dióxido de carbono, lo que provoca la expansión del esmalte y un aumento de la cristalización [58]. Al respecto, Yamamoto y col. [56] encontraron que cuando los dientes humanos fueron sometidos a la acción del calor seco, se desarrollaron grietas en el esmalte y éste se desprendió de la superficie dentinaria, a medida que se incrementó la temperatura. A los 800 °C observaron fracturas en los primas así como la destrucción de su estructura, aunque a los 1000 °C todavía lograron identificar la presencia del tejido adamantino, lo que también se evidenciar en nuestro trabajo.

En relación a la dentina, pudo observarse tanto en los dientes del grupo control como en los expuestos a las diferentes temperaturas, la ultraestructura dentinal característica así como, que se producen en el tejido debido al envejecimiento. El aumento de la matriz

intertubular, la reducción de la luz de los tubulos dentinales y el engrosamiento de su pared, fueron hallazgos asociados con el avance de la edad y que concuerdan con los de otros estudios [19,35,37].

A nivel ultraestructural se observó que el cemento y la dentina mantuvieron mayor estabilidad estructural que el esmalte ante la acción de las elevadas temperaturas, lo cual debe estar en relación con el mayor grado de humedad, contenido en estos tejidos. El uso de las líneas incrementales del cemento como indicadores de la edad dental ha sido objeto de controversia entre los diferentes investigadores, debido a la dificultad en la estandarización de un método para su análisis. En nuestros resultados, estas líneas pudieron ser observadas en todas las muestras, independientemente de la edad del individuo y de la temperatura a la cual fueron sometidos los dientes. Sin embargo, su aplicabilidad como elemento predictor de la edad, no fue valorada en la presente investigación.

## CONCLUSIONES

Se logró la observación, tanto al MO como al MEB, de los cambios que experimentan los tejidos duros del diente relacionados con el avance de la edad. Además, se identificaron las modificaciones que sufren tales tejidos al ser sometidos al incremento controlado de la temperatura.

Todos los indicadores de edad dental resultaron afectados en mayor o menor grado por el tratamiento térmico aplicado, en todas las edades estudiadas. Por lo tanto, en futuras investigaciones es necesario profundizar en la evaluación de la aplicabilidad de tales indicadores en dientes que han experimentado la acción de altas temperaturas, con el fin de establecer su utilidad en el diagnóstico de la edad en el individuo adulto, con fines forenses.

Esta investigación fue co-financiada por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES) (Proyecto CC- 0534-08).

**REFERENCIAS**

- [1] Pretty I.A., Sweet D. (2001) "A look at forensic dentistry-Part 1. The role of teeth in the determination of human identity" *Bri Dent J* 190: 359-366.
- [2] Sweet D. (2001) "Why a dentist for the identification?" *Dent Clin North Am* 45:437-51.
- [3] Avon S.L. (2004) "Forensic Odontology: The roles and responsibilities of the dentist" *J Can Dent Assoc* 70 :453-458.
- [4] Sweet D. (2010) "Forensic dental identification" *Forensic Sci Int*. doi:10.1016/j.forensicsciint.2010.02.030.
- [5] Willems G. (2001) "A review of the most commonly used dental age estimation techniques" *J Forensic Odontostomatol* 19: 9-17.
- [6] Liversidge H.M. (2009) "Permanent tooth formation as a method of estimating age" *Front Oral Biol* 13: 153-157.
- [7] Moorrees C.F.A., Fanning E.A., Hunt E.E. (1963) "Age variation of formation stages for ten permanent teeth" *J Dent Res* 42: 1490-1502.
- [8] Demirjian A., Goldstein H., Tanner J.M. (1973) "A new system of dental age assessment" *Hum Biol* 45: 211-227.
- [9] Haavikko K. (1974) "Tooth formation. Age estimated on a few selected teeth. A simple method for clinical use" *Proc Finn Dent Soc* 70: 15-19.
- [10] Prieto J.L., Barbería E., Ortega R., Magaña C. (2005) "Evaluation of chronological age based on third molar development in the Spanish population" *Int J Legal Med* 119: 349-354.
- [11] Orhan K., Ozer L., Orhan A.I., Dogan S., Paksoy C.S. (2007) "Radiographic evaluation of third molar development in relation to chronological age among Turkish children and youth" *Forensic Sci Int* 165: 46-51.
- [12] Martín-de las Heras S., García-Forteza P., Ortega A., Zdocovich S., Valenzuela A. (2008) "Third molar development according to chronological age in populations from Spanish and Magrebian origin" *Forensic Sci Int* 174: 47-53.
- [13] Kneil B., Ruhstaller P., Prieels F., Schmeling A. (2009) "Dental age diagnostics by means of radiographical evaluation of the growth stages of lower wisdom teeth" *Int J Legal Med* 123: 465-469.
- [14] Ritz-Timme S., Cattaneo C., Collins M.J., Waite E.R., Schütz H.W., Kaatsch H.J., Borrman H.I.M. (2000) "Age estimation: the state of the art in relation to the specific demands of forensic practice" *Int J Legal Med* 113: 129-136.
- [15] Stavrianos Ch., Mastagas D., Stavrianou I., Karaiskou O. (2008) "Dental age estimation of adults: a review of methods and principals" *Res J Med Sci* 2: 258-268.
- [16] Gustafson G. (1950) "Age determination from teeth" *J Am Dent Assoc* 41: 45-54.
- [17] Solheim T. (1990) "Dental cementum apposition as an indicator of age" *Scand J Dent Res* 98: 510-519.
- [18] Kvaal S.I., Solheim T. (1995) "Incremental lines in human dental cementum in relation to age" *Eur J Oral Sci* 103: 225-230.
- [19] Gómez M., Perea B., Sánchez J.A., Labajo E. (2006) "Nueva metodología para determinar la edad en el adulto mediante el estudio de la transparencia radicular" *Revista de la Escuela de Medicina Legal* 2: 14-27.
- [20] Lucy D., Aykroyd R.G., Pollard A.M., Solheim T. (1996) "A Bayesian approach to adult human age estimation from dental observations by Johanson's age changes" *J Forensic Sci* 41: 189-194.
- [21] W.L. Davis. *Histología y Embriología Bucal*. McGraw-Hill Interamericana, México, 1985.
- [22] Durso G., Abal A. (2008) "Variabilidad de la morfología de los prismas del esmalte dental humano" *Acta Microscópica* 17: 1-8.
- [23] Gil-Chavarria I., García-García R., Reyes-Gasga J. (2008) "Comportamiento estructural de la unión

- esmalte-dentina en dientes humanos: un modelo mecánico-funcional” *Acta Microscópica* 17: 34-47
- [24] Katzemberg M.A., Oetelaar G., Oetelaar J., Fitzgerald C., Yang D., Saunders S.R. (2005) “Identification of historical human skeletal remains: a case study using skeletal and dental age, history and DNA” *Int J Osteoarchaeol* 15: 61-72.
- [25] Atsu S.S., Aka P.S., Kucukesmen H.C., Kilicarslan M.A., Atakan C. (2005) “Age-related changes in tooth enamel as measured by electron microscopy: implications for porcelain laminate veneers” *J Prosthet Dent* 94: 336-341.
- [26] Elbaum R., Tal E., Perets A.I., Oron D., Ziskind D., Silberberg Y., Wagner H.D. (2007) “Dentin micro-architecture using harmonic generation microscopy” *J Dent* 35: 150-155.
- [27] Drusini A.G., Toso O., Ranzato C. (1997) “The coronal pulp cavity index: a biomarker for age determination in human adults” *Am J Phys Anthropol* 103: 353-363.
- [28] Zilberman U. Smith P. (2001) “Sex and age –related differences in primary and secondary dentin formation” *Adv Dent Res* 15: 42-45.
- [29] Tsurumachi T., Huang T-J., Zhan W., Hagashi M., Ogiso B. (2008) “Scanning electron microscopic study of dentinal pulp walls in relation to age” *J Oral Sci* 50: 199-203.
- [30] Kvaal S.I., Kollveit K.M., Thomtsen I.O., Solheim T. (1995) “Age estimation of adults from dental radiographs” *Forensic Sci Int* 74:175-185.
- [31] Cameriere R., Ferrante L., Cingolani M. (2004) “Precision and reliability of pulp/tooth area ratio (RA) of second molar as indicator of adult age” *J Forensic Sci* 49: 1319-1323.
- [32] Cameriere R., Ferrante L., Belcastro M.L., Bonfiglioli B., Rastell E., Cingolani M. (2007) “Age estimation by pulp/tooth ratio in canines by mesial and vestibular peri-apical X-rays” *J Forensic Sci* 52: 1151-1155.
- [33] Ferreira J.L., Espina-Ferreira A., Ortega A.I. (2008) “Methods for the analysis of hard dental tissues exposed to high temperatures” *Forensic Sci Int* 178: 119-128.
- [34] Bang G., Ramm E. (1970) “Determination of age in human from root transparency” *Acta Odontol Scand* 28: 3-35
- [35] Porter A.E., Nalla R.K., Minor A., Jinschek J.R., Kisielowski C., Radmilovic V., Kinney J.H., Tomsia A.P., Ritchie R.O. (2005) “A transmission electron microscopy study of mineralization in age-induced transparent dentine” *Biomaterials* 26: 7650-7660
- [36] Vasiliadis L., Stavrianos Ch., Kafas P. (2009) “A forensic aspect of age characteristics of dentine using transversal microradiography: a case report” *Cases J.* doi : 10.1186/1757-1626-2-4.
- [37] Vasiliadis L., Darling A.I., Levers B.G. (1983) “The histology of sclerotic human dentine” *Archs Oral Biol* 28: 693-700.
- [38] Lieberman D.E. (1994) “The biological basis for seasonal increments in dental cementum and their application to archaeological research” *J Archaeol Sci* 21: 525-539.
- [39] Gonçalves P.F., Sallum E.A., Sallum A.W., Casati M.Z., de Toledo S., Nociti F.H. (2003) “Dental cementum reviewed: development, structure, composition, regeneration and potential functions” *Braz J Oral Sci* 4: 651-658.
- [40] Kvaal S.I., Solheim T., Bjerketvedt D. (1996) “Evaluation of preparation, staining and microscopic techniques for counting incremental lines in cementum of human teeth” *Biotechnic and Histochemistry* 71: 165-172.
- [41] Renz H., Schaefer V., Duschner H., Radlanski R.J. (1997) “Incremental lines in root cementum of human teeth: an approach to their ultrastructural nature by microscopy” *Adv Dent Res* 11: 472-477.
- [42] Renz H., Radlanski R.J. (2006) “Incremental lines in root cementum of human teeth-a reliable age

- marker?" *HOMO* 57: 29-50.
- [43] Aggarwal P., Saxena S., Bansal P. (2008) "Incremental lines in root cementum of human teeth: an approach to their role in age estimation using polarizing microscopy" *Indian J Dent Res* 19: 326-330.
- [44] Merlati G., Danesino P., Savio C., Fassina G., Osculati A., Menghini P. (2002) "Observation on dental prostheses and restorations subjected to high temperatures: experimental studies to aid identification processes" *J Forensic Odontostomatol* 20: 17-24.
- [45] Merlati G., Savio C., Danesino P., Fassina G., Menghini P. (2004) "Further study of restored and unrestored teeth subjected to high temperatures" *J Forensic Odontostomatol* 22: 34-39.
- [46] Moreno S., Merlati G., Marín L., Savio C., Moreno F. (2009) "Effects of high temperatures on different dental restorative systems: experimental study to aid identification processes" *J Forensic Dent Sci* 1: 17-23.
- [47] Moreno S., León M., Marín L., Moreno F. (2008) "Comportamiento in vitro de los tejidos dentales y algunos materiales de obturación sometidos a altas temperaturas con fines forenses" *Colombia Médica* 39: 28-46.
- [48] Espina A., Barrios F., Ortega A., Mavárez M. Espina O., Ferreira J.L. (2004) "Cambios estructurales en los tejidos dentales duros por acción del fuego directo, según la edad" *Ciencia Odontológica* 1: 38-51.
- [49] Savio C., Merlati G., Danesino P., Fassina G., Menghini P. (2006) "Radiographic evaluation of teeth subjected to high temperatures: experimental study to aid identification processes" *Forensic Sci Int* 158: 108-116.
- [50] Ferreira J.L., Espina-Ferreira A.I., Ortega A.I., Barrios F.A. (2009) "Estudio radiomorfométrico del efecto del calor en el diente y su aplicabilidad en la estimación de la edad con fines forenses" *Ciencia Odontológica* 6: 41-47.
- [51] Bonavilla J.D., Bush M.A., Bush P.J., Pantera E.A. (2008) "Identification of incinerated root canal filling materials after exposure to high heat incineration" *J Forensic Sci* 53: 412-418.
- [52] Bush M.A., Bush P.J., Miller R.G. (2006) "Detection and classification of composite resins in incinerated teeth for forensic purposes" *J Forensic Sci* 51: 636-642.
- [53] Ubelaker D.H. (2009) "The forensic evaluation of burned skeletal remains : a synthesis" *Forensic Sci Int* 183: 1-5.
- [54] Delattre V. (2000) "Burned beyond recognition : systematic approach to the dental identification of charred human remains" *J Forensic Sci* 45:589-596.
- [55] Mincer H.H., Berryman H.E., Murray G.A., Dickens R.L. (1990) "Methods for physical stabilization of ashed teeth in incinerated remains" *J Forensic Sci* 35 : 971-974.
- [56] Yamamoto K., Ohthani S., Kato S., Sugimoto H., Miake K., Nakamura T. (1990) "Morphological changes in human and animal enamel rods with heating. -Especially limits in the temperature allowing discrimination between human and animal teeth" *Bull Kanagawa Dent Col* 18 : 55-61.
- [57] Taylor P.T., Wilson M.E., Lyons T.J. (2001) "Forensic odontology lessons: multishooting incident at Port Arthur, Tasmania" *Forensic Sci Int* 130: 174-181.
- [58] Fried D., Zuerleing M.J., Le C.Q., Featherstone J.D. (2002) "Thermal and chemical modifications of dentin by 9-11- $\mu$ m CO<sub>2</sub> laser pulses of 5-100- $\mu$ s duration" *Lasers Surg Med* 31 :275-282.