

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

PAMELA CARON DE SOUZA

**Análise de apatita de dentes humanos por difratometria de raios X e
microscopia eletrônica de varredura: aplicação em Ciências Forenses para
estimativa de idades de indivíduos**

CURITIBA
2015

Pamela Caron de Souza

Análise de apatita de dentes humanos por difratometria de raios X e microscopia eletrônica de varredura: aplicação em Ciências Forenses para estimativa de idades de indivíduos

Trabalho apresentado à Disciplina *Trabalho de Conclusão de Curso* como requisito *parcial para a obtenção da graduação em Geologia*, Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cristina Valle Pinto-Coelho
Coorientadores: Prof. Dr. Paulo Henrique Couto Souza
Dr. Fábio Augusto da Silva Salvador

CURITIBA - PR
2015

*Aos meus pais e ao meu amor pelo incentivo, apoio, carinho e compreensão,
sobretudo, nas horas mais difíceis.*

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dr^a Cristina Valle Pinto-Coelho, pela orientação, acompanhamento, paciência e acima de tudo pelos inúmeros ensinamentos.

Ao Dr. Thiago Gomes da Silva pela ajuda imensurável nas análises e interpretações, pelas discussões produtivas e grandiosos ensinamentos.

À Dr^a Cristiane Paulin, pela doação de várias amostras de dentes.

À Cláudia de Brito, por fornecer as informações sobre os doadores.

À Dr^a Denise Cardoso, pela doação de vários dentes.

À Prof^a Maria Ângela Naval Machado pela identificação correta dos dentes permanentes e auxílio com informações relacionadas a dentes.

À Prof^a Juliana Feltrin de Souza Caparraz pela identificação dos dentes decíduos.

Ao Luís Guilherme Moreira da Silva, por compartilhar seus conhecimentos.

Aos meus coorientadores Prof. Dr. Paulo Henrique Couto Souza e Dr. Fábio Augusto da Silva Salvador, pelas informações e conhecimentos divididos.

Ao Leandro Ozahata Keiji pelas análises ao MEV.

Ao Rodrigo Secchi Secchi pelas análises de DRX.

Ao MsC. Marcelo Maceno e ao técnico do LAMIR Roberto Carlos Pereira pela preparação das amostras de dentes.

À Coordenadora Geral do LAMIR, Prof^a. Dr^a. Eleonora Maria Gouvea Vasconcellos e Coordenadora de Projetos Prof^a. Dr^a. Anelize Manuela Bahniuk Rumbelsperger, pelo apoio e autorização para a realização das análises.

RESUMO

Os dentes são os órgãos mais duradouros do corpo humano, sendo formados por minerais do grupo da apatita, principalmente $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, podendo haver em sua estrutura de 4% a 6% de ânions carbonato $(\text{CO}_3)^{2-}$. Uma das vertentes das pesquisas em Ciências Forenses baseia-se em refinar processos de identificação de cadáveres e neste contexto diversas técnicas têm sido aplicadas ao dente com o objetivo de se obter inferências sobre a idade de indivíduos. A obtenção do grau médio da cristalinidade do dente pela difratometria de raios X (DRX) é comumente empregada, partindo-se da premissa que há uma variação no grau da cristalinidade em função da idade. Outras técnicas também têm sido estudadas, embora ainda de maneira pouco difundida.

Esta pesquisa foi realizada em dezesseis dentes humanos, de doadores consentidos, onde os dentes foram concentrados em três grandes grupos: permanentes terceiros molares, permanentes não terceiros molares e decíduos. Os dentes foram analisados por difratometria de raios X e por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Nas análises por DRX os difratogramas obtidos para cada dente foram agrupados para uma comparação entre cada tipo de dente e para um mesmo tipo de dente em diferentes indivíduos; os resultados foram igualmente refinados pela equação de Scherrer para a obtenção do tamanho médio do cristalito em cada dente. Na microscopia eletrônica de varredura, os dentes foram analisados em elétrons retroespalhados para a obtenção de um espectro composicional, onde foram analisados quatro pontos, distribuídos na dentina e no esmalte. Em elétrons secundários, foram observados aspectos morfológicos como os túbulos dentinários.

De acordo com os resultados, há uma diminuição da cristalinidade com o aumento da idade do indivíduo. A cristalinidade para diversos tipos de dentes para um mesmo indivíduo é diferente, sendo que aqueles com a menor cristalinidade com relação à mesma arcada são os caninos. A maior cristalinidade do dente é observada, sobretudo, no esmalte, sendo a análise de dente total (esmalte e dentina) a forma ideal para a realização de DRX. A dentina é menos cristalina contendo maiores concentrações em CaO e Mg. Há uma tendência para a obstrução dos túbulos dentinários com o aumento da idade. Conclui-se, igualmente, que os terceiros molares não são bons indicativos de idade nem por meio de análise por DRX nem por MEV, pois possuem características bastante distintas daquelas esperadas para dentes permanentes.

Esses resultados trazem de fato uma visão inovadora para a comunidade forense, sendo um grande passo para a aplicação de técnicas capazes de fornecer mais um indicador de idade para determinado indivíduo, e assim contribuir para a identificação de vítimas desaparecidas e deslinde de crimes.

Palavras-Chave: apatita, DRX, MEV, cristalinidade, Geologia Forense, Mineralogia Forense, Odontologia Forense.

ABSTRACT

Teeth are the most enduring organs of the human body, being formed by minerals of apatite group, mainly $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, and may be in its structure 4% to 6% carbonate anions $(\text{CO}_3)^{2-}$. One of the aspects of research in Forensic Sciences based on identification of corpses refining processes and in this respect various techniques have been applied to the tooth in order to obtain inferences about the age of individuals. Obtaining the average crystallinity degree of the tooth by X-ray diffraction (XRD) is commonly used, starting from the premise that there is a variation in the degree of crystallinity as a function of age. Other techniques have also been studied, though still so little known.

This research was conducted in sixteen human teeth from consenting donors, where the teeth were concentrated in three main groups: permanent third molars, permanent no third molars and deciduous. The teeth were analyzed by X-ray diffraction and scanning electron microscopy (SEM).

In the analysis by XRD diffraction patterns obtained for each tooth were grouped for a comparison of each type of tooth and for the same kind of dent in different individuals; The results were also refined by the Scherrer equation to obtain the mean crystallite size in each tooth. In scanning electron microscopy, the teeth were analyzed in backscattered electrons to obtain a compositional spectrum, which analyzed four points, distributed in dentin and enamel. In secondary electrons have been observed morphological features as the dentinal tubules.

According to the results, there is a decrease in crystallinity with increasing age of the individual. The crystallinity for various types of teeth for the same individual is different, and those with lower crystallinity with respect to the same arcade are the canines. The higher crystallinity of the tooth is observed, especially in the enamel, the total analysis tooth (enamel and dentin) the ideal medium for performing DRX. Dentin is less crystalline containing higher concentrations of CaO and Mg. There is a tendency for obstruction of the dentinal tubules with increasing age. It concludes also that the third molars are not good indicative the age either by XRD analysis or by SEM because they have very different characteristics from those expected for permanent teeth.

These results bring indeed an innovative vision for the forensic community, being a big step for the application of techniques to provide another indicator of age for a given individual, and thus contribute to the identification of victims missing and upshot of crimes.

Keywords: apatite, XRD, SEM, crystallinity, Forensic Geology, Mineralogy Forensic, Forensic Dentistry.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 OBJETIVOS.....	9
2.1 OBJETIVO GERAL	9
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	9
3 HISTOLOGIA DO DENTE HUMANO.....	10
3.1 ESTIMATIVA DE IDADES DE INDIVÍDUOS A PARTIR DE ELEMENTOS DENTAIS.....	13
4 ESTADO DA ARTE	15
5 MATERIAIS E MÉTODOS	19
6 TÉCNICAS ANALÍTICAS APLICADAS À CARACTERIZAÇÃO DE DENTES.....	24
6.1 DIFRATOMETRIA DE RAIOS X (DRX).....	24
6.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	25
7 RESULTADOS.....	26
7.1 ANÁLISES POR DIFRATOMETRIA DE RAIOS X	26
7.2 ANÁLISES EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	33
8 DISCUSSÕES.....	39
9 CONCLUSÕES.....	47
10 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	48
REFERÊNCIAS.....	49

1 INTRODUÇÃO

Nas ciências forenses a identificação de vítimas mortas constitui uma tarefa importante para estes profissionais. É vital saber quando a pessoa morreu, determinar sexo e idade do falecido, a fim de se limitar o campo de busca por possíveis indivíduos. Hoje, praticamente todos os países têm especialistas forenses que auxiliam o sistema judiciário a tomar decisões justas nos tribunais e lidar com crimes violentos. A antropologia forense é uma importante aplicação de técnicas antropológicas atualmente em todo o mundo. Uma combinação de osteologia humana e justiça penal é usada para construir um perfil de um conjunto de restos mortais.

A identificação de cadáveres desconhecidos é uma tarefa frequente e importante, independentemente da causa ou circunstância do óbito. Desastres de massa, sejam devidos a terremotos, inundações, incêndios ou explosões, implicam esforços consideráveis para recuperar e identificar os restos mortais das vítimas tanto por razões humanitárias quanto legais. Essas perdas implicam custos econômicos extremos e sofrimento individual inimaginável para aqueles envolvidos.

O trabalho de identificação de uma vítima pode continuar por um longo tempo e muitas vítimas podem permanecer sem identificação devido a informações incompletas sobre pessoas. Assim, torna-se crucial a constituição de um perfil biológico detalhado.

Um perfil biológico consiste em uma estimativa do sexo, ascendência, estatura e idade de um indivíduo, informações estas que podem configurar uma identificação positiva ou negativa de uma pessoa falecida.

A estimativa da idade de um corpo é um componente importante do perfil biológico e é uma etapa essencial nas investigações para a identificação de vítimas desconhecidas.

O estudo de dentição é um dos elementos mais clássicos para a determinação da idade. Sob este aspecto, a análise da estrutura cristalina da

apatita, principal constituinte do dente, fornece dados importantes acerca da estimativa da idade do indivíduo.

A literatura é farta quando o assunto é a variação do grau de cristalinidade da apatita de dentes, no entanto, poucas delas correlacionam esta informação com o padrão de idade dos indivíduos.

Há uma variação da cristalinidade média geral da apatita de dentes humanos em função da idade dos indivíduos. Para dentes mais velhos o grau de cristalinidade tende a ser menor, enquanto que para dentes mais novos a cristalinidade é maior.

Inúmeras outras características relacionadas a dentes podem ser obtidas quando os dentes são submetidos a diferentes análises. A morfologia, divisão anatômica e estrutural, composição química mineralógica, o grau de porosidade, a deposição de diferentes dentinas, o preenchimento dos túbulos dentinários são particularidades que podem ser visualizadas em uma análise por microscópio eletrônico de varredura, por exemplo. Essas informações podem, também, trazer inferências sobre a idade de indivíduos.

Este trabalho pretende caracterizar estrutural e mineralogicamente a apatita de dentes humanos, buscando determinar o valor da cristalinidade média da apatita pelo método de difratometria de raios X, bem como mapear elementos químicos e caracterizar o espaço poroso pela microscopia eletrônica de varredura, em dentições decíduas e permanentes, a fim de se estabelecer inferências sobre a idade de indivíduos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Caracterização estrutural e mineral de apatita de dentes humanos para inferências sobre idades de indivíduos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- i) Determinar a cristalinidade média de apatita de dentes humanos, em dentições decíduas e permanentes;
- ii) Mapear elementos químicos, sobretudo, Ca, C e P, em dentições decíduas e permanentes;
- iii) Caracterizar o espaço poroso encontrado em dentes decíduos e permanentes;
- iv) Estabelecer inferências sobre idades de indivíduos a partir das características estruturais e químicas da apatita dental.

3 HISTOLOGIA DO DENTE HUMANO

Os dentes são as partes mais duradouras do corpo humano, sendo formados por espécies minerais do grupo isomórfico da apatita, majoritariamente hidroxiapatita (96%), cuja composição química é $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$. Mudanças estruturais podem ocorrer devido a substituições múltiplas nos sítios cristalográficos em que o conteúdo de carbonato pode variar de 4 a 6 % (Leventouri *et al.*, 2009).

Histologicamente o dente é dividido em esmalte, dentina, polpa e cimento (FIGURA 1).

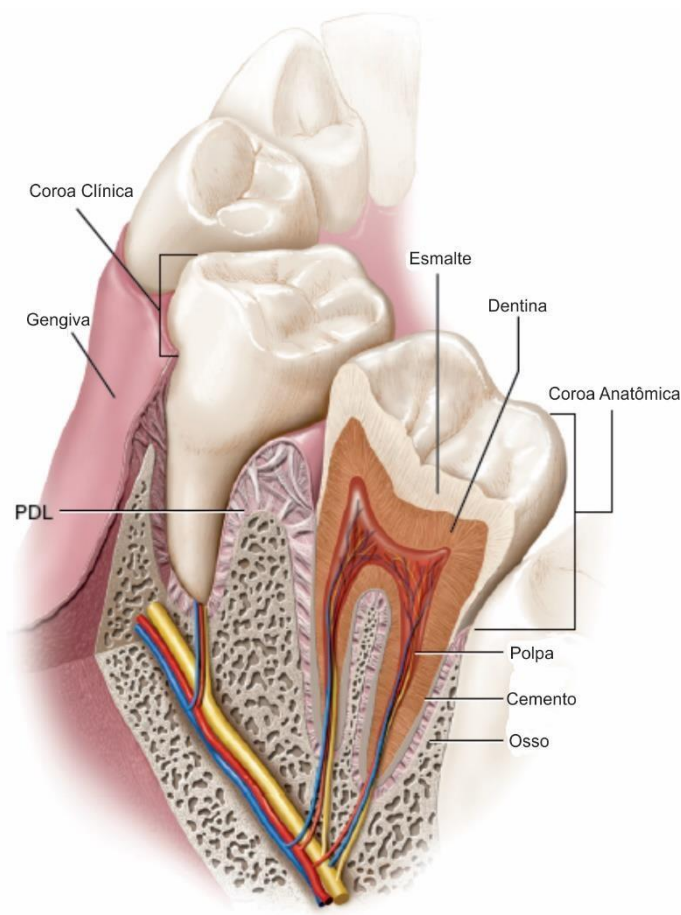


FIGURA 1 – Histologia do dente, mostrando suas divisões em esmalte dentina polpa e cimento, além da sua estrutura de suporte (Nanci, 2013).

O esmalte é altamente mineralizado, cerca de 95-96%, com traços de conteúdo orgânico que está distribuído entre os cristais de hidroxiapatita. Esses

cristais são orientados e condicionados dentro de uma estrutura semelhante a um bastão (FIGURA 2).

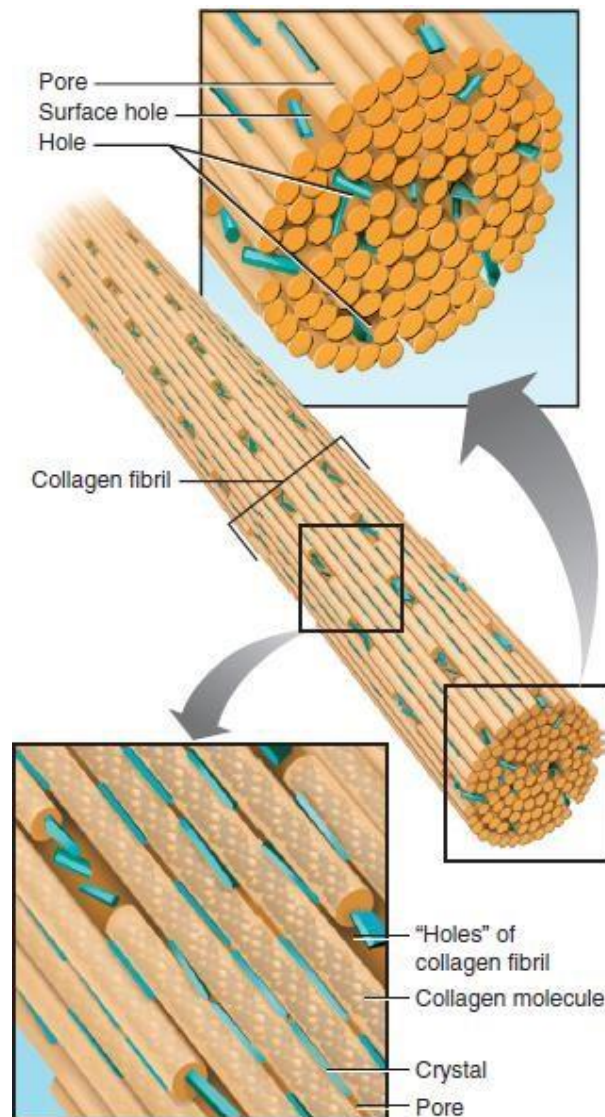


Figura 2 - Disposição dos cristais de hidroxiapatita na estrutura do dente (Nanci, 2013).

A dentina protege a polpa e sustenta o esmalte, possui constituintes inorgânicos e orgânicos em proporção de 70% para parte mineral, 20% para matriz orgânica e 10% de água aproximadamente. Pode ser dividida, segundo a sua localização, em dentina do manto, dentina interglobular, dentina circumpulpar, dentina peritubular e intertubular (FIGURA 3 A e B).

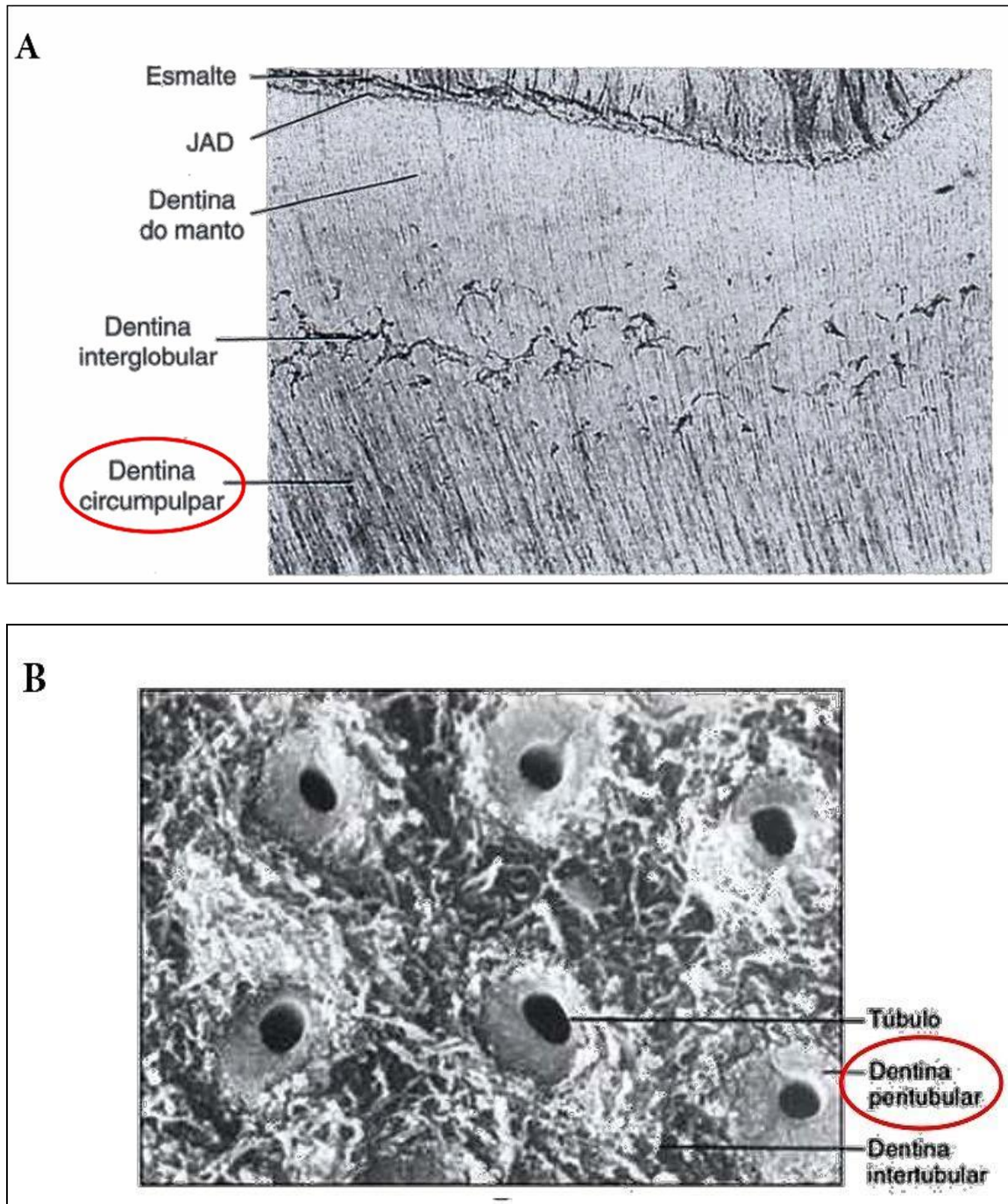


FIGURA 3- Imagem de microscópio eletrônico de varredura. A) Dentina de manto, interglobular, circumpulpar e junção amelodentinária (JAD). B) Dentina peritubular, intertubular e túbulos dentinários (Nanci, 2013).

A dentina pode ser dividida de acordo com o momento de formação, em dentina primária, formada até o término de formação da raiz, secundária, que ocorre com o processo de alteração da deposição de dentina primária para secundária havendo uma mudança no trajeto dos túbulos dentinários (FIGURA 4) e por vezes, dentina terciária, quando há um processo patológico.

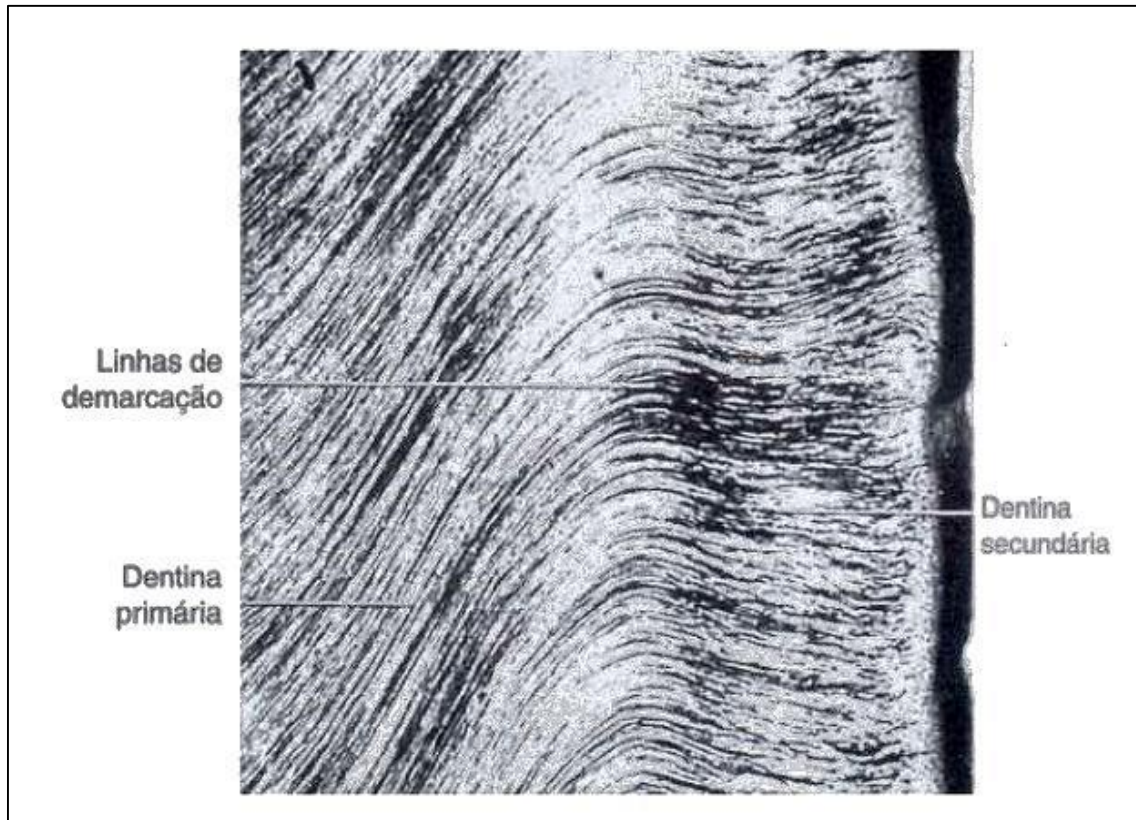


FIGURA 4- Diferença de organização da dentina primária e dentina secundária (Nanci, 2013).

A polpa não é mineralizada e corresponde à parte vascularizada que tem função formadora, nutritiva, protetora e reparadora. O cemento é o tecido calcificado que recobre a superfície da raiz do dente, sendo que seu percentual de material inorgânico varia entre 40 e 60%; tem função adaptativa e de ancorar o dente ao suporte.

3.1 ESTIMATIVA DE IDADES DE INDIVÍDUOS A PARTIR DE ELEMENTOS DENTAIS

Atualmente odontólogos forenses possuem métodos para a caracterização da idade de um indivíduo, porém todos esses métodos são baseados no princípio de que o esqueleto humano sofre alterações específicas e previsíveis ao longo da vida de uma pessoa.

Nos indivíduos que não tenham atingido a vida adulta o exame de erupção dentária, desenvolvimento, desgaste e maturação dental são os indicativos mais

preciosos de idade. Entretanto, nos indivíduos adultos os principais métodos descritos são de desgaste das superfícies oclusais, posição da dentina secundária, posição do cemento na raiz, reabsorção radicular, translucidez da raiz, além de desenvolvimento de terceiros molares.

No entanto, é necessário ressaltar que essas técnicas trabalham quase que exclusivamente com uma comparação visual, sendo que alguns critérios são subjetivos a ponto de não adotarem possíveis variações de uma pessoa para outra.

Exames antropológicos muitas vezes fornecem estimativa de idade da vítima com uma diferença de 15 anos, o que nem sempre torna-se útil para aplicações forenses (Alkass, 2011).

O desafio atual dos pesquisadores é desenvolver métodos simples, rápidos e de baixo custo para a estimativa de idade. Assim, a possibilidade de se determinar a idade de um indivíduo a partir de um único dente, empregando-se uma técnica que não requer um exame visual, pode ser uma ferramenta valiosa para uma extensa gama de contextos forenses.

Desta forma, torna-se vital uma abordagem multidisciplinar para que todas as características de dentes aplicáveis às Ciências Forenses sejam conhecidas, não apenas por parte de odontologistas forenses, mas também por profissionais de áreas afins. A Mineralogia Forense, embora pouco difundida, sobretudo no Brasil, é o ramo capaz de caracterizar a tipologia químico-mineralógica da apatita de dentes humanos e correlacionar com a idade de indivíduos. Faz-se necessário, assim, um desenvolvimento de pesquisas e técnicas nesta área de especialização, para que esse conhecimento possa ser utilizado em perícias criminais.

Um método baseado na difração de raios X pode ser usado quando os dentes são os únicos elementos que estão bem conservados em uma vítima (Wilson, 2009).

4 ESTADO DA ARTE

Baig (1997) propõe um estudo para aplicar o conceito de solubilidade de equilíbrio metaestável (MES) para apatitas carbonatadas sintetizadas por métodos diferentes e analisar as influências das variáveis físico-químicas importantes como o teor de carbonato, temperatura de síntese, a cristalinidade e microtensão. A hidroxiapatita tem uma estrutura cristalina hexagonal com 18 íons por célula unitária. Os principais são os íons de cálcio e de fosfato, mas uma série de outros íons de impurezas podem ser facilmente acomodados na estrutura da hidroxiapatita.

A principal impureza são os íons de carbonato presentes em concentrações variáveis de aproximadamente 3% no esmalte e 5-6% em dentina e ossos. A presença de impurezas foi testada para avaliar sua influência sobre os processos de biomineralização e desmineralização de apatitas biológicas.

A apatita carbonatada foi usada como um composto modelo para prever as propriedades físicas e químicas e de comportamento de dissolução de apatitas biológicas. Os efeitos da substituição de carbonato em apatitas são manifestados como alterações nos parâmetros de rede, no tamanho do cristal, grau de desordem e mudanças na morfologia do cristal (BAIG,1997).

A cristalinidade das apatitas carbonatadas foi determinada por difração de raios X, sendo que a família de planos utilizada como média para a cristalinidade foi (002). Os padrões de raios X para 9 amostras foram característicos de apatita e os resultados mostram que uma vez que a cristalinidade é contabilizada não há nenhum efeito adicional de carbonato na solubilidade metaestável da apatita carbonatada (BAIG, 1997).

A substituição de carbonato resulta em uma expansão dos elementos do eixo c da célula unitária e uma diminuição na cristalinidade da apatita. Os picos tornam-se ampliados com o aumento dos teores de carbonato e a diminuição da temperatura de síntese.

Uma vez conhecidas as formas e amplitudes dos picos, esses resultados são utilizados para analisar imperfeições microestruturais, tais como, microtensões. Os resultados indicam que o efeito da microtensão é o fator dominante no controle a solubilidade da apatita. Os efeitos de teor em carbonato foram mais pronunciados no parâmetro microtensão do que no parâmetro tamanho de cristalito que é o parâmetro de mínima quantidade de cristal.

Wilson (2009), em um estudo de prova, testou a viabilidade do uso da técnica de difração de raios X em amostras de dentes para estimar a idade. O primeiro grupo a ser testado, utilizando dentes de porcos, foi analisado para definir a viabilidade da utilização de dentes para a técnica por difração de raios X. O segundo grupo testado, também usando dentes de porcos, foi analisado para testar se havia diferença de cristalinidade no tipo de dente em um mesmo indivíduo. O terceiro grupo analisado, com dentes humanos, foi utilizado para reafirmar os demais grupos e apresentar provas sobre a correlação entre o tamanho do cristalito e a idade de um indivíduo.

A utilização de dentes de porcos se deu devido as suas inúmeras semelhanças com os de seres humanos, além de serem abundantes e facilmente obtidos. As amostras de dentes de porcos e de humanos, num total de 16 amostras, foram comparadas com base na idade, espécies, tipo de dente e a posição do dente na boca (WILSON, 2009).

O primeiro teste realizado em dentes de porcos visou determinar se a hidroxiapatita em dentes forneceria intensidade de pico, o que permitiria a análise do tamanho do cristalito. O segundo teste visou a comparação entre a composição e tamanho de cristalito entre as amostras do primeiro grupo de dentes de porcos diferentes. O terceiro teste foi direcionado para dentes de um mesmo porco determinando o tamanho do cristalito e as diferenças entre os tipos de dentes em um único indivíduo. O quarto teste, em dentes humanos, comparou amostras para o tamanho do cristalito e correlacionou com a idade dos indivíduos.

A equação de Scherrer, que determina o tamanho do cristalito correlacionando a medida da largura a meia altura do pico do difratograma com o comprimento de onda da radiação incidente, o ângulo de Bragg e uma constante

que depende da estrutura cristalina do material a ser analisado, foi usada para picos únicos do difratograma, com resultado composto pela média entre vários picos.

Os resultados confirmaram a hidroxiapatita. Houve uma tendência de diminuição do tamanho do cristalito com o aumento da idade do indivíduo. O canino maxilar parece ser significativamente menor que os outros tipos de dentes. Pequenas variações foram observadas entre as idades de 17 até 25 anos (WILSON, 2009).

O tipo de dente foi um fator de vital importância no estudo. A idade de um dente é diferente de outro do mesmo indivíduo devido à diferença no tempo de desenvolvimento do dente, ou seja, há diferença no tamanho médio de cristalito nos dentes de uma mesma pessoa. Os dentes com os menores tamanhos de cristalito foram os dentes caninos.

Segundo Wilson (2009), os dentes cariados e lesionados que foram analisados forneceram resultados satisfatórios que condiziam com o esperado, então a presença de agentes externos como cáries e lesões dos dentes foram descartados como um fator de influência, que poderia modificar os resultados. O desenvolvimento de dentina secundária foi visto como um fator que contribui para a redução do tamanho de cristalito médio.

Leventuri *et al.* (2009) estudaram a média das propriedades do cristal de apatita em dentes humanos como uma função dente-idade na faixa de 5-87 anos, sem separação de dentina e esmalte. O objetivo foi correlacionar as médias das propriedades das estruturas cristalinas do envelhecimento dental da apatita com os parâmetros que criam as mudanças estruturais. Os autores relataram alguns resultados preliminares sobre tendências sistemáticas das médias dos parâmetros da estrutura cristalina e teor de carbonato em apatita dentária humana utilizando análise termogravimétrica (TGA), difratometria de raios X (DRX) e espectroscopia de infravermelho (FTIR) no dente em pó.

As medições de difração de pó por raios X foram realizadas e os dados obtidos foram refinados pelo método de Rietveld e utilizados para análise da estrutura de cristal dos padrões de difração apenas para a fase da hidroxiapatita. As análises termogravimétricas foram utilizadas para avaliar o teor de carbonato

nas amostras. A espectroscopia de infravermelho foi usada para estudar a presença de carbonato em hidroxiapatita na estrutura das amostras.

Os padrões de difração de raios X revelaram uma diminuição sistemática da cristalinidade de apatita de dentes humanos com o aumento da idade. Foi perceptível que padrões coletados a partir de dentes de 45 anos de idade mostram materiais altamente cristalizados, enquanto que os padrões de dentes com maiores idades exibem um alargamento dos cumes de Bragg, o que indica uma crescente perda de cristalinidade. O tamanho do cristalito médio foi calculado usando a equação de Scherrer. Os tamanhos dos cristalitos médios dos cristais variam de aproximadamente 12 nm (dentes com idade avançada) até 38 nm (dentes com idade mais jovem).

Segundo Leventuri *et al.* (2009), ocorre variação das médias das propriedades de estrutura cristalina de apatita humana dental em função da idade e a diminuição da estrutura constante, em oposição à idade dentária em apatita, está associada com o aumento da quantidade de carbonato, que por sua vez, está relacionado com o aumento da solubilidade, resultante da diminuição da cristalinidade.

Silva *et al.* (2015) analisaram dente total (esmalte e dentina) por difratometria de raios X, visando comprovar e quantificar a redução de cristalinidade da apatita em função da idade e a diferença de cristalinidade entre esmalte e dentina. O trabalho foi dividido em três grupos de amostras: i) dentes permanentes de uma paciente em idade avançada; ii) dentes decíduos e iii) terceiros molares. Houve refinamento dos dados pela equação de Scherrer para os picos das amostras nos planos (002), (310), (211), (112) e (300).

Os autores obtiveram um tamanho médio de cristalito de 35 nm para dentes permanentes, enquanto os dentes decíduos apresentaram um valor de 43 nm, comprovando a redução da cristalinidade em função da idade. Na análise separada de esmalte e dentina, o esmalte apresenta tamanho médio de cristalito igual a 36 nm para dentes permanentes e 47 nm para os dentes decíduos, enquanto que para ambas as dentições a dentina mostra valores de 10 nm, destacando uma acentuada mudança em relação ao dente total.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização desta pesquisa, após revisão bibliográfica sobre histologia dental para compreensão dos processos de formação, estruturação e, ainda sobre, técnicas analíticas aplicadas a dentes, sobretudo aquelas com implicações forenses, definiu-se o universo amostral.

Foram analisados dezesseis dentes humanos, todos de doadores consentidos. Os dentes foram separados em três grupos: os dentes decíduos, os dentes permanentes terceiros molares e os dentes permanentes diferentes de terceiros molares, cujas características são mostradas na Tabela 1.

As amostras foram identificadas por cinco dígitos alfanuméricos, sendo que as três primeiras letras correspondem as iniciais do nome de cada doador e os dois números seguintes correspondem a posição do dente em relação a arcada dentária, de acordo com a notação dentária da Federação Dentária Internacional (FDI), em que o primeiro número corresponde ao quadrante do dente e o segundo número corresponde ao tipo de dente, diferenciados para dentes decíduos e permanentes (Figura 5 A e B).

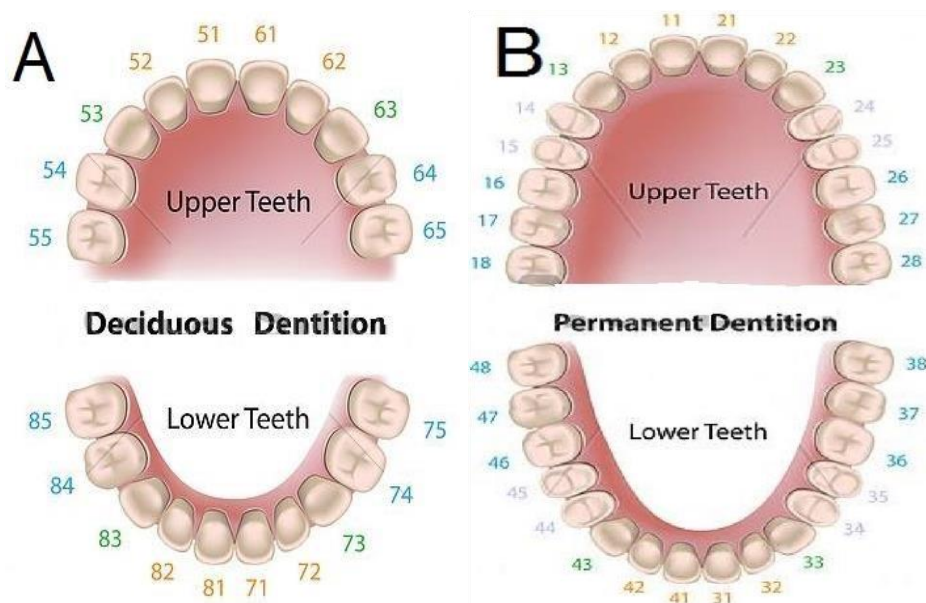


FIGURA 5 – A) Notação dentária para dentes decíduos. B) Notação dentária para dentes permanentes. Fonte: <http://www.canstockphoto.com.br/dental-nota%C3%A7%C3%A3o-permanente-dentes9518142.html> acesso em 04/11/15, modificado.

TABELA 1 – CARACTERÍSTICAS DOS DENTES EMPREGADOS NESTA PESQUISA

IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA	TIPO DE DENTE	IDADE DE RETIRADA
FAB-28	Permanente: Terceiro molar superior esquerdo, em boca por pouco tempo	27 anos
FAB-38	Permanente: Terceiro molar inferior esquerdo, em boca por pouco tempo	27 anos
PAU-18	Permanente: Terceiro molar superior direito, em boca por pouco tempo	22 anos
PAM-48	Permanente: Terceiro molar inferior direito, em boca por pouco tempo	23 anos
MAU-75	Decíduo: Segundo molar inferior esquerdo	11 anos
MAU-63	Decíduo: Canino superior esquerdo	11 anos
MAU-85	Decíduo: Segundo molar inferior direito	11 anos
THE-75	Decíduo: Segundo molar inferior esquerdo	9 anos
THE-63	Decíduo: Canino superior esquerdo	10 anos
THE-85	Decíduo: Segundo molar inferior direito	9 anos
THE-51**	Decíduo: Incisivo central superior direito	7 anos
TAD-43	Permanente: Canino inferior direito	60 anos
MAR-17	Permanente: Segundo molar superior direito	52 anos
DAN-46	Permanente: Primeiro molar inferior esquerdo	33 anos
CLA-37*	Permanente: Segundo molar inferior esquerdo	35 anos
JOE-36*	Permanente: Primeiro molar inferior esquerdo	20 anos

(*) Amostras com análise apenas de dentina no DRX

(**) Amostra utilizada apenas para MEV

Após a identificação dos dentes, procedeu-se à higienização dos mesmos, imergindo-os em uma solução de 1L de água ultrapura com 20 mL de detergente, durante 15 minutos, com posterior esfregação com escova de dentes e enxágue em água ultrapura para eliminar possíveis contaminações superficiais do dente.

Em seguida, os dentes foram serrados ao meio ao longo do maior comprimento, ou seja, no sentido vertical (FIGURA 6) e colocados em estufa a 70°C por 24 horas para auxiliar na pulverização posterior.



FIGURA 6 A e B – Corte em sentido vertical/longitudinal dos dentes.

Uma das metades foi mantida íntegra e a outra metade pulverizada, sendo esta última colocada em panela de tungstênio (FIGURA 7) e friccionada no moinho de pulverização por 10 segundos.

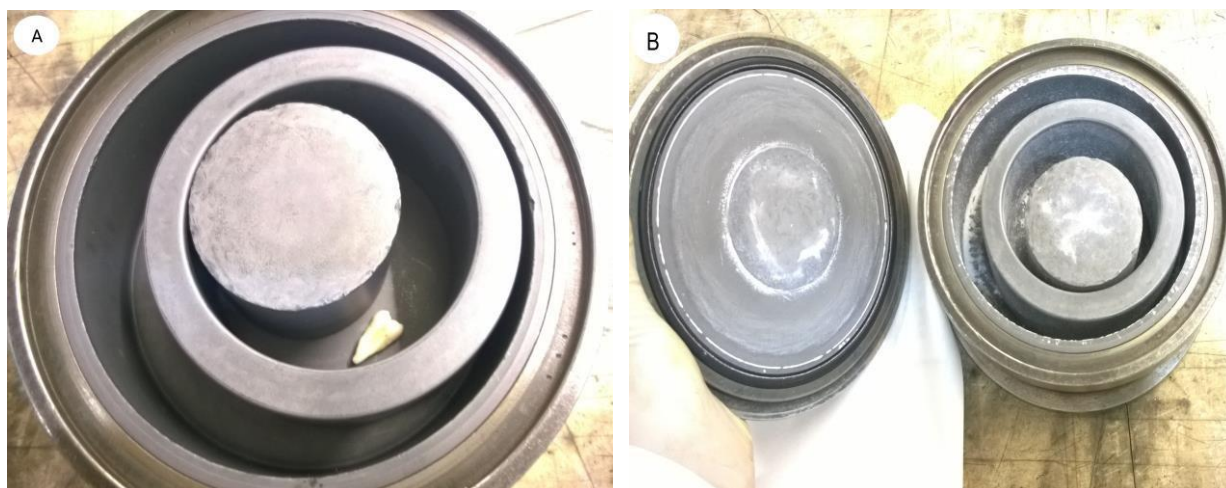


FIGURA 7 - Panela de tungstênio. A) Metade do dente. B) Dente pulverizado.

Em seguida, as amostras foram analisadas por difratometria de raios X (a partir da confecção de lâminas de pó) em difratômetro da marca Panalytical, modelo Empyrian, com detector X- Celerador e linha de emissão CuKalpha= 0,154060 nm. Os difratogramas obtidos foram refinados usando o software gráfico Origin 9.0. Para análise por difratometria de raios X foram utilizadas 15 metades de diferentes dentes pulverizados, sendo 13 amostras de dente total (esmalte mais dentina) e 2 amostras apenas de dentina, onde o pó foi colocado em pastilhas prensadas (FIGURA 8), e levadas para análise no difratômetro de raios X de acordo com a geometria theta vs. 2 theta.



FIGURA 8 – A) Material para preparo das pastilhas prensadas. B) Pastilhas prensadas com amostras de dentes pulverizados.

Além da difratometria de raios X, metade de quatro dentes, sendo elas referentes as amostras TAD-43, PAM-48, THE-51 e THE-85 foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) em equipamento da marca JEOL JSM6010 LA - *Analytical Scanning Electron Microscope*, com detectores de EDS e de catodoluminescência acoplados. Para essa análise as amostras foram colocadas sob alto vácuo na câmara do MEV, por cinco horas e após esse período foram retiradas e metalizadas com Au (FIGURA 9).

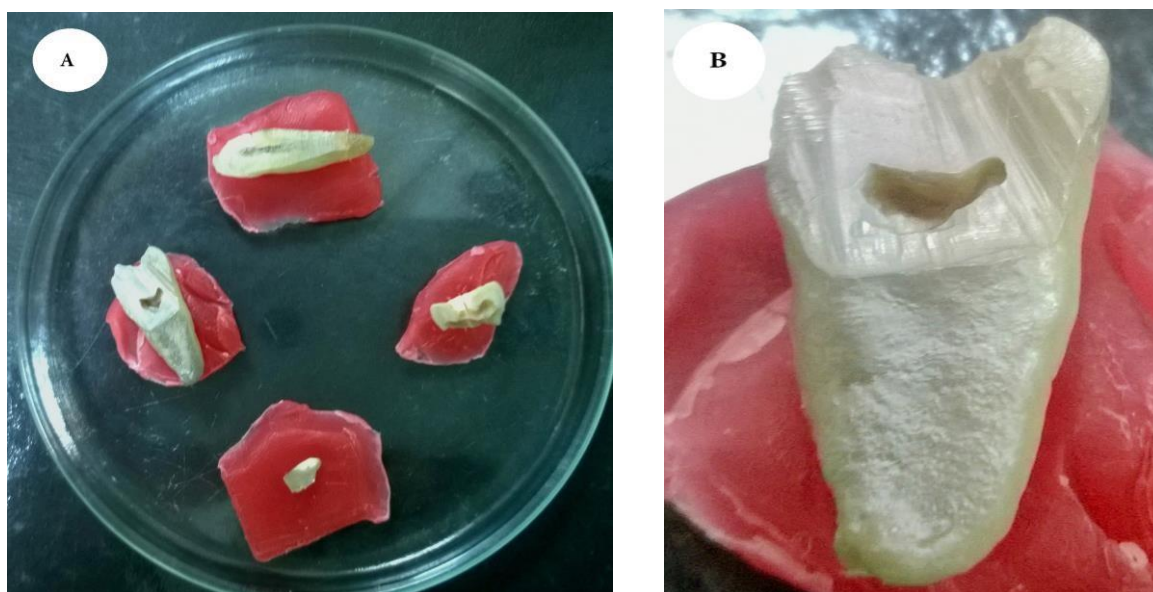


FIGURA 9 – Amostras para MEV. A) Preparo das amostras para a câmara do MEV. B) Detalhe de amostra com película superficial metalizada com Au.

Todos os procedimentos de preparação e análises das amostras foram realizados no LAMIR - Laboratório de Análise de Minerais e Rochas, do Departamento de Geologia da Universidade Federal do Paraná.

A seguir será feita uma breve explanação sobre as duas técnicas analíticas empregadas nesta pesquisa para, em seguida, discutir-se os resultados obtidos.

6 TÉCNICAS ANALÍTICAS APLICADAS À CARACTERIZAÇÃO DE DENTES

6.1 DIFRATOMETRIA DE RAIOS X (DRX)

A difratometria de raios X é uma das principais técnicas para a determinação da estrutura cristalina e é destrutiva e fornece informações por meio da regularidade do arranjo cristalino de cada mineral.

Na maioria dos sólidos (cristalinos), os átomos se ordenam em planos orientados separados entre si por distâncias interplanares da mesma ordem de grandeza dos comprimentos de onda dos raios X. Ao incidir um feixe de raios X em um cristal, o mesmo interage com os átomos presentes, originando o fenômeno da difração (Albers *et al.*, 2002).

A difração de raios X é expressa segundo a Lei de Bragg (EQUAÇÃO 1), que estabelece a relação entre o ângulo de difração θ de Bragg e a distância entre os planos que a originam:

$$2d\sin(\theta) = \lambda \quad (1)$$

De acordo com a Lei de Bragg, há interferência construtiva que ocasiona picos de difração, sendo que a intensidade de cada pico é proporcional a quantidade de planos - com interferência construtiva - do cristal.

As condições de interferência construtiva correlatas a ângulos de Bragg diferentes são relacionadas ao caráter aleatório de pequenas regiões (cristalitos) no sólido. São os cristalitos que geralmente são os responsáveis pela obtenção do caráter estrutural da rede cristalina em um difratograma, quanto maior o cristalito maior o grau de cristalinidade do cristal (Silva, 2014).

O tamanho do cristalito médio é determinado pela equação de Scherrer (EQUAÇÃO 2):

$$\beta_{1/2} = \frac{0,9\lambda}{d_g \cos \theta_{Bragg}} \quad (2)$$

Nesse trabalho a técnica de difratometria de raios X foi utilizada para avaliação do grau de ordenamento dos cristais de apatita em dente humanos, remetendo a informações sobre a cristalinidade média.

As amostras levadas para o difratômetro de raios X geram difratogramas que foram refinados no programa Origin 9.0. Os difratogramas foram, em um primeiro momento, agrupados de acordo com o tipo de amostras pertencentes, ou seja, dentes decíduos, permanentes diferentes de terceiros molares e terceiros molares, para fins de comparação entre os mesmos tipos de dentes. Os parâmetros que compõem os difratogramas são o ângulo 2θ de Bragg com a intensidade relativa dos picos em porcentagens.

6.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura é a principal técnica de imageamento para diversos materiais, podendo determinar detalhes estruturais. É uma técnica não destrutiva que permite resultados qualitativos e semi-quantitativos. Diferentemente do microscópio óptico convencional a magnitude da imagem de um microscópio eletrônico de varredura pode atingir 900 mil vezes dependendo do material, mas normalmente a magnitude fica na ordem de 10 mil vezes.

A formação da imagem no microscópio eletrônico ocorre pelas colisões dos elétrons do feixe com os elétrons da amostra. O feixe de elétrons é colimado por deflectores magnéticos que servem como uma lente magnética e convergem o feixe na superfície da amostra. (Silva, 2014).

Quando elétrons do feixe interagem com a amostra, vários são os tipos de sinais (radiação) emitidos. Os sinais de maior importância para que ocorra a formação da imagem são os elétrons retroespalhados (ERE) e secundários (ES).

À medida que o feixe de elétrons primários varre a amostra estes sinais sofrem modificações de acordo com as variações da superfície (Maliska, s/d). Os elétrons retroespalhados fornecem uma imagem da superfície que caracteriza componentes com densidades diferentes, ou seja, a variação composicional. Os elétrons secundários fornecem uma análise superficial topográfica da amostra e possuem uma resolução muito superior.

Esse trabalho emprega a microscopia eletrônica de varredura com a finalidade de se obter uma caracterização química e mineralógica das estruturas, mapeamento

químico por EDS (espectro de dispersão de energia), bem como a presença de elementos traços presentes na apatita de dentes humanos.

7 RESULTADOS

7.1 ANÁLISES POR DIFRATOMETRIA DE RAIOS X

Para a análise de terceiros molares as amostras selecionadas foram FAB-28, FAB-38, PAU-18 e PAM-38 e os picos dos difratogramas de cada amostra analisada foram (002), (211), (112), (300) e (310), como é mostrado a seguir (FIGURA10):

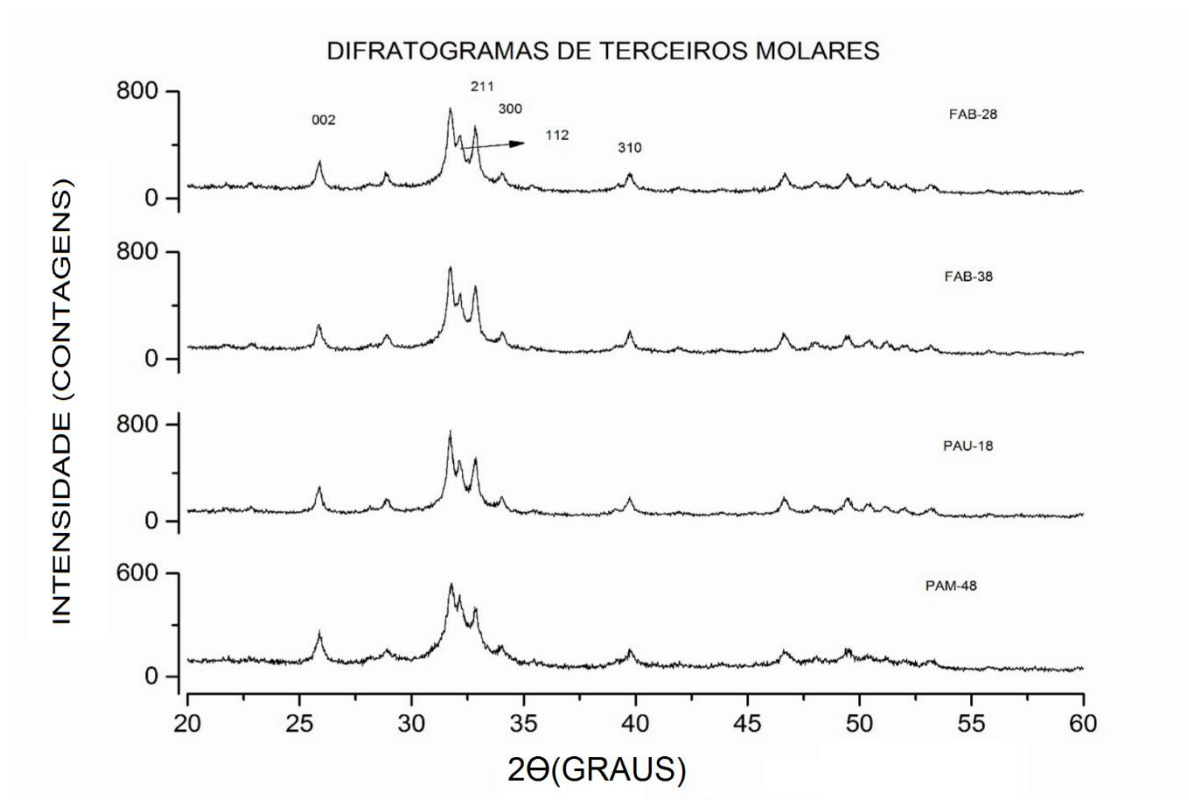


FIGURA 10 – Difratogramas comparados de terceiros molares, com os picos analisados

As amostras obtidas para análises de dentes permanentes (exceto terceiros molares), em análise de dente total foram as denominadas TAD-43, MAR-17 e DAN46. Pelas baixas intensidades os picos (112) e (300) não foram analisados na

amostra TAD-43 e o pico (211) não foi analisado na amostra MARA-17 (FIGURA 11).

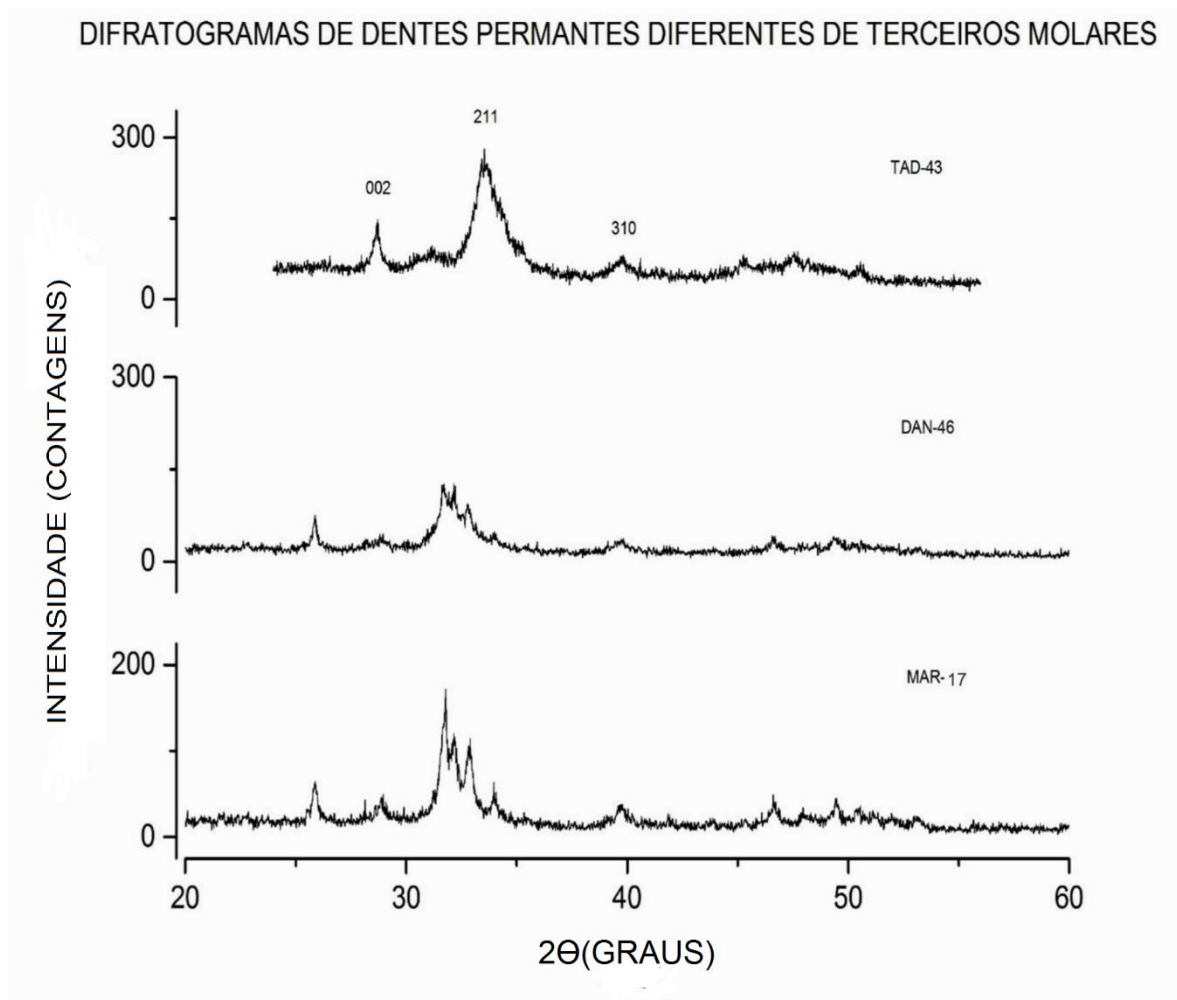


FIGURA 11 – Difrátogramas de dentes permanentes diferentes de terceiros molares para a análise de dente total.

Duas amostras foram selecionadas para serem analisadas por difratometria de raios X, apenas com o conteúdo da dentina, ou seja, sem presença de esmalte: as amostras de dentes permanentes não terceiros molares (CLA-37 e JOE-36), sendo que o pico (112) não foi analisado para a amostra JOE-36 e o pico (300) não foi analisado para ambas as amostras (FIGURA 12).

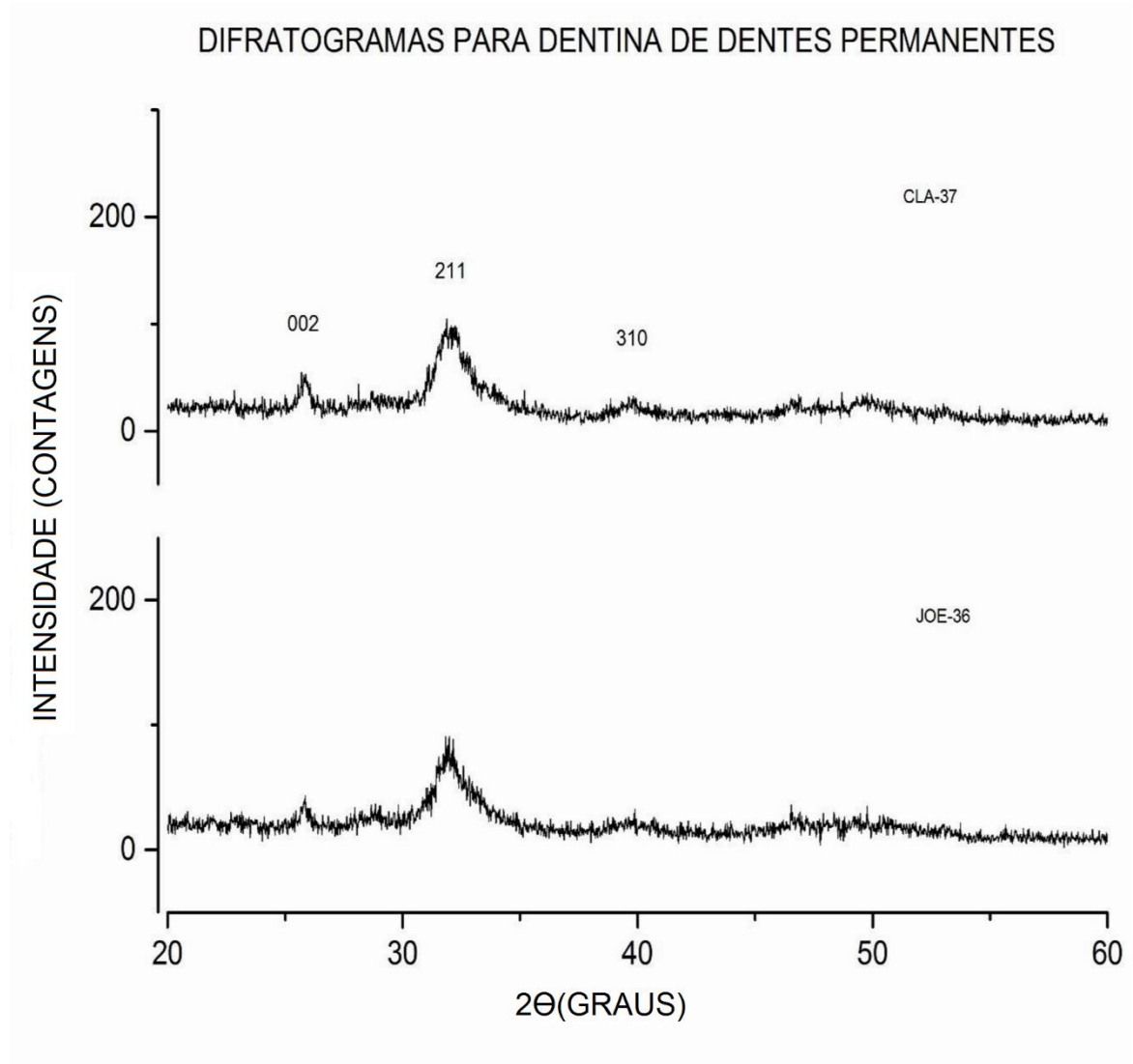


FIGURA 12- Difrátogramas para análise de dentina de dentes permanentes diferentes de terceiros molares.

Para dentes decíduos foram analisadas as amostras THE-75, THE-63, THE75, MAU-85, MAU-75 e MAU-63, (FIGURA 13) sendo que todos os picos foram analisados com exceção do pico (112) para o dente THE-63.

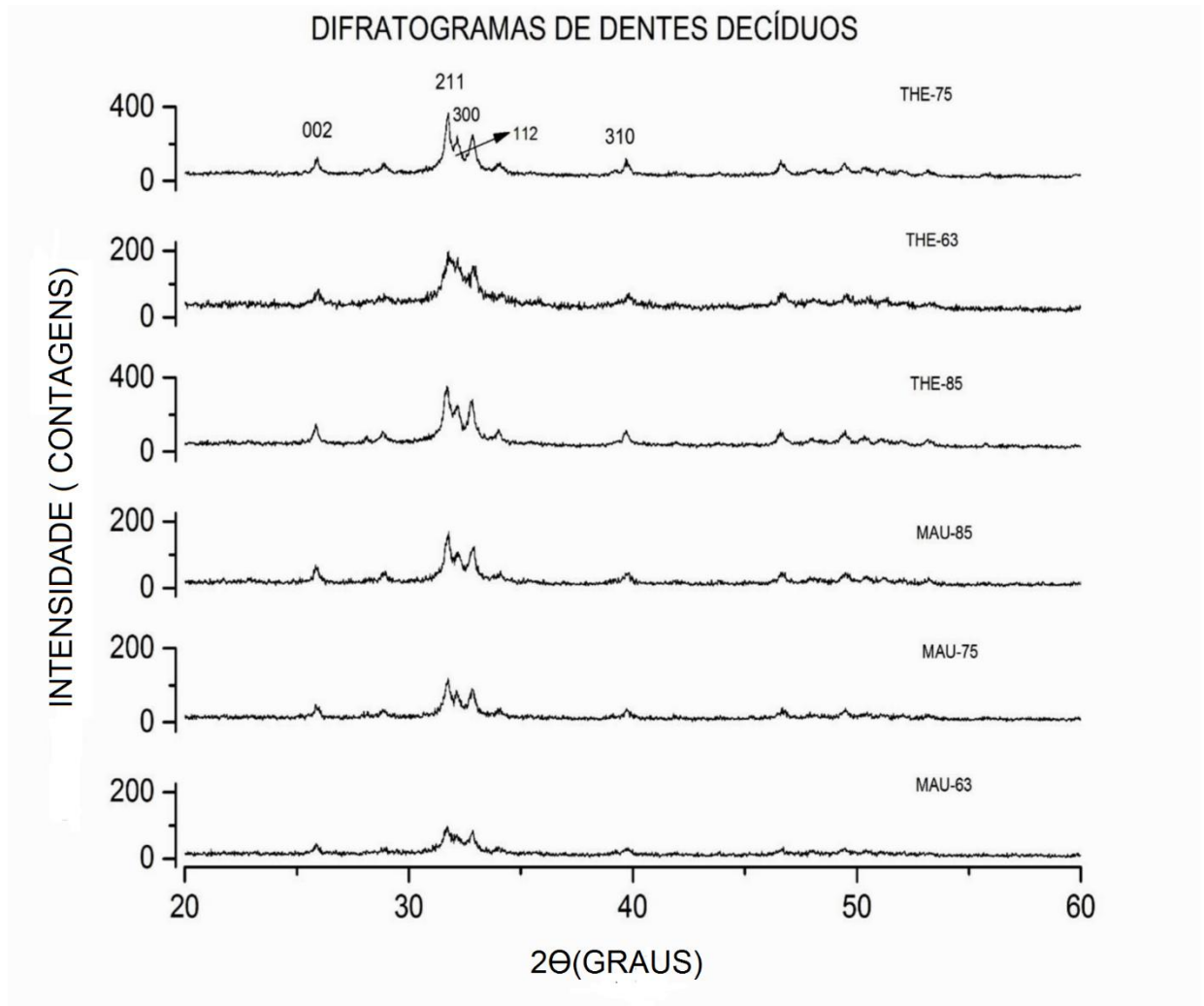


FIGURA 13 – Difratogramas comparados para dentes decíduos.

Para um mesmo tipo de dente de indivíduos diferentes foi gerado um difratograma para confronto, onde os dentes escolhidos foram caninos de uma amostra de dentes permanentes e duas amostras de dentes decíduos, como mostra a figura a seguir (FIGURA 14).

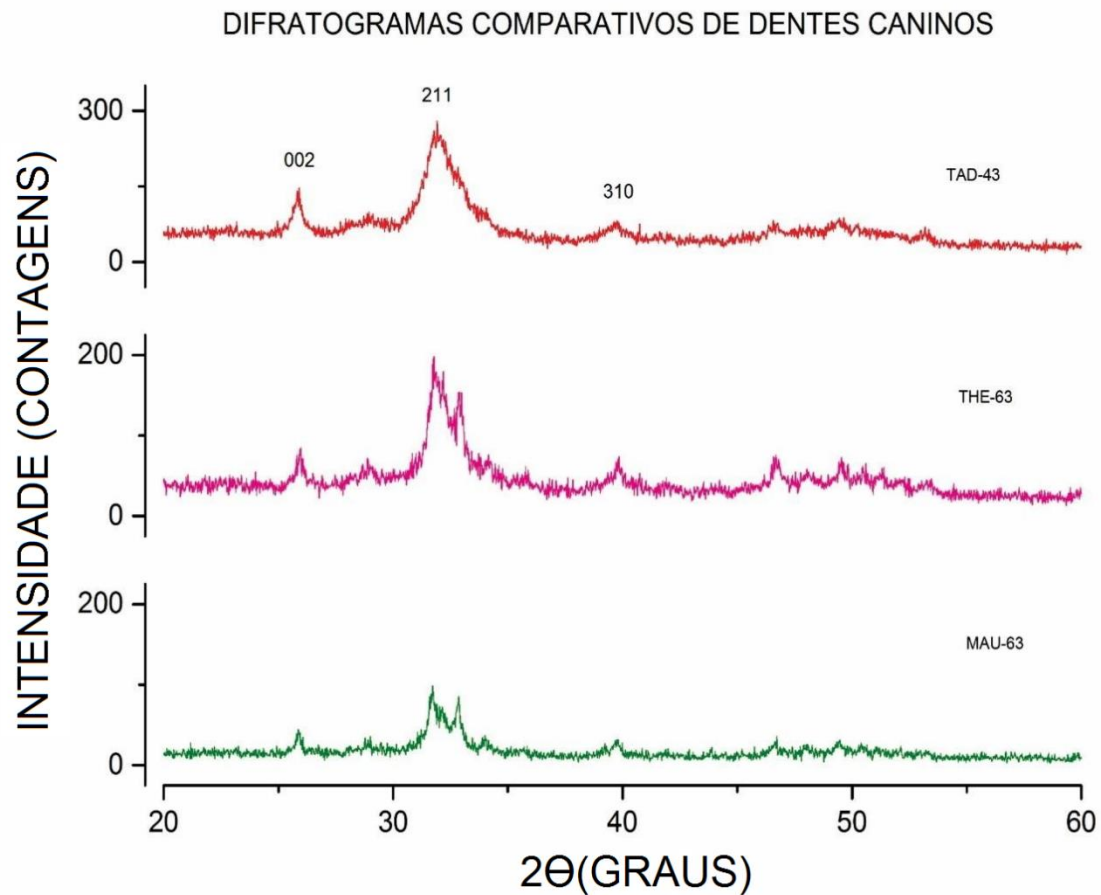


FIGURA 14 – Difrátogramas comparados para dentes caninos nas amostras TAD-43, THE-63 e MAU63.

Um gráfico comparativo foi construído para amostras de grupos com tipos diferentes de dentes, a fim de promover a visualização instantânea nas diferenças dos parâmetros de tamanho, largura e distribuição dos picos entre as amostras de dentes decíduos, terceiros molares e permanentes diferentes de terceiros molares (FIGURA 15). As amostras utilizadas foram as denominadas PAM-48 para terceiros molares, MAR-17 para outros tipos de dentes permanentes e THE-85 para dentições decíduas.

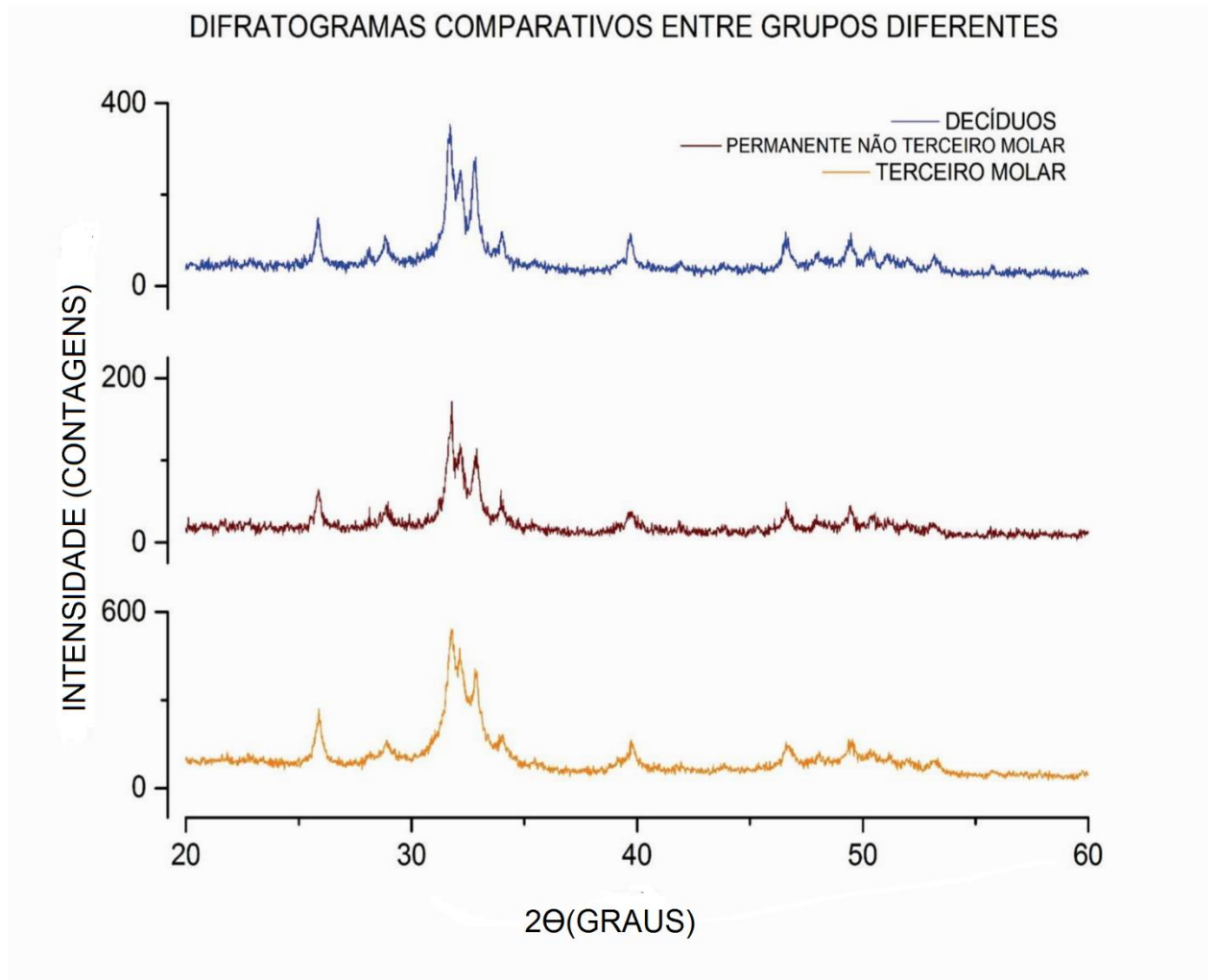


FIGURA 15 – Difrátogramas comparativos entre as amostras de dentes decíduos, dentes permanentes diferentes de terceiros molares e terceiros molares.

A tabela a seguir, relaciona a amostras com os planos analisados para cada caso, indicando as respectivas idades de cada dente. Os parâmetros usados para calcular o tamanho do cristalito em cada pico foram o ângulo θ de Bragg e o FWHM que, como já visto, corresponde a largura a meia altura. Para a interpretação de cada pico foi utilizada a equação de Scherrer (EQUAÇÃO 2), no qual se obteve o tamanho do cristalito para o pico específico do difratograma. Uma média simples dos resultados de cada pico foi gerada para se chegar ao tamanho do cristalito médio equivalente para cada amostra (TABELA 2).

TABELA 2 - MÉDIA DO GRAU DE CRISTALINIDADE.

Planos		(002)		(211)		(112)		(300)		(310)		
Amostra	Idade	θ	FWHM	θ	FWHM	θ	FWHM	θ	FWHM	θ	FWHM	Tamanho de Cristalito médio (nm)
TERCEIROS MOLARES												
FAB-28	27 anos	0,2258	0,0029	0,2770	0,0040	0,2806	0,0029	0,2867	0,0035	0,3471	0,0046	45,86
FAB-38	27 anos	0,2256	0,0035	0,2768	0,0035	0,2807	0,0023	0,2866	0,0040	0,3469	0,0035	49,15
PAU-18	22 anos	0,2260	0,035	0,2767	0,0017	0,2806	0,0029	0,2867	0,0040	0,3467	0,0029	57,41
PAM-48	23 anos	0,2260	0,0029	0,2771	0,0035	0,2809	0,0035	0,2867	0,0029	0,3472	0,0035	49,91
DENTES PERMANENTES												
TAD-43	60 anos	0,2258	0,0058	0,2781	0,0140					0,3459	0,0093	18,69
MAR-17	52 anos	0,2255	0,0037			0,2809	0,0056	0,2866	0,0039	0,3467	0,0087	32,33
DAN-46	33 anos	0,2255	0,0034	0,2765	0,0033	0,2810	0,0054	0,2865	0,0033	0,3464	0,0131	35,38
CLA-37*	35 anos	0,2260	0,0068	0,2768	0,0134	0,2814	0,0051			0,3480	0,0014	21,27
JOE-36*	20 anos	0,2255	0,0068	0,2788	0,0112					0,3484	0,0013	18,15
DENTES DECÍDUOS												
MAU-85	11 anos	0,2259	0,0028	0,2770	0,0033	0,2811	0,0033	0,2870	0,0033	0,3408	0,0043	45,34
MAU-75	11 anos	0,2261	0,0035	0,2768	0,0029	0,2804	0,0068	0,2867	0,0035	0,3466	0,0046	40,92
MAU-63	11 anos	0,2259	0,0045	0,2767	0,0039	0,2803	0,0046	0,2866	0,0033	0,3453	0,0131	32,83
THE-75	09 anos	0,2260	0,0017	0,2769	0,0029	0,2808	0,0023	0,2866	0,0035	0,3467	0,0046	58,97
THE-63	10 anos	0,2263	0,0046	0,2775	0,0046			0,2873	0,0046	0,3475	0,0070	31,50
THE-85	09 anos	0,2257	0,0023	0,2765	0,0035	0,2807	0,0035	0,2862	0,0029	0,3468	0,0035	52,22

(*) Amostras com análise apenas de dentina.

7.2 ANÁLISES EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Para análise em microscopia eletrônica de varredura as amostras utilizadas foram duas do grupo de dentes decíduos (THE-51 e THE- 75), uma do grupo dos terceiros molares (PAM-48) e um do grupo permanente diferente de terceiros molares (TAD-43).

A análise ao MEV possibilitou a obtenção de espectro composicional por EDS em quatro pontos distribuídos em esmalte e dentina da amostra THE-51 (FIGURA 16).

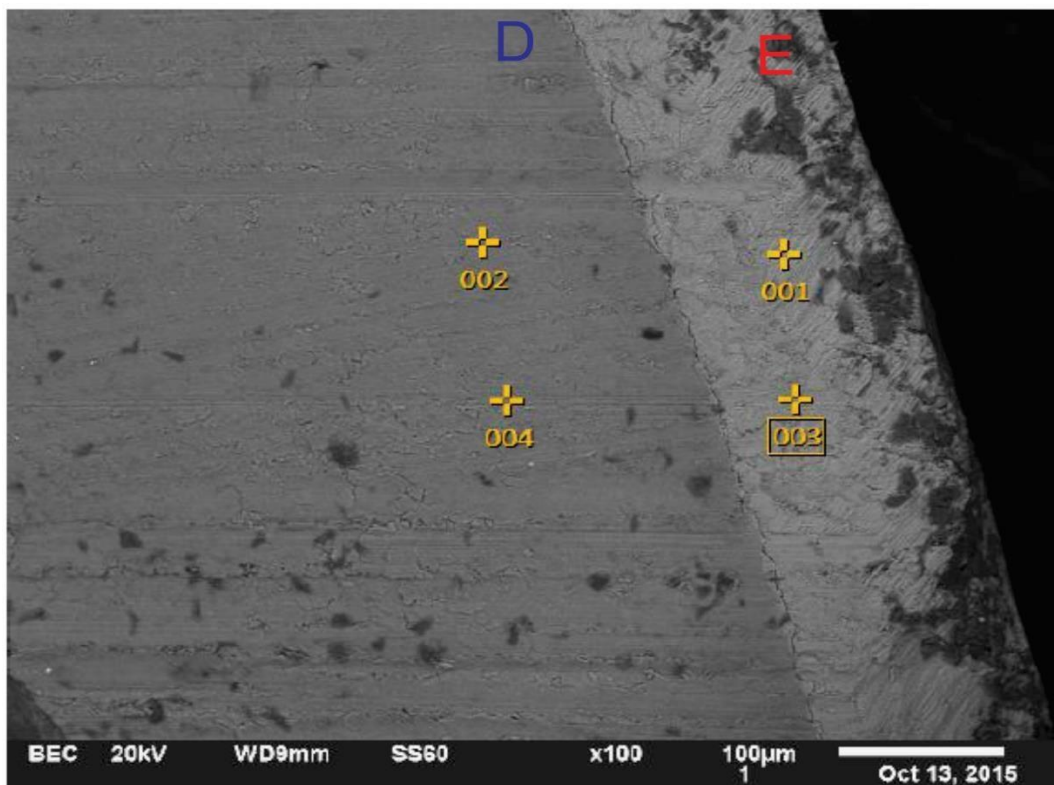


FIGURA 16- Imagem de microscopia eletrônica de varredura, em ERE, mostrando a localização dos pontos analisados na amostra THE-51, onde é possível identificar esmalte (pontos analisados = 001 e 003) e dentina (pontos analisados 002 e 004).

Os quatro pontos analisados, sendo os pontos 001 e 003 localizados no esmalte e os pontos 002 e 004 na dentina, mostram as seguintes composições:

TABELA 3 – TABELA DE COMPOSIÇÃO DE PONTOS DE ANÁLISE POR EDS.

	CaO	O	MgO	P205
001	72.78	0.00		27.22
002	73.45	0.00	1.93	24.63
003	70.51	0.00		29.49
004	70.12	0.00	2.36	27.52

Para a amostra THE- 75 foram observadas características morfológicas como a junção amelodentinária mostrando a separação esmalte e dentina sem a evidência das estrias de Retzuis (FIGURA 17).

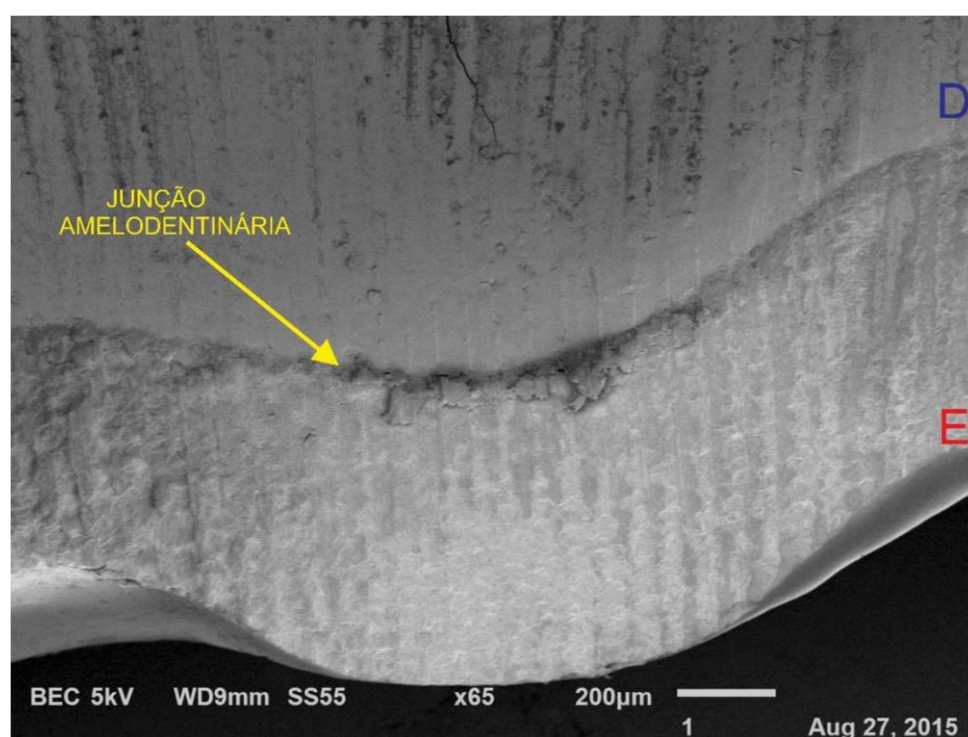


FIGURA 17 – Junção amelodentinária ao microscópio eletrônico de varredura em elétrons secundários.

Para a amostra THE-51 foram geradas, também, imagens por elétrons secundários que mostraram características morfológicas como as estrias de Retzius (FIGURA 18).

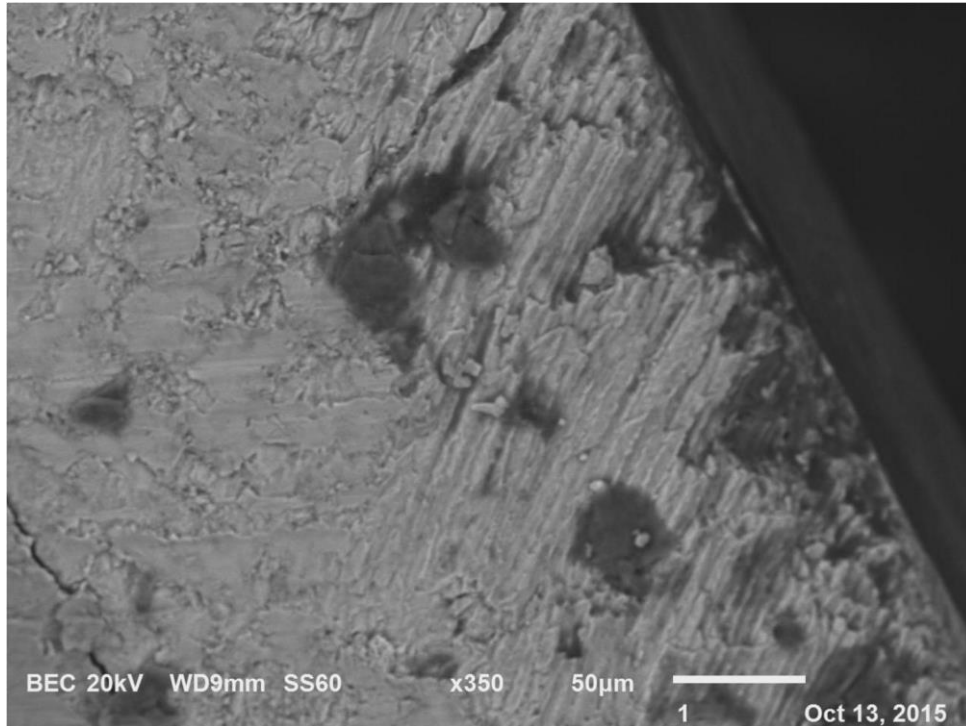


FIGURA 18 – Imagem de microscopia eletrônica de varredura por elétrons secundários, mostrando a distribuição das estrias de Retzius.

Uma análise comparativa foi realizada com os dentes decíduos, permanentes (não terceiros molares) e terceiros molares, sob ES, visando obter informações sobre os túbulos dentinários e as possíveis relações com as idades dos dentes de indivíduos analisados. Para tanto, as análises para todas as amostras buscaram uma comparação na mesma região dentro da câmara pulpar.

Como representante do grupo de dentes decíduos a amostra selecionada foi a THE-51 com magnificação de 1000x, como mostrado a seguir (FIGURA 19 A e B).

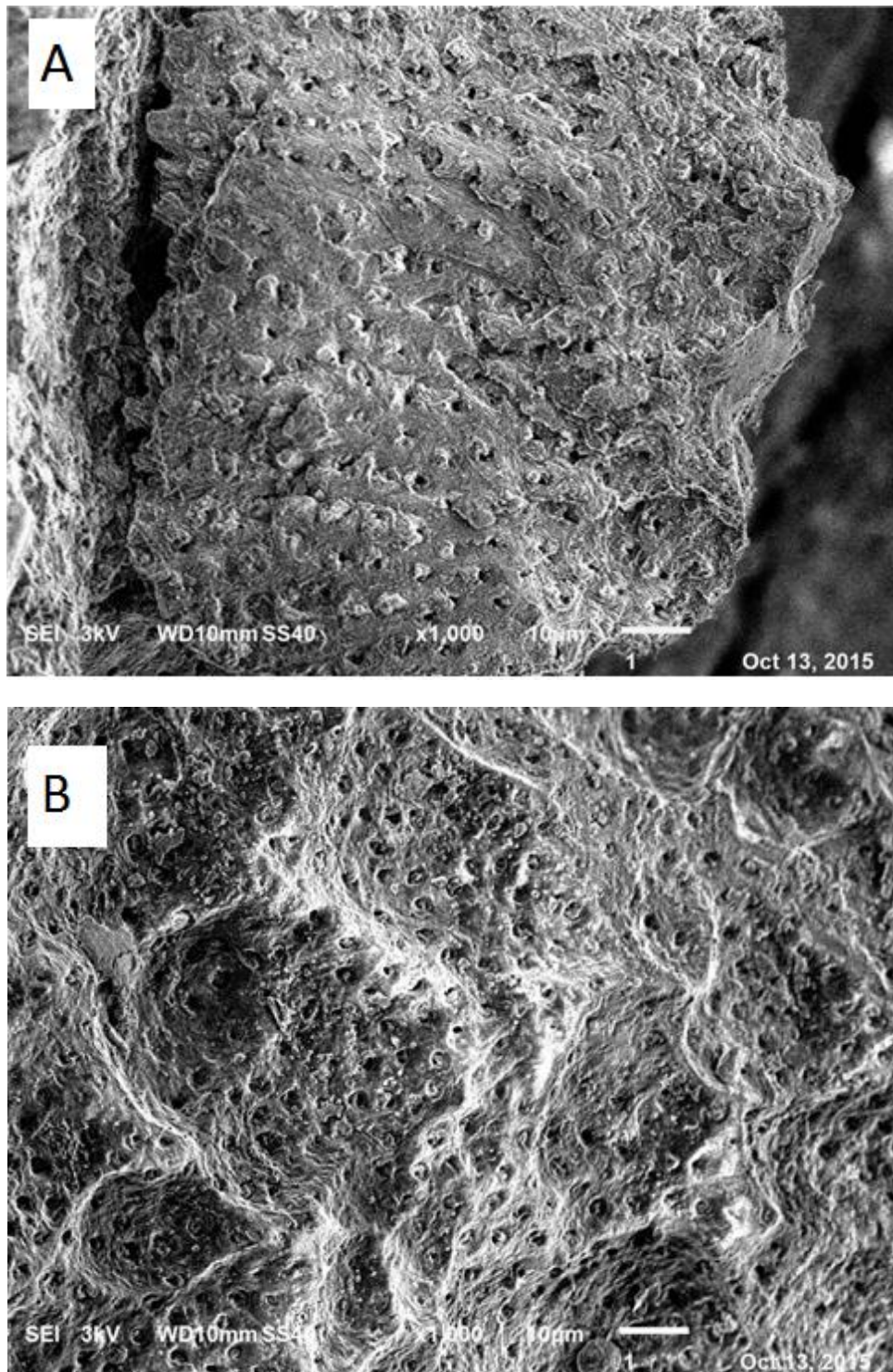


FIGURA 19 A e B - Imagem de MEV-ES destacando as terminações dos túbulos dentinários dentro da câmara pulpar para amostra de dente decíduo.

Para a amostra do grupo de dentes permanentes não terceiros molares a opção foi a amostra TAD-43, com magnificação de 700x (FIGURA 20 A e B).

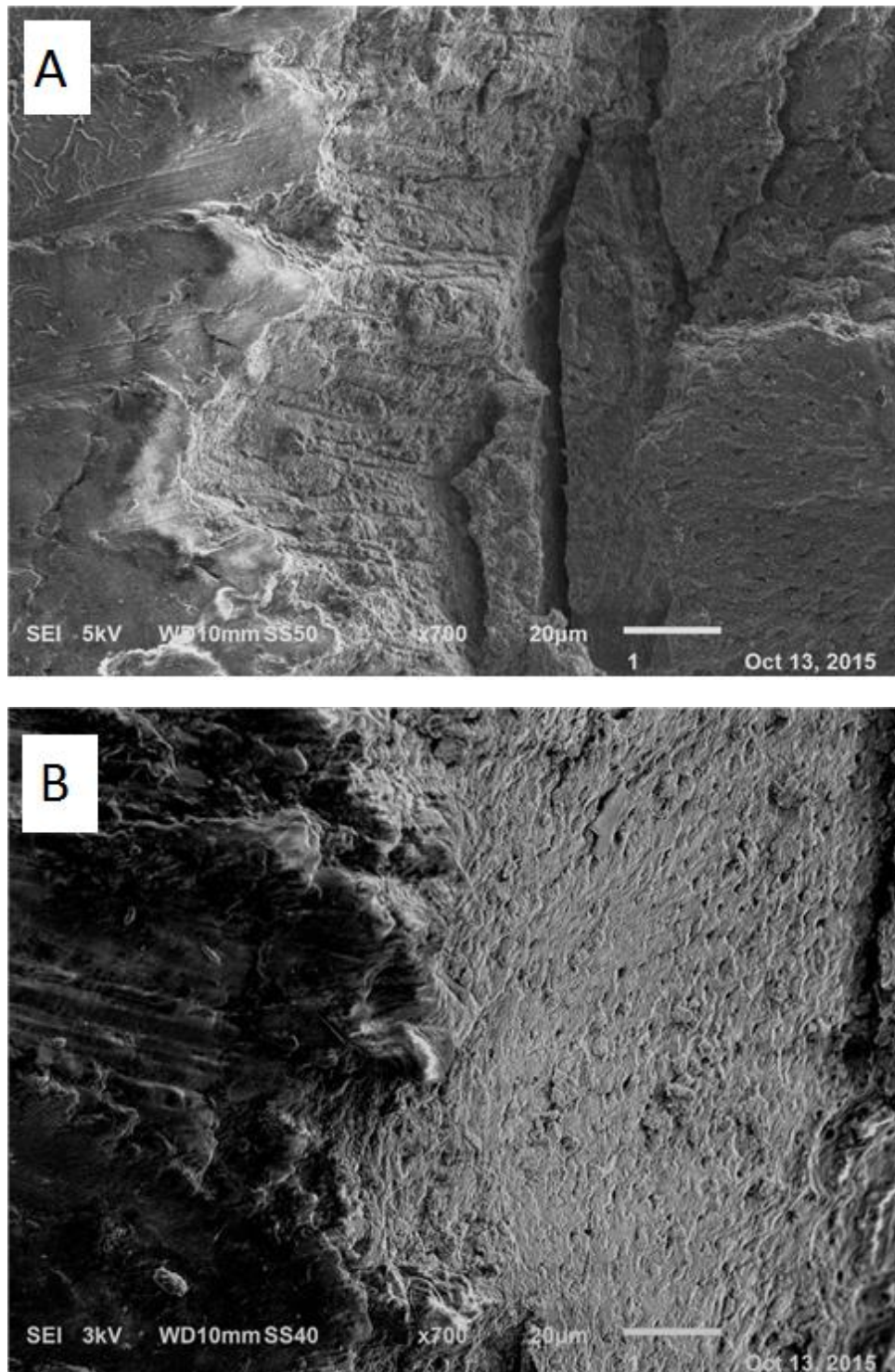


FIGURA 20 A e B – Imagem em MEV-ES mostrando os túbulos dentinários e suas terminações dentro da câmara pulpar para amostra de dente permanente diferente de terceiro molar.

A amostra representativa de terceiros molares foi o dente PAM-48, nos aumentos de 700x e 1000x (FIGURA 21 A e B).

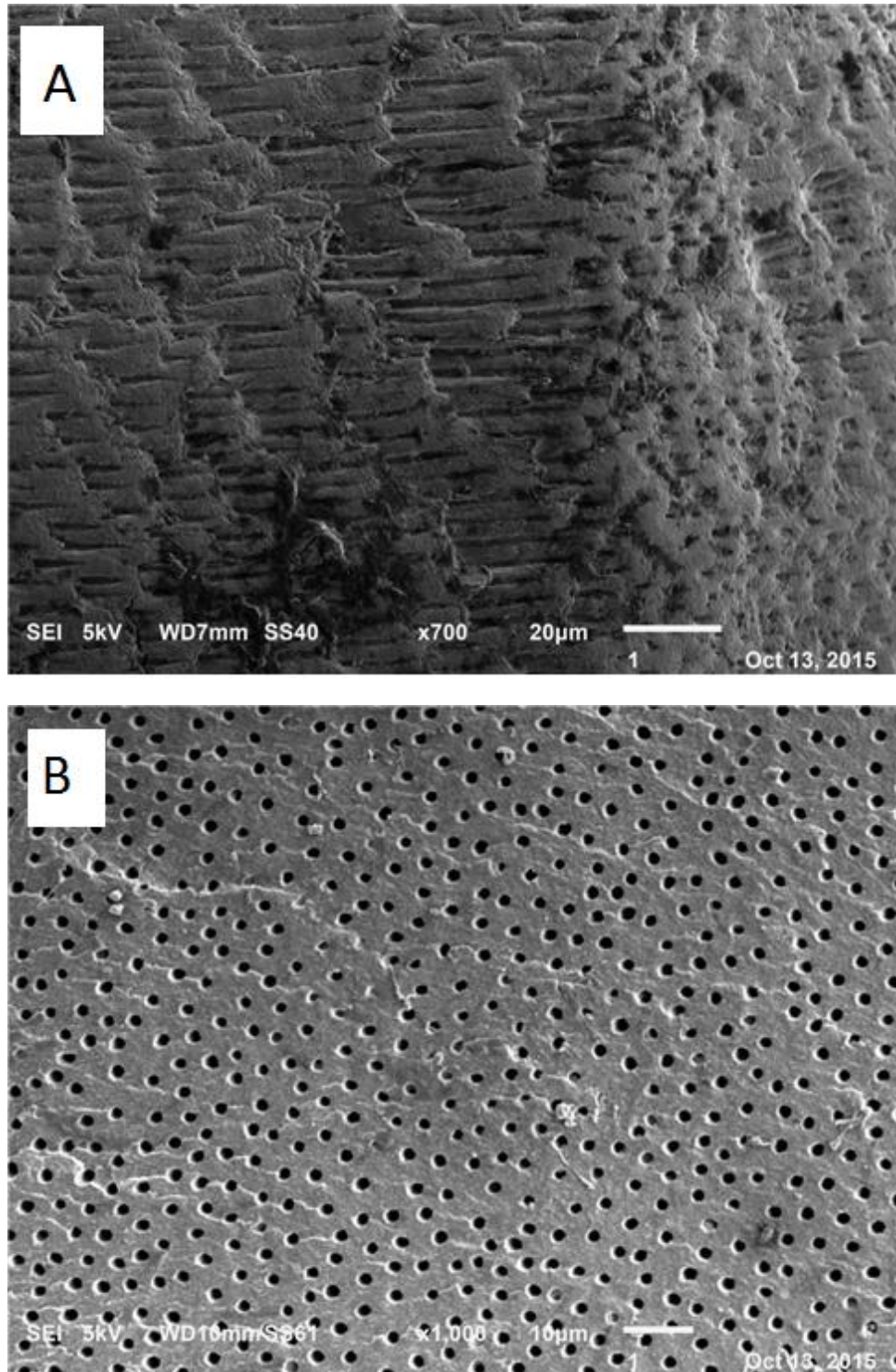


FIGURA 21 A e B – Túbulos dentinários e suas terminações dentro da câmara pulpar ao MEV-ES em terceiro molar.

8 DISCUSSÕES

A partir dos difratogramas gerados na análise por difratometria de raios X, têm-se que dentes terceiros molares exibem picos de difração muito semelhantes entre si, a variação de intensidade relativa (%) é muito próxima para a maioria dos difratogramas, exceto para a amostra PAM-48, que obteve a intensidade um pouco menor (Figura 10). O mesmo é observado para a variação na forma dos picos em que as larguras e alturas foram muito semelhantes. Isso se relaciona ao fato de as amostras serem bastante homogêneas em questão de volume de material para análise, bem como a variação de idade de cada dente, bastante próxima, variando de um ano da amostra PAU-18 para a amostra PAM-48 que, por sua vez, variou de 4 anos para as amostras FAB-28 e FAB-38.

Nos difratogramas comparativos para amostras de dentes permanentes, diferentes de terceiros molares, os gráficos mostram a mesma similaridade em questão de intensidade relativa dos picos (Figura 11). No entanto, os picos alteram mais em questão de forma e largura, embora a quantidade de amostra tenha sido, também, homogênea para essa análise. Tal fato esse se deve à maior diferença de idade entre as amostras. O dente TAD-43 exibe os picos mais ruidosos, além de conter apenas os picos (002), (211) e (310) diferenciados no difratogramas. É a amostra com a maior idade entre os dentes analisados. As amostras MAR-17 e DAN- 46 são mais semelhantes, embora o difratograma para a amostra DAN-46 tenha se mostrado levemente mais ruidoso que a amostra MAR-17, mesmo a amostra DAN-46 sendo mais nova e com diferença de 19 anos para amostra MAR-17. Esses fatores podem estar relacionados com a maior ou menor quantidade de esmalte na amostra, bem como ao caráter da amostra, ou seja, o tipo de dente analisado.

Para os dentes permanentes, excetuando-se terceiros molares, foi analisada apenas a dentina (Figura 12). Esses difratogramas aparecem ruidosos, com poucos picos diferenciados e uma intensidade relativa baixa, bastante semelhante em suas características com a amostra TAD-43. A amostra TAD-43,

por ser a amostra com a idade mais avançada, é aquela com o menor conteúdo de esmalte, devido ao desgaste que o mesmo sofre ao longo da vida. Logo, quando uma amostra com idade mais avançada é comparada com as análises apenas de dentina, como as amostras CLA- 37 e JOE- 36, os difratogramas obtidos têm aspecto semelhante.

Os difratogramas comparados entre dentes decíduos (Figura 13), revelam maior heterogeneidade entre um mesmo grupo de amostras. Este comportamento é expresso não apenas na intensidade relativa dos picos, como também na largura e forma dos picos analisados. Entretanto deve-se ressaltar que a pequena quantidade de material, por se tratar de dentes infantis, de pequenas dimensões, poderia dificultar a diferenciação dos picos. No entanto, as amostras parecem seguir um padrão semelhante, com poucas variações, ainda mais quando analisados dentes de idades semelhantes, como no caso das amostras THE-75 e THE-85 ambas com a mesma idade (9 anos) mostrando uma grande semelhança nos picos de difração. O mesmo comportamento é observado para as amostras MAU-75 e MAU-85. Contudo essas semelhanças não se repetem nas amostras THE-63 e MAU-63, que aparecem com picos menores e menos definidos, características essas associadas ao tipo de dente analisado, mesmo fator atribuído ao dente TAD-43 que embora pertencente ao grupo de dentes permanentes, quando caracterizado em relação à sua posição na arcada dentária, também é um canino, como as amostras THE-63 e MAU-63.

O difratograma para comparação entre o mesmo tipo de dente (canino) em indivíduos diferentes, mostrado na Figura 14, seja permanente (TAD-43), seja decíduo (THE-63 e MAU-63) mostra que, quando comparado com outros difratogramas de outros tipos de dente, ocorre diferença entre os difratogramas para cada tipo de dente, mesmo para o mesmo indivíduo. Faz-se necessário destacar que os dentes caninos são as amostras de análise total com picos de difração mais ruidosos, menos diferenciados, menores e com intensidade relativa baixa.

Na comparação entre as amostras de diferentes grupos (decíduos, permanentes não terceiros molares e terceiros molares), mostrada na Figura 15, para amostras homogêneas, é visível a semelhança entre as formas dos picos para todas as amostras. No entanto, para as amostras de terceiros molares e dentes

decíduos a intensidade relativa é mais semelhante quando ambas são comparadas aos dentes permanentes diferentes de terceiros molares. A diferenciação de cada pico repete o mesmo padrão: as amostras do grupo de decíduos se assemelham mais aos terceiros molares e diferem mais dos dentes permanentes não terceiros molares. Esse fato se verifica mesmo quando a diferença de idade dos dentes decíduos é bastante acentuada com relação aos terceiros molares e ao fato que os terceiros molares também são dentes permanentes, contrariando o fator intuitivo que esperaria semelhança entre os dentes permanentes e os permanentes terceiros molares.

Quando observada a tabela da média da cristalinidade dos 15 dentes analisados por difratometria de raios X (Tabela 2), os fatores associados a essa cristalinidade dizem respeito aos parâmetros envolvidos na equação de Scherrer, em que o ângulo θ de Bragg e a largura à meia altura são considerados para cada pico das amostras. A tabela apresenta os vários picos analisados, bem como os valores de θ e FWHM (largura à meia altura), além da ausência de picos para algumas amostras.

Para um primeiro grupo analisado, os terceiros molares, observa-se a alta cristalinidade deste grupo quando comparado com os demais. Para as amostras de terceiros molares a média mais baixa de cristalinidade é 45,86 nm (amostra FAB-28) e a mais alta 57,41 nm (amostra PAU-18). Estas cristalinidades podem ser comparadas com as cristalinidades de dentes bem mais jovens, como os dentes decíduos, eliminando uma correlação de terceiros molares com a idade, uma vez que, a alta cristalinidade impede que haja uma relação direta. Este fato está, provavelmente, relacionado com a erupção posterior dos dentes terceiros molares, que, embora já formados, eclodem apenas com uma idade mais avançada que os demais dentes permanentes, numa faixa etária próxima de 21 anos.

Para o grupo de dentes decíduos foram comparadas amostras de dois indivíduos diferentes (3 dentes de cada), sendo que as amostras selecionadas correspondem ao mesmo tipo de dente para ambos os doadores. Nas amostras THE85, THE-75 e THE-63 (todas de uma mesma doadora) as cristalinidades são 52,22 nm, 58,97 nm e 31,50 nm, respectivamente. As amostras MAU-85, MAU-75

e MAU63, também correspondentes a um mesmo doador, exibem cristalinidades de 45,34 nm, 40,92 nm e 32,83 nm respectivamente. Mesmo quando essas amostras correspondem a dentes com mesma idade (Tabela 2), pode-se notar que há diferença acentuada entre o grau de cristalinidade para os diferentes tipos de dente em mesmo indivíduo.

No entanto, quando as amostras são comparadas com indivíduos diferentes é notória a diminuição da cristalinidade com o aumento da idade. As amostras do doador MAU, todas com 11 anos, mostram cristalinidades menores que as da doadora THE, que variam de 9 a 10 anos, exceto para amostra THE-63, que embora tenha obtido uma cristalinidade muito próxima a cristalinidade da amostra MAU-63, foi menor mesmo sendo mais nova. Tal fato pode ser explicado pela ruídosidade maior do difratograma e ausência do pico (112).

De acordo com Wilson (2009), caninos são os dentes com a menor cristalinidade entre os dentes de um indivíduo. Essa afirmação é verificada nos difratogramas da Figura 14, bem como a média da cristalinidade dos dentes caninos decíduos (THE-63 e MAU-63) e permanentes (TAD-43) que apresentam as menores cristalinidades dentro de cada grupo observado. Esse fator pode estar relacionado à questão da função de cada dente, uma vez que os caninos são os dentes utilizados para rasgar os alimentos.

Os dentes permanentes analisados nesta pesquisa seguem o mesmo padrão de diminuição de cristalinidade com o aumento da idade. Quando analisados o dente total (esmalte mais dentina), no caso da amostra TAD-43, amostra com idade mais avançada entre os grupos analisados, nota-se a menor cristalinidade média (18,69 nm) entre todos os dentes de análise total. O fator idade e tipo de dente explica a baixa cristalinidade desta amostra. Para a amostra MAR-17, de 52 anos, a cristalinidade também é reduzida (32,33 nm), considerando o tipo de dente, embora nas amostras TAD-43 e MAR-17 haja ausência de alguns picos. A amostra DAN-46, de doador com 33 anos, a cristalinidade é da ordem de 35,38 nm, reforçando a ideia de que, embora algumas variantes sejam mensuráveis, há uma diminuição do grau de cristalinidade com o aumento da idade.

Um gráfico de tendência (FIGURA 22) pode ser empregado como síntese das análises de DRX, os parâmetros que compõem o gráfico são a cristalinidade em função da idade, para todos os grupos de dentes analisados. O gráfico é bastante representativo para os dentes decíduos e terceiros molares, os dentes permanentes não terceiros molares, por sua vez, tiveram uma dispersão maior devido às grandes diferenças de idade entre as amostras analisadas.

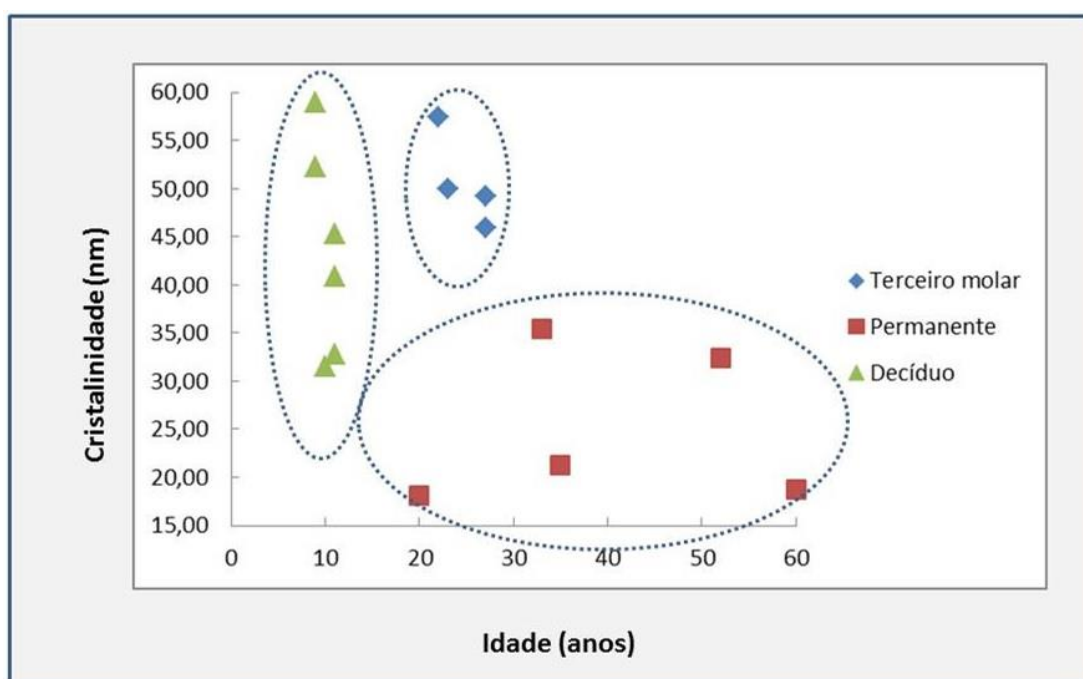


FIGURA 22 – Gráfico de tendência Cristalinidade Vs. Idade, representando as amostras de todos os grupos analisados.

A análise para os dentes CLA-37 e JOE-36 foram feitas apenas com o conteúdo da dentina de cada dente. Como já mencionado, este tipo de análise gera difratogramas com poucos picos diferenciados (Figura 12). As cristalinidades, de acordo com a Tabela 2, mostram-se bastante baixas, mais baixas que as cristalinidades de dentes de idades mais avançadas, na ordem de 21,77 nm (CLA-37) e 18,15 nm (JOE-36). Tal diferença de cristalinidade também é apoiada pela análise ao microscópio eletrônico de varredura, a ser tratada a seguir.

O objetivo inicial de análise por EDS ao microscópio eletrônico de varredura era gerar um mapeamento químico do dente como um todo. Entretanto, as condições das amostras no que se refere a irregularidade da superfície, juntamente como as condições do equipamento, impossibilitaram o mapeamento. A análise por EDS na amostra THE-51 foi realizada em quatro pontos: dois correspondentes ao esmalte (pontos 1 e 3) e dois correspondentes a dentina (pontos 2 e 4), como pode ser observado na Figura 16. De acordo com a Tabela 3, correspondente a composição química de cada ponto, as concentrações de CaO e P_2O_5 são bastante homogêneas, com poucas variações, mostrando que maior concentração de cálcio corresponde a P_2O_5 em menores quantidades. As maiores concentrações em magnésio são observadas sobre a dentina. O ponto 2 coincide com o ponto de maior concentração de CaO e menor P_2O_5 . O ponto 1 (esmalte), embora mostre maior quantidade de magnésio, contém menor conteúdo de CaO, razão pela qual há uma diminuição do teor de P_2O_5 em menor escala quando comparado com o ponto.

De acordo com Nanci (2013), a presença de magnésio inibe a cristalização da hidroxiapatita. Esta afirmação é aqui corroborada pela presença de picos poucos diferenciados nos difratogramas (Figura 12), pela baixa cristalinidade média de dentinas analisadas (Tabela 2) e pelos resultados obtidos em EDS (Tabela 3), o que evidencia a menor cristalinidade da dentina em relação ao esmalte como fator químico-mineralógico intrínseco ao dente.

As características de porosidade das amostras analisadas não foram observadas devido a escala de detalhamento do equipamento. No entanto, são observados aspectos morfológicos bastante característicos em análise por ES.

A Figura 17 mostra a junção amelodentinária da amostra THE-75, que representa a linha de ligação entre o esmalte e a dentina. Em alguns casos feições bastante características podem ser vistas acima da junção amelodentinária, correspondente ao local onde ocorre o esmalte do dente. Essas feições são estrias de Retzius, como mostrado na Figura 18, referente a amostra THE- 51. Essas estrias, em uma seção longitudinal do dente, são vistas como uma série de linhas que se prolongam da junção amelodentinária para a superfície do dente.

Geralmente as estrias de Retzius são atribuídas ao crescimento aposicional e incremental da camada de esmalte (Nanci, 2013). As estrias de Retzius podem, portanto, refletir a idade de um indivíduo de acordo com a sua taxa de crescimento, de maneira semelhante aos anéis de crescimento em árvores.

Outro aspecto bastante importante que pode conduzir a inferências sobre a idade de indivíduos está relacionado aos túbulos dentinários, sobretudo, às terminações desses túbulos dentro da câmara pulpar.

Os túbulos têm distribuições bastante homogêneas. No entanto, há uma concentração (volume) maior de túbulos quanto mais próximas essas terminações estiverem do ápice da câmara pulpar, ou seja, no topo da câmara pulpar, em relação a superfície do dente, se concentram as maiores quantidades de túbulos dentinários.

Nas amostras de diferentes grupos analisadas ao MEV tomou-se especial cuidado em função desta característica dos túbulos dentinários. As imagens foram capturadas em uma mesma região dentro da câmara pulpar, para evitar falsas impressões de acordo com o volume dos túmulos.

Ocorre obstrução dos túbulos por material mineralizado difuso, que acontece de acordo com o aumento da idade, podendo estar relacionada com a deposição continuada de dentina peritubular (Nanci, 2013).

Imagens ao microscópio eletrônico de varredura foram feitas para as amostras THE-51, TAD-43 E PAM-48 representando os grupos decíduos, permanentes não terceiros molares e terceiros molares, respectivamente. A amostra THE-51 exhibe terminações dos túbulos dentinários pouco obstruídas, um aspecto homogêneo ao longo de todos os túbulos e relativa limpidez nos túbulos, características essas compatíveis com a pouca idade da doadora - 7 anos (Figuras 19 A e B).

Contrariamente, na amostra TAD-43 (doador com 60 anos), as terminações aparecem fortemente obliteradas, com presença intensa de material de

mineralização difusa, tornando difícil, por vezes, a identificação das terminações dos túbulos (Figura 20 A e B).

A análise de terceiro molar, representado pelo dente PAM-48, (23 anos), mostrada na Figura 21 A e B, mostra que, de maneira muito semelhante ao que é observado nos difratogramas, não se verifica o comportamento esperado para os demais dentes permanentes. Estes terceiros molares têm túbulos dentinários totalmente desobstruídos, revelando-se mais límpidos que os dentes decíduos.

9 CONCLUSÕES

De acordo com o exposto acima é possível concluir que:

- Há uma diminuição da cristalinidade do dente com o aumento da idade de um indivíduo;
- Há diferença de cristalinidade entre os diferentes tipos de dente para um mesmo indivíduo;
- Os dentes caninos têm a menor cristalinidade com relação aos demais dentes, tanto para dentes decíduos quanto para permanentes;
- A alta cristalinidade do dente está condicionada, sobretudo, à maior quantidade de esmalte;
- A dentina é menos cristalina que o esmalte, contendo maior teor de CaO e Mg, inibindo a formação de hidroxiapatita;
- A análise de dente total (dentina e esmalte) é a forma ideal para a realização de difratometria de raios X;
- Terceiros molares não são bons indicativos de idade para análise por DRX, pois suas cristalinidades não seguem o padrão de dentes permanentes;
- Feições morfoestruturais presentes em dentes podem ser visualizadas ao MEV quando as condições da amostra são ideais (superfície regular);
- Quando há controle de parâmetros, as estrias de Retzius, em um estudo mais detalhado, podem levar a inferências sobre a idade de indivíduos;
- A obstrução dos túbulos dentinários pode levar a conclusões sobre a idade de indivíduos, quando em estudo aprofundado. Há uma tendência de aumento de obliteração dos túbulos dentinários com o avanço da idade;
- Terceiros molares, analogamente ao que ocorre com estes dentes na análise por DRX, não são bons indicativos de idade para análise dos túbulos dentinários ao MEV, uma vez que se comportam de maneira diferente que os demais dentes permanentes.

10 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As pesquisas e análises com objetivos forenses ainda são escassas no Brasil, seja por se tratar de um campo recente das Ciências, seja por falta de visão global e abrangente da interação de diversas áreas do conhecimento voltadas a um mesmo propósito: identificação de vítimas mortas.

A pesquisa aqui apresentada deverá ser complementada com um universo amostral mais amplo, com dentes a serem analisados tanto por difratometria de raios X quanto por microscopia eletrônica de varredura. Novas técnicas analíticas deverão complementar as citadas acima para que resultados mais completos sejam obtidos.

REFERÊNCIAS

- ALBERS, A. P. F.; BALDO, J. B.; MACHADO, R.; MELCHIADES, F. G. **Um método simples de caracterização de argilominerais por difração de raios X**. Cerâmica [online]. 2002, vol.48, n.305, pp. 34-37
- ALKASS, K. **External and Intrinsic Signatures in Human Teeth to Assist Forensic Identification Work**. 42p. Tese (Doutorado), Karolinska Institutet, Stockholm, 2011.
- BAIG, A. A. **Influences of carbonate content and crystallinity on the solubility behavior of synthetic and biological apatites**. 166 p. Tese (Doutorado). University of Utah, 1997.
- BECART, A. **Le domaine d'activité de l' odontologiste médico-légale**. 2008. Disponível em <http://www.smlc.asso.fr/fileadmin/user_upload/Enseignements/Odontologie_medicolegale/Odontologie_Legale.pdf>. Acesso em: 17 mar. 2015.
- BERKOVITZ, B. K. B.; HOLLAND, G. R.; MOXHAM, B. J. **Anatomia, embriologia e histologia bucal**. 3. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 378p.
- BONTE, E.; DESCHAMPS, N.; GOLDBERG, M.; VERNONIS, V. Quantification of Free Water in Human Dental Enamel. **Journal Dental Research**, Montrouge, vol.67, n.5, p. 880-882. maio, 1988.
- BOSKEY, L. A. Mineralization of Bones and Teeth. **Elements**, New York, vol. 3, n.6, p. 387-393. dez. 2007.
- KATCHBURIAN E. ARANA V. **Histologia e Embriologia Oral**. 2ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2004. 388p
- LEVENTOURI, T.; ANTONAKOS, A.; KURIACOU, A.; VENTURELLI, R.; LIAROKAPES, E.; PERDIKATIS, V. Crystal Structure Studies of Human Dental Apatite as a Function of Age. **International Journal of Biomaterials**, vol. 2009, seção especial, p.1,17p. jan.2009.
- MALISKA, A. M. **Microscopia Eletrônica de Varredura**. Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Engenharia Mecânica. Apostila, s/d. 97p.

NANCI, A. **Ten Cate's Oral Histology: Development, Structure, and Function**. 8th Ed. St. Louis: Elsevier, 2013. 379p.

REED, S.J.B. Electron microprobe analysis and scanning electron microscopy in Geology. **New York. Cambridge University Press**. 2005. 232 p.

SILVA, G. T.; **Síntese, caracterização estrutural e óptica de filmes de CeO₂ obtidos por pirólise de sais de cério**. 115p. Tese (Doutorado), Curso de PósGraduação- Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

SILVA, L.G.M.; ANTUNES, R.C.; SILVA, T.G. DA; SECCHI, R.; MUNIZ, T.R.; ROSÁRIO JÚNIOR, A.F.; SOUZA, P.H.C.; SALVADOR, F.A.S.; PINTO-COELHO, C.V.; BAHNIUK, A. M. Avaliação do grau de cristalinidade da hidroxiapatita em dentes humanos. **IX Simpósio Sul Brasileiro de Geologia; Anais...** Florianópolis. 2015.

WILSON, T.V. **Estimating age at death by examining the crystallite size of hidroxiapatite in human teeth**. Thesis Master of Arts, Norther Arizona University, 46 p. 2009.

ZAKIRULLA, M.; ALLAHBAKSH, M. Modern Tools in Forensic Dentistry. **International Journal of Contemporary Dentistry**, vol.2, n.3, p.28-32, Junho, 2011.