



# DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA

FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

## CIMENTOCRONOLOGIA: Estimativa de Idade-à-Morte numa Amostra de Dentes Queimados Identificados de Indivíduos Portugueses

Inês de Oliveira Santos

---

2015



## DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA

FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

### CIMENTOCRONOLOGIA: Estimativa de Idade-à-Morte numa Amostra de Dentes Queimados Identificados de Indivíduos Portugueses

Dissertação apresentada à Universidade de Coimbra para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Evolução e Biologia Humanas, realizada sob a orientação científica da Professora Doutora Eugénia Cunha (Universidade de Coimbra) e do Doutor David Gonçalves (Universidade de Coimbra).

Inês de Oliveira Santos

---

2015

**Aos meus pais**



# Agradecimentos

Aos meus orientadores, a Professora Doutora Eugénia Cunha e o Doutor David Gonçalves, agradeço por todo o auxílio que me deram desde o início deste processo, pelos conhecimentos valiosos que partilharam comigo e por todo o apoio essencial para o completar.

Agradeço ao Departamento de Ciências da Vida da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra e ao Laboratório de Tecidos Duros da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra pelos materiais e infraestruturas disponíveis. Um obrigada também a todos envolvidos na recolha de dentes, aos dadores e às clínicas dentárias que aceitaram contribuir para a investigação, assim como todos os colegas e amigos que se prontificaram a auxiliar neste processo.

À Cláudia Brites, por toda a ajuda, pela paciência por aguentar a mim e aos dentes queimados, pela simpatia desde o primeiro momento e por apoiar esta ideia. Não há muitas pessoas dispostas a ajudar tanto os outros, sem dúvida é excecional!

Um obrigado à Professora Ana Luísa Santos que indiretamente acabou por auxiliar diversas partes deste projeto e por todo o conhecimento partilhado comigo durante este percurso, assim como a todos os Professores que se disponibilizaram a esclarecer as muitas dúvidas que tive ao longo deste ano.

À Doutora Maria Teresa um obrigada enorme pela disponibilidade, paciência imensa para suportar o caos que muitas vezes causámos e pelas palavras de apoio sempre nas alturas certas.

No Laboratório de Antropologia Forense conheci diversas pessoas que para além de me ajudarem sempre que necessário durante os momentos mais sérios (e atrapalharem em muitos outros) também me ensinaram muitas coisas e que acabaram por se tornar bons amigos, um obrigado a todos vocês, em especial à Débora e ao João. Mais ainda, um obrigado especial à Márcia, sem a qual teria sido impossível desenvolver este projeto. Sem dúvida revelou-se uma pessoa brilhante e uma amiga indispensável. Ah, e que tem sempre razão!

Um grande obrigado também à Maria, sem as nossas conversas, a sua calma inata e ótimos conselhos este percurso teria sido muito mais difícil.

Não me posso esquecer claro de agradecer às minhas biólogas – a Sara, a Carolina, a Rita, a Susana e a Maria Inês, está provado que podemos estar sempre na vida uma das outras mesmo estando em caminhos tão diferentes, obrigada por toda a motivação e amizade.

Ainda mais, nem que quisesse me podia esquecer de vocês que estão sempre cá para mim. Obrigada à Tânia, à Mariana, à Piri, à Andreia, ao João, ao Telmo e à Filipa, uns mais próximos, outros a uns insignificantes milhares de quilómetros, e todos me demonstram o mesmo apoio imensurável, são as pessoas mais lindas. Não posso deixar de agradecer também ao Tiago, claro, por todo apoio, críticas e principalmente pelo interesse no tema.

Por último, e acima de tudo, um agradecimento sem medida (porque nunca vou poder agradecer o suficiente) aos meus pais. Sempre me apoiaram em todas as minhas decisões e quiseram o que uns pais podem de melhor desejar para uma filha, que eu fosse feliz. Obrigada por tudo!

“... Depois envelhece o seu corpo; nem tudo ao mesmo tempo, não, primeiro envelhecem os olhos, ou as pernas, o estômago, ou o coração. Uma pessoa envelhece assim, por partes. A seguir, de repente, começa a envelhecer a alma...”

*in As Velas Ardem até ao Fim, Sándor Márai (2001)*



# Resumo

A estimativa de idade-à-morte é um parâmetro fundamental do perfil biológico, tanto na Antropologia Forense como Biológica. Os dentes são dos componentes mais resistentes do esqueleto humano tornando-se assim uma ferramenta de eleição para estimativa de idade, especialmente em cenários extremos como com restos humanos queimados que necessitam de uma abordagem alternativa. Cimentocronologia é uma técnica histológica para estimativa de idade-à-morte baseada na análise do cimento dentário e das suas linhas de incremento. Devido às alterações dimensionais e às dificuldades de visualização das linhas foram tentadas formas alternativas de estimar a idade, para além da contagem clássica, através da medição da espessura do cimento e da dentina e com extrapolação do número de linhas de incremento através da espessura total do cimento. Os objetivos deste trabalho foram (1) avaliar a viabilidade da contagem de linhas de incremento em dentes queimados a duas temperaturas diferentes, 400°C e 900°C, numa amostra de 60 dentes monoradiculares; (2) avaliar se as idades estimadas para esses dentes através de cimentocronologia, depois de alterações térmicas, corresponde positivamente com a idade conhecida; (3) idealizar uma abordagem alternativa à análise das linhas de incremento que permita também estimar a idade em dentes queimados a essas duas temperaturas; (4) e verificar se a espessura dos tecidos constituintes das raízes dentárias, cimento e dentina, após o processo de queima, têm uma relação positiva com a idade conhecida; havendo como objetivo principal validar a eficácia da cimentocronologia como método para estimar a idade-à-morte em dentes queimados. Para isso, uma amostra de 60 dentes monoradiculares (44 incisivos laterais e centrais, e 16 caninos; superiores e inferiores) recolhidos em clínicas dentárias e identificados com idade e sexo, foram submetidos a tratamento térmico a 400°C e 900°C. Estes foram queimados num ambiente laboratorial controlado, durante 1h e 2h, respetivamente. Posteriormente foram seccionados e observados em microscópio ótico, através do qual foram captadas micrografias de onde se procedeu à análise, realizando as contagens e medições nas mesmas. Ao número de linhas de incremento obtido foi somada a idade de erupção específica para cada sexo e obtida uma estimativa de idade para cada dente. Não se obteve uma relação

estatisticamente significativa entre a idade conhecida e a idade estimada nem a 400°C nem a 900°C através da contagem do número de linhas, tendo um erro médio para a estimativa a 400°C de 21,6 anos e a 900°C de 24,2 anos. Já através da extrapolação do número de bandas presentes na camada de cimento, foi possível relacionar a idade cronológica com a idade estimada nos dois grupos, já com um erro para a estimativa a 400°C de 10,3 anos e a 900°C de 11,4 anos. Não se verificou uma relação entre as percentagens de cimento e dentina assim como a percentagem dentina/cimento com a idade em nenhum dos grupos, no entanto o número reduzido de elementos avaliados pode condicionar os resultados. Esta investigação vem contudo fornecer informações adicionais para a busca de uma metodologia adequada na avaliação da idade-à-morte em restos humanos queimados, assim como acrescentar dados valiosos acerca dos efeitos de temperaturas elevadas em dentes humanos.

**Palavras-chave:** Alterações térmico-induzidas, linhas de incremento, cimento, dentina, histologia.

# Abstract

Age-at-death estimation is a fundamental parameter of biological profile, both in Forensic and Biological Anthropology. Teeth are one of the most resilient parts of the human skeleton thus becoming an elected tool for age estimation, particularly in extreme scenarios as with burned human remains that require alternative approaches. Cementochronology refers to a histological technique for age-at-death estimation based on the analyses of tooth cement and its incremental lines. Due to dimensional modifications and difficulty in observation of the lines, alternative approaches to estimate age, beyond classic counting of incremental lines, as measurements of cement and dentin thickness and number of incremental lines extrapolation from total cement thickness, were applied. The aims of this research were to (1) evaluate the viability of counting incremental lines in burned teeth at two different temperatures, 400° and 900°C in a sample of 60 single-rooted teeth; (2) assess if the estimated ages for those teeth by cementochronology, after thermic alteration, corresponds positively with known age; (3) idealize an alternative approach to the analyses of incremental lines that also allows to estimate age at those two temperatures; (4) and verify if root tissue, cement and dentin thickness has a positive relation with known age, after the burning process; having as the main research objective to validate the efficacy of cementochronology as a method to estimate age-at-death in burned teeth. For that, a sample of 60 single-rooted teeth (upper and low: 44 centrals and lateral incisors, and 16 canines) collected in dental clinics and identified with age and sex were submitted to a thermic treatment of 400°C and 900°C. Those were burned in a controlled laboratorial environment for 1h and 2h, respectively. Later they were cross sectioned and observed through an optical microscope, of which micrographs were taken and on which the line counting and measurements were undertaken. The sex specific age of eruption was added to the number of incremental lines and an estimated age for each teeth was attained. No statistically significant relation between chronological age and estimated age was found at 400°C nor at 900°C by counting the number of lines, with a mean error for the estimate at 400°C of 21.6 years and at 900°C of 24.2 years. By extrapolating

the number of bands it was possible to correlate the chronological age with the estimated age on the two groups, with a mean error for the estimate at 400°C of 10.3 years and at 900°C of 11.4 years. No significant correlations between the percentage of cement and dentin with chronological age and between the percentages of dentine/cement with chronological age was observed, however the low number of elements observed in the sample may be limiting the results. This research provides more knowledge to the search of an appropriate methodology in the assessment of age-at-death in burned human remains as it also presents additional and valuable data about the effects of high temperatures in human teeth.

**Key-words:** Heat-induced changes, incremental lines, cement, dentin, histology.

# Índice

Agradecimentos	V
Resumo	IX
Abstract	XI
Índice	XIII
Índice de Tabelas	XV
Índice de Figuras	XIX
Lista de Abreviaturas	XXI
1 Introdução	1
1.1 Restos Humanos Queimados e a Estimativa da Idade-à-Morte	1
1.2 Cimentocronologia	5
1.3 O Dente: desenvolvimento e estrutura	8
1.4 Objetivos	12
2 Materiais e Métodos	13
2.1 Recolha da Amostra	13
2.2 Limpeza da Amostra	13
2.3 Seleção da Sub-Amostra	14
2.4 Análise Macroscópica Pré-Queima	16
2.5 Tratamento Térmico	16
2.6 Análise Macroscópica Pós-Queima	17
2.7 Técnica de Preparação Histológica	17
2.8 Análise Microscópica	20
2.9 Erro Intra- e Inter-observador	20
2.10 Estimativa de Idade	21
2.10.1 Contagem de Linhas de Incremento	21
2.10.2 Extrapolação do Número de linhas de Incremento	22
2.10.3 Dentina e Cimento em Função da Idade	23

2.11	Análise Estatística	23
3	Resultados	25
3.1	Alterações Morfológicas	25
3.2	Alterações no Peso e Dimensão	27
3.3	Erro Intra- e Inter-observador	28
3.3.1	Contagem de Linhas de Incremento	28
3.3.2	Medições das Linhas de Incremento e da Espessura do Cimento	29
3.4	Estimativa de Idade Através da Contagem de Linhas de Incremento	29
3.5	Estimativa de Idade Através da Extrapolação do Número de Linhas de Incremento	37
3.6	Erro Médio nas Estimativas de Idade	41
3.7	Dentina e Cimento em Função da Idade	42
4	Discussão	45
4.1	Alterações Cromáticas e Morfológicas	45
4.2	Alterações no Peso e Dimensão	48
4.3	Estimativa de Idade Através da Contagem de Linhas de Incremento	49
4.4	Estimativa de Idade Através da Extrapolação do Número de Linhas de Incremento	53
4.5	Dentina e Cimento em Função da Idade	54
5	Conclusão	57
6	Bibliografia	59
7	Apêndice	73
7.1	Apêndice I	75
7.2	Apêndice II	77
7.3	Apêndice III	78

# Índice de Tabelas

<b>Tabela 1.1.</b> Resumo das investigações realizadas através da técnica de cimentocronologia desde o século XX.	7
<b>Tabela 2.1.</b> Idades de erupção alveolar (alv) para Incisivos centrais, laterais (I1, I2) e caninos (C) (Adaptado de Haavikko, 1970).	22
<b>Tabela 3.1.</b> Alterações dimensionais na raiz. Foram realizadas medições da altura máxima da raiz, do diâmetro mesiodistal (MD) a meio da raiz e do diâmetro bucolingual (BL) a meio da raiz.	28
<b>Tabela 3.2.</b> Estimativa de idade através da contagem de linhas de incremento em dentes queimados a 400°C.	31
<b>Tabela 3.3.</b> Resultados estimados para a idade na amostra dos 400°C comparativamente com a idade cronológica conhecida.	32
<b>Tabela 3.4.</b> Resultados estimados para a idade na amostra dos 400°C, em função do sexo feminino (F) e o sexo masculino (M), comparativamente às idades cronológicas.	33
<b>Tabela 3.5.</b> Resultado da estimativa de idade realizada a partir da contagem de linhas de incremento em dentes queimados a 900°C.	35
<b>Tabela 3.6.</b> Resultados estimados para a idade na amostra dos 400°C comparativamente com a idade cronológica conhecida.	36
<b>Tabela 3.7.</b> Resultados para a amostra dos 400°C, avaliando as idades estimadas nos grupos do sexo feminino (F) e do sexo masculino (M), comparativamente às suas idades cronológicas.	37
<b>Tabela 3.8.</b> Estimativa da idade através do número de linhas de incremento extrapoladas em dentes queimados a 400°C.	38
<b>Tabela 3.9.</b> Resultados obtidos com a estimativa de idade através da extrapolação do número de linhas de incremento em dentes queimados a 400°C, comparativamente à idade conhecida da amostra.	39

- Tabela 3.10.** Idades estimadas através do número de linhas de incremento extrapoladas em dentes queimados a 900°C. 39
- Tabela 3.11.** Resultados obtidos com a estimativa de idade através da extrapolação do número de linhas de incremento em dentes queimados a 400°C, comparativamente à idade conhecida da amostra. 40
- Tabela 3.12.** Erro médio (EM) entre a idade estimada e a idade conhecida, nas duas abordagens utilizadas, a 400°C e a 900°C. 41
- Tabela 3.13.** Percentagens (%) de dentina (D) e cimento (C) em relação à espessura total do corte e percentagem dentina/cimento (D/C) em dentes queimados a 400°C e a 900°C, relacionados com a idade cronológica. 42
- Tabela 3.14.** Resultados obtidos para as percentagens de dentina (D) e cimento (C) em relação à espessura total do corte e percentagem dentina/cimento (D/C), para os grupos feminino (F) e masculino (M), em dentes queimados a 400°C e a 900°C. 43
- Tabela 7.1.** Amostra selecionada para ser queimada a 400°C e a 900°C graus, identificada com sexo (F – feminino, M- masculino), tipo de dente (FDI), idade cronológica (IC) e motivo da extração (ME). 78
- Tabela 7.2.** Peso para cada dente estudado, antes (P1) e depois (P2) da queima, a 400°C e a 900°C. (P2-P1) refere-se à diferença entre as duas avaliações realizadas. 79
- Tabela 7.3.** Altura máxima da raiz dos dentes em estudo, desde o ápice até à linha cimento-esmalte, antes (A1) e depois (A2) das queimas a 400°C e 900°C.80
- Tabela 7.4.** Diâmetro mesiodistal a meio da raiz de todos os dentes estudados, antes (D1) e depois (D2) das queimas a 400°C e 900°C. ID – código de identificação do dente. 81
- Tabela 7.5.** Diâmetro bucolingual a meio da raiz de todos os dentes estudados, antes (D1) e depois (D2) das queimas a 400°C e 900°C. ID – código de identificação do dente. 82

- Tabela 7.6.** Registo da escala de qualidade de observação e das contagens de linhas de incremento no grupo de dentes submetido a 400°C. 83
- Tabela 7.7.** Registo da escala de qualidade de observação e das contagens de linhas de incremento nos dentes queimados a 900°C. 84
- Tabela 7.8.** Registo das medições realizadas para a extrapolação do número de linhas de incremento em dentes queimados a 400°C. 85
- Tabela 7.9.** Registo das medições realizadas para a extrapolação do número de linhas de incremento em dentes queimados a 900°C. 86
- Tabela 7.10.** Medições realizadas em dentes queimados a 400°C para avaliar a espessura da dentina (D), do cimento (C) e do conjunto dos dois (Total) e calculo das percentagens de dentina, cimento e da percentagem dentina/cimento. 87
- Tabela 7.11.** Medições realizadas em dentes queimados a 900°C para averiguar a espessura da dentina (D), do cimento (C) e do conjunto dos dois (Total) e calculo das percentagens de dentina, cimento e da percentagem dentina/cimento. 87



# Índice de Figuras

<b>Figura 1.1.</b> Esquema representativo do processo de seccionamento da raiz dentária para realizar a contagem de linhas de incremento (Imagem de Colard et al., 2015).	6
<b>Figura 1.2.</b> Tecidos duros dentários identificados num pré-molar inferior.	11
<b>Figura 2.1.</b> Dentes obtidos no decorrer do processo de recolha.	14
<b>Figura 2.2.</b> Distribuição da amostra selecionada por tipo de dente e sexo.	15
<b>Figura 2.3.</b> Dois dentes queimados a 900°C durante o processo de inclusão na resina.	18
<b>Figura 2.4.</b> Unidade de polimerização do sistema Exakt durante o ciclo azul, durante processo de polimerizar quatro dentes.	18
<b>Figura 2.5.</b> Dente queimado a 400°C na garra de suporte durante o processo de corte.	19
<b>Figura 2.6.</b> Unidade de corte do sistema Exakt onde foram realizados os cortes histológicos.	19
<b>Figura 3.1.</b> Canino superior direito (13), pertencente a um individuo masculino de 43 anos, antes (a) e depois (b) de ser queimado a 400°C.	25
<b>Figura 3.2.</b> Canino inferior esquerdo (33), pertencente a um individuo masculino de 65 anos, antes (a) e depois (b) da queima a 900°C.	25
<b>Figura 3.3.</b> Corte histológico de um canino inferior (33) pertencente a um individuo do sexo feminino de 61 anos queimado a 400°C.	26
<b>Figura 3.4.</b> Corte histológico de um incisivo inferior (31) pertencente a um individuo do sexo feminino de 48 anos queimado a 900°C.	27
<b>Figura 3.5.</b> Micrografia de corte num incisivo central (41) queimado a 400°C, pertencente a um individuo feminino de 41 anos.	30

- Figura 3.6.** Micrografia de corte num incisivo lateral (42) queimado a 400°C, pertencente a um individuo feminino de 41 anos. 30
- Figura 3.7.** Gráfico de dispersão para a idade estimada através da contagem de linhas de incremento em dentes queimados a 400°C, relativamente à idade cronológica. 32
- Figura 3.8.** Micrografia de um canino (33) queimado a 900°C, pertencente a um individuo feminino de 37 anos. 34
- Figura 3.9.** Micrografia de um incisivo lateral (32) queimado a 900°C, pertencente a um individuo feminino de 73 anos. 34
- Figura 3.10.** Gráfico de dispersão para a idade estimada relativamente à idade cronológica em dentes queimados a 400°C. 36
- Figura 3.11.** Gráfico de dispersão para a idade estimada através da extrapolação do número de linhas de incremento relativamente à idade conhecida, para os 400°C (triângulos pretos) e para os 900°C (quadrados brancos). 41
- Figura 7.1.** Consentimento informado para requisição da doação dos dentes extraídos nas clinicas dentárias (página 1). 75
- Figura 7.2.** Consentimento informado para requisição da doação dos dentes extraídos nas clinicas dentárias (página 2). 76
- Figura 7.3.** Parecer fornecido pela Comissão de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra. 77

## Lista de Abreviaturas

**BL**- Bucolingual.

**CAFE** - Cimento acelular de fibras extrínsecas.

**CCFI** - Cimento celular de fibras intrínsecas.

**CCEM** - Cimento celular estratificado misto.

**FDI** - *Fédération dentaire internationale*

**JCE**- Junção cimento/esmalte.

**JDE** - Junção dentina/esmalte.

**JCD** - Junção cimento/dentina.

**MD** - Mesiodistal



# 1 Introdução

## 1.1 Restos Humanos Queimados e a Estimativa da Idade-à-Morte

A estimativa da idade-à-morte é um passo essencial na avaliação de restos humanos, concomitante com a diagnose sexual, fundamental na tentativa de estimar o perfil biológico e onde existe uma grande necessidade de validação metodológica (Buckberry e Chamberlain, 2002; Mulhern e Jones, 2005; Falys *et al.*, 2006; Ritz-Timme *et al.*, 2000; Cunha *et al.*, 2009). Consequentemente o objetivo principal neste trabalho foi investigar o potencial de três técnicas para estimar a idade-à-morte baseadas na análise de características dos tecido duros dentários em dentes queimados.

Tanto nas áreas de Antropologia Biológica e Antropologia Forense diversas técnicas têm vindo a ser desenvolvidas para estimar a idade cronológica em adultos (Ferrante e Cameriere, 2009), explorando diferentes partes do esqueleto humano, como por exemplo várias características da sínfise púbica (Brooks e Suchey, 1990), alterações na superfície auricular (Lovejoy *et al.*, 1985; Buckberry e Chamberlain, 2002), a forma e extremidade das costelas (Işcan *et al.*, 1984, 1985; DiGangi *et al.*, 2009), o grau de obliteração das suturas cranianas (Meindl e Lovejoy, 1985), assim como através da análise de características dentárias entre elas o desgaste da coroa e a translucidez da raiz, o tamanho dos canais radiculares e a racemização do ácido aspártico (Gustafson, 1950; Lamendin *et al.*, 1992; Yekkala *et al.*, 2006; Cameriere *et al.*, 2007). Contudo, as mudanças avaliadas com estas metodologias estão sob a influência de fatores biológicos e ambientais ativos durante toda a vida dos indivíduos (Mulhern e Jones, 2005) e uma vez que única idade que se pode estimar é a biológica, esta pode distanciar-se grandemente da cronológica (Cunha *et al.*, 2009). Partindo deste pressuposto surgem várias problemáticas.

Na tentativa de estimar de idade-à-morte em adultos, o grande dilema que surge é o facto de quanto mais avançada a idade do individuo, maior o intervalo resultante da estimativa (Cunha *et al.*, 2009). Isso aliado ao facto da abordagem metodológica utilizada ser maioritariamente baseada em estágios degenerativos

do esqueleto, (Cox, 2000; Gauthier e Schutkwoski, 2013; Gocha e Schutkwoski, 2013) que incluem mudanças que estão sujeitas a uma grande variabilidade de fatores e de respostas do esqueleto a estes (Mulhern e Jones, 2005). Adicionalmente, o facto dos métodos existentes serem grandemente dependentes das coleções onde foram desenvolvidos (Cunha *et al.*, 2009; Garvin e Passalacqua, 2012) e cada abordagem ser avaliada com métodos estatísticos diferentes (Ritz-Timme *et al.*, 2000; Cunha *et al.*, 2009; Ferrante e Cameriere, 2009) cria-se, com estes requisitos, um conjunto de limitações para a avaliação deste parâmetro.

Porém não se deve ignorar que os restos esqueléticos recuperados podem apresentar vários graus de preservação e é pertinente a escolha de uma abordagem multifatorial e adequada às circunstâncias (Rösing *et al.*, 2007; Cunha *et al.*, 2009). Assim é de esperar que o grau de aplicabilidade dos métodos disponíveis para estimar idade-à-morte seja menor quando os restos esqueléticos recuperados foram sujeitos a condições adversas extremas, como por exemplo quando submetidos a temperaturas muito elevadas em cremações ou fogos acidentais (Gocha e Schutkwoski, 2013).

Uma ideia errónea bastante disseminada é a de que a exposição ao fogo elimina completamente os vestígios do corpo, reduzindo-o a cinzas (Alunni *et al.*, 2014). Todavia, os restos esqueléticos são recuperados de uma variedade de cenários (por exemplo, cremações, desastres em massa, acidentes automóveis, incêndios domésticos, fogos acidentais e em menor escala suicídios e tentativas de ocultar homicídios) e em diversos estados de preservação, mas ainda anatomicamente reconhecíveis, o que vai influenciar a abordagem a adotar no decorrer da sua análise (Thompson, 2004; Fairgrieve, 2008; Ubelaker, 2009; Gonçalves, 2011; Harbecka *et al.*, 2011, Alunni *et al.*, 2014).

Não obstante a frequência com que se encontram restos humanos queimados, a incidência da investigação nesta área é relativamente recente (Ubelaker, 2009). No decorrer dos últimos anos diversas abordagens propuseram-se a avaliar o efeito de temperaturas elevadas e do fogo em ossos e dentes queimados, analisando características macroscópicas (Mckinley, 1993; Bass e Jantz, 2004; Gonçalves *et al.*, 2014; Gonçalves *et al.*, 2015) e microscópicas, utilizando técnicas histológicas (Herrmann, 1977; Stiner *et al.* 1995; Muller *et al.*, 1998; Cattaneo *et al.*, 1999; Myers *et al.*, 1999; Ferreira *et al.*, 2008), difração de

raio-X (Piga *et al.*, 2008, 2009), SAXS – *espalhamento de raio-x a baixo ângulo* (Hiller *et al.*, 2003), FTIR - *espectroscopia de infravermelho com transformadas de Fourier* (Thompson *et al.*, 2009) a fim de tentar compreender as condições de queima e de pré-queima (Waterhouse, 2013a,b,c) e também moleculares (Williams *et al.*, 2004) com análise de PCR (*polimerase chain reaction*) através da qual foi possível estimar o sexo biológico em dentes queimados até 200°C.

O efeito do fogo no material ósseo provoca um conjunto de alterações morfológicas progressivas que podem ir desde o estado normal do mesmo até atingir o estado calcinado (Bohnert *et al.*, 1998; Waterhouse, 2013a,b,c). A cremação ou destruição de um corpo com o auxílio de fogo representa um desafio para a avaliação do perfil biológico do esqueleto. Por vezes a tarefa de identificar as partes constituintes de restos humanos que sofreram ação do fogo ou temperaturas elevadas é dificultada pelo grau de fragmentação dos mesmos (Grévin *et al.*, 1998) e os métodos disponíveis para avaliação do perfil biológico ficam muito limitados (Cunha *et al.*, 2009; Ubelaker, 2009; Gocha e Schutkwoski, 2013; Absolonova *et al.*, 2013).

Essa limitação deve-se ao facto dos restos humanos que sofreram stresse térmico revelarem diversas modificações resultantes do processo da queima (Gonçalves *et al.*, 2013a,b; Gonçalves *et al.*, 2015) e as técnicas aplicadas para essa finalidade terem sido desenvolvidas em ossos que não sofreram alterações, não sendo assim apropriadas para esse fim (Thompson, 2004; Thompson e Chudek, 2007; Absolonova *et al.*, 2013). E, tal como já foi mencionado, a estimativa de idade-à-morte através dos métodos convencionais fica comprometida (Gocha e Schutkwoski, 2013) existindo a necessidade de se recorrer a alternativas como a análise das microestruturas dos osteões no osso cortical (Kerley e Ubelaker, 1978; Absolonova *et al.*, 2013). Contudo, a preservação dos ossos nem sempre é ideal (Cunha *et al.*, 2009) e a necessidade de uma peça específica do esqueleto pode tornar-se impeditiva da investigação (Fairgrave, 2008).

Como consequência disto, os métodos dentários mais utilizados para a estimativa de idade-à-morte em adulto ficam, na sua maioria, inutilizáveis (Cunha *et al.*, 2009). Por exemplo, a avaliação da transparência da raiz fica comprometida (Gibelli *et al.*, 2014) e a identificação dos dentes e os métodos aplicados na coroa tornam-se difíceis de aplicar devido à frequente fragmentação da mesma (Ferreira

*et al.*, 2008; Lain *et al.*, 2011). Todavia, de todas as partes do esqueleto humano, os tecidos duros da dentição humana são os mais resistentes a situações de adversidade extremas, suportando diversas influências tafonómicas (Stein e Corcoran., 1994; Scott e Turner, 2000). Estes são das estruturas mais resistentes do corpo humano e mesmo que a exposição direta ao fogo possa comprometer a sua integridade, por norma, tratam-se dos vestígios mais bem preservados após exposição de um corpo a altas temperaturas (Schmidt, 2008; Gocha e Schutkwoski, 2013). Assim, revela-se essencial explorar os métodos possíveis para aplicar nestes componentes.

Na investigação relacionada com dentes queimados vários aspetos morfológicos dos mesmos foram discutidos como por exemplo Beach e colegas (2008) mencionaram que devido aos seus componentes, as reações dos dentes e dos ossos expostos a temperaturas elevadas deviam ser consideravelmente diferentes. Ainda assim, trabalhos de Shipman e colegas (1984) e Endris e Berrische (1985) mostraram que as alterações de cor sofridas tanto pelos dentes como pelos ossos eram semelhantes, os primeiros utilizando caprinos como modelo animal enquanto os segundos testaram em dentes humanos. Beach e colegas (2008) descreveram as mudanças de cor nos dentes como um gradiente começando no preto, para temperaturas mais baixas, passando para castanho-azeitona, cinzento e para temperaturas mais altas, branco. Savio e colegas (2006) observaram alterações na forma de dentes depois de submetidos a stresse térmico, mencionando que a 400°C foram vistas fissuras entre o esmalte e a dentina na coroa mas nenhuma mudança na raiz, a 800°C fraturas entre o esmalte e a dentina e fraturas na dentina da raiz, e a 1000°C a coroa estava reduzida a fragmentos e a dentina da raiz possuía grandes fraturas. Sandholzer e colegas (2013) caracterizaram as modificações de cor nos dentes induzidas por temperaturas elevadas numa escala de 400°C preto/escuro, 500°C – 600°C castanho, 700°C cinzento – azulado, 800°C cinzento claro, 900°C branco giz e 1000°C branco/rosa.

Contudo informação relativa à utilização dos mesmos face à estimativa de parâmetros do perfil biológico ainda é escassa, requerendo um maior investimento na pesquisa e validação das técnicas existentes.

## 1.2 Cimentocronologia

Quando se lida com restos humanos queimados e os danos na dentição são diminutos, um dos principais e mais utilizados métodos para a identificação e estimativa de idade é a comparação com os registos odontológicos (Savio *et al.*, 2006; Lain *et al.*, 2011; Sandholzer *et al.*, 2013; Reesu *et al.*, 2015). Contudo, estes podem não existir ou, como já foi dito, o estado da dentição, principalmente a anterior, pode estar muito danificado com apenas alguns fragmentos disponíveis para análise (Lain *et al.*, 2011; Woisetschläger *et al.*, 2011; Reesu *et al.*, 2015), tornando esta abordagem obsoleta.

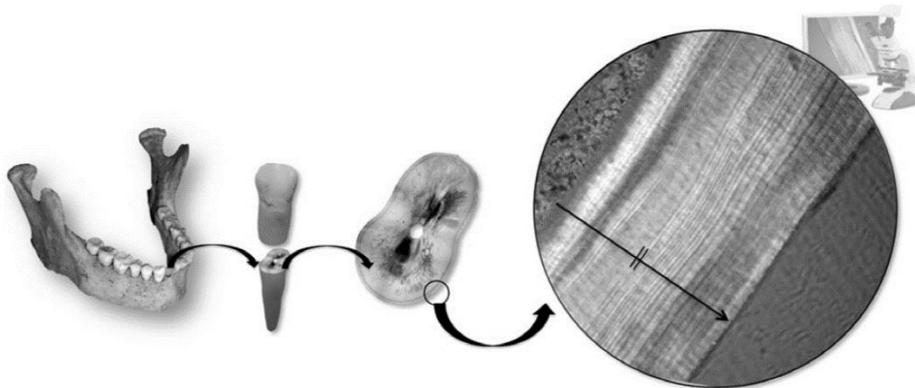
Seria assim pertinente procurar uma técnica que explorasse uma zona do esqueleto que fosse menos afetada pelo fogo, tivesse uma capacidade de preservação elevada quando face a condições extremas e possuísse características indicativas da idade biológica do indivíduo para assim a relacionar com a idade cronológica e ultrapassar as limitações já mencionadas. Preenchendo estes pré-requisitos está a zona da raiz dentária, uma área privilegiada, pois está inserida no alvéolo, esta é protegida por osso e tecidos moles (Merlati *et al.*, 2002; Savio *et al.*, 2006; Gocha e Schutkwoski, 2013; Reesu *et al.*, 2015) assim como é constituída por dois tecidos duros, dentina e cimento, ricos em material inorgânico (Merlati *et al.*, 2002; Reesu *et al.*, 2015) que possuem uma deposição contínua durante a vida do indivíduo e demonstram mudanças relacionadas com a idade (Morse, 1991). Os dentes, tratando-se das estruturas do esqueleto humano que melhor sobrevivem a temperaturas elevadas, estão contudo sujeitos a uma maior fragmentação na zona da coroa do que na raiz (Gocha e Schutkwoski, 2013; Reesu *et al.*, 2015).

Tendo a raiz como área de eleição, pode-se então recorrer a características particulares dos materiais da mesma para tentar estimar a idade-à-morte após stresse térmico. O processo de aumento da espessura da camada de cimento dentário estar relacionado com a idade foi primeiro proposto por Black (1887 *in* Schroeder *et al.*, 1986), reafirmado por Gustafson (1950) e em diversos trabalhos posteriores (Azaz *et al.*, 1974; Azaz *et al.*, 1977; Solheim, 1990).

Assim, a deposição do cimento dentário em bandas distinguíveis microscopicamente deu origem a uma técnica para estimativa de idade utilizada há anos em mamíferos terrestres e marítimos (Spinage, 1973; Stott *et al.*, 1982).

Mesmo não completamente compreendida, a origem das linhas de incremento no cimento tem sido descrita como uma consequência de variações na mineralização relativa e/ou orientação das fibras de colagénio (Gocha e Schutkowski, 2013). Nas análises efetuadas em zoologia associa-se a deposição do cimento com períodos de hibernação/estivação e alterações bruscas na dieta devido à divergência de recursos (Lieberman, 1994). Nos humanos, exceto algumas populações particulares, não se verificam grandes mudanças ambientais que possam justificar a deposição alternada de linhas hiperpolimerizadas e hipopolimerizadas, tratando-se ainda de um assunto por esclarecer (Stott *et al.*, 1982; Lieberman, 1994; Colard *et al.*, 2015). As justificações mais plausíveis são a ação do sistema endócrino e/ou forças biomecânicas (Lieberman, 1994; Czermak *et al.*, 2006).

Deste modo, a contagem de linhas de incremento (Figura 1.1), foi primariamente aplicada para estimativa de idade-à-morte em humanos inicialmente por Stott e colaboradores (1982) em dentes extraídos de cadáveres com bons resultados. Desde então tem sido utilizada em diversos estudos para estimativa de idade, tanto em contextos recentes como arqueológicos (Tabela 1.1), no entanto com uma miríade de resultados que colocam em causa a sua adopção como método padrão.



**Figura 1.1.** Esquema representativo do processo de seccionamento da raiz dentária para realizar a contagem de linhas de incremento (Imagem de Colard *et al.*, 2015).

**Tabela 1.1.** Resumo das investigações realizadas através da técnica de cimentocronologia desde o século XX. N – número de dentes utilizado em cada trabalho.

<b>Tipo de Amostra</b>	<b>Autores</b>	<b>N</b>
<b>Dentes Arqueológicos</b>	Klevezal e Shishlina (2001)	-
	Czermak <i>et al.</i> (2006)	26
	Obertová e Francken (2009)	116
	Roksandic <i>et al.</i> (2009)	116
	Radović (2012)	24
	Shug <i>et al.</i> (2012)	29
	Gauthier e Schutkowski (2013)	21
	Bertrand <i>et al.</i> (2014)	100
Blondiaux <i>et al.</i> (2015a,b)	1255; 1480	
<b>Dentes de Cadáveres</b>	Stott <i>et al.</i> (1982)	17
	Naylor <i>et al.</i> (1985)	-
	Charles <i>et al.</i> (1986)	42
<b>Dentes Frescos</b>	Condon <i>et al.</i> (1986)	80
	Lipsnic <i>et al.</i> (1986)	31
	Lucas e Loth (1986)	26
	Stein e Corcoran (1994)	52
	Kvaal e Solheim, (1995)	95
	Kagerer e Grupe (2001)	91
	Jankauskas <i>et al.</i> (2001)	51
	Wittwer-Backofen <i>et al.</i> (2004)	393
	Maat <i>et al.</i> (2006)	100
	Renz e Radlanski (2006)	8
	Meinl <i>et al.</i> (2008)	67
	Orbetová e Franklen (2009)	116
	Dias <i>et al.</i> (2010)	25
	Arora <i>et al.</i> (2013)	103
Gupta <i>et al.</i> (2014)	100	
<b>Dentes Queimados</b>	Großkopf (1989, 1990)	30
	Czermak <i>et al.</i> (2012)	13
	Gocha e Schutkowski (2013)	30

A técnica consiste no tratamento histológico dos dentes a serem estudados, seccionamento (longitudinalmente ou transversalmente, embora o último seja recomendado) e preferencial análise da zona do CAFE (cimento acelular de fibras extrínsecas) onde são observáveis conjuntos de bandas claras

e escuras (Figura 1.1) (Stott *et al.*, 1982; Wittwer-Backofen *et al.*, 2004; Naji *et al.*, 2014; Colard *et al.*, 2015). Cada banda escura mais banda clara perfazem uma linha de incremento, representante de um ano (Stott *et al.*, 1982; Wittwer-Backofen *et al.*, 2004; Colard *et al.*, 2015).

A estimativa de idade resulta da soma total desse número de linhas adicionada à idade de erupção do dente, especifica para cada sexo (Naylor *et al.*, 1985; Kagerer e Grupe, 2001; Wittwer-Backofen, 2012; Gauthier e Schutkowski, 2013; Naji, *et al.*, 2014).

O cimento dentário trata-se assim de um verdadeiro marcador *cronobiológico*, capaz de representar a idade do indivíduo ultrapassando a maioria das limitações na estimativa da idade-à-morte que já foram previamente mencionadas (Gocha e Schutkowski, 2013; Naji *et al.*, 2015). Isto porque o cimento tem um crescimento contínuo ao longo da vida dos indivíduos e está relacionado com a idade cronológica (Azaz *et al.*, 1974; Stein *et al.*, 1994), o que pode ser observado em dentes humanos queimados, mesmo com a possibilidade de ser afetado grandemente por alterações dimensionais, que podem ser um factor condicionante na visualização das linhas (Gocha e Schutkowski, 2013).

Esta estrutura torna-se assim uma fonte para novas abordagens na estimativa de idade, aumentando o alcance da definição de cimentocronologia e podendo transforma-la numa mais-valia na área do estudo de dentes humanos que sofreram alterações térmico-induzidas, caso se comprove a sua validade, uma vez que muitas vezes, em eventos onde o esqueleto esteve sujeito a grande stresse térmico, os dentes são as únicas peças identificáveis (Ferreira *et al.*, 2008; Ubelaker, 2009; Gocha e Schutkowski, 2013).

### 1.3 O Dente: desenvolvimento e estrutura

Para um mais aprofundado entendimento de como se poderá explorar as características dos tecidos duros dentários com o intuito de aferir a idade-à-morte, é necessário conhecer os componentes dentários e tentar perceber as suas reações quando sujeitos a temperaturas elevadas.

O processo de ontogenia dentária é formado pelas etapas de iniciação, proliferação, histodiferenciação, morfodiferenciação, aposição, calcificação e

erupção (Scott e Turner, 2000). Os dentes humanos são essencialmente compostos por três elementos: esmalte, dentina e cimento (Figura 1.2), que têm origem ectodérmica (o esmalte) e mesodérmica (os outros dois), sendo que a interação entre a ectoderme e a mesoderme vai gerir todo o desenvolvimento ontogénico da dentição (Scott e Turner, 2000; Hillson; 2005).

O esmalte envolve a dentina e é o tecido mais duro da coroa, sendo composto maioritariamente de apatite cristalina (95 – 96%), matriz orgânica (<1%) e água (Scott e Turner, 2000; Williams *et al.*, 1989 *in* Fairgrieve, 2008). A sua formação é iniciada em células chamadas ameloblastos, que segregam proteínas de esmalte, enquanto migram radialmente da membrana basal até ao que mais tarde será a coroa (Scott e Turner, 2000; Fairgrieve, 2008). Estas proteínas de esmalte segregadas compõem uma matriz que após o processo de mineralização se transforma em tecido duro (Scott e Turner, 2000). Os ameloblastos são perdidos aquando a erupção do dente, o que significa que todos os danos no esmalte durante a vida são permanentes (Fairgrieve, 2008).

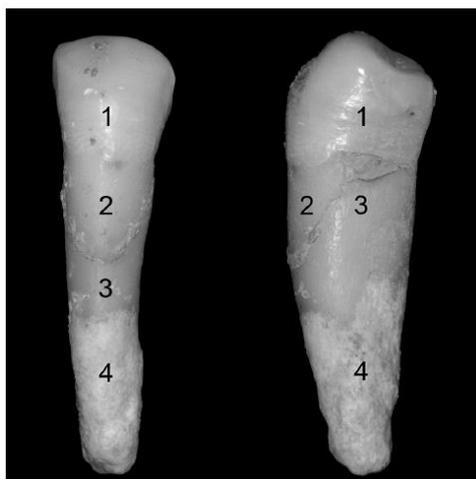
A dentina é composta por componentes inorgânicos (75%), orgânicos (20%) e água (Fairgrieve, 2008), com um constituinte maioritário, o colagénio (Hillson, 2005). É rodeada tanto por esmalte, na coroa, como por cimento, na raiz. A sua formação inicia-se no mesmo local que o esmalte contudo as células responsáveis pela deposição de pré-dentina, os odontoblastos, migram numa direção transversal (Morse, 1991; Scott e Turner, 2000). Mais tarde, durante a fase de calcificação a pré-dentina vai dar origem à dentina (Scott e Turner, 2000). Em contraste com outros tecidos dentários, a presença de odontoblastos (células de síntese de dentina) durante a vida do indivíduo, promove um processo odontoblástico, permitindo a sua renovação (Hillson, 2005). No entanto, a dentina não é remodelada tão rapidamente e frequentemente como acontece com o osso. Forma-se o que é conhecido como dentina secundária que atua a sua natureza reparadora em alguns casos de trauma e cuja deposição também está associada ao processo de envelhecimento (Hillson, 1996; 2005; Paewinsky *et al.*, 2005).

O cimento é descrito como um tecido conjuntivo mineralizado, que cobre a dentina na zona da raiz e é conhecido por crescer em bandas concêntricas (Solheim, 1990; Hillson, 1996, 2005; Schroeder *et al.*, 1986; Lieberman, 1994; Kvaal e Solheim, 1995; Wittwer-Backofen *et al.*, 2004; Maat *et al.*, 2006; Naji *et al.*, 2014).

Lieberman (1994) deu ênfase à necessidade de compreender melhor as funções do cimento dentário, a sua histologia e o seu desenvolvimento. A sua composição química é muito semelhante à do osso, 50% (por peso) de hidroxiapatite e fosfato de cálcio amorfo (Hillson, 2005; Fairgrieve, 2008) mas ao contrário do tecido ósseo, não é vascularizado e não tem remodelação contínua (Schroeder *et al.*, 1986). Contudo este pode ser formado durante qualquer um dos estados do desenvolvimento do dente (Schroeder *et al.*, 1986).

O cimento é o tecido conjuntivo ao ligamento periodontal que ancora o dente ao alvéolo, unindo as fibras de colagénio do ligamento periodontal à superfície da raiz num primeiro momento e mais tarde, mantendo o dente em posição ao longo da vida (Bosshardt e Selvig, 1997; Hillson, 2005; Naji *et al.*, 2014). A sua formação é feita a partir dos cimentoblastos que depositam o pré-cimento (matriz orgânica) na superfície do esmalte e da dentina, e que mais tarde vai ser mineralizado (Morse, 1991; Hillson, 2005). As fibras extrínsecas, formadas no ligamento periodontal, são rodeadas pelo pré-cimento em crescimento contínuo e são inclusas no mesmo, com uma direção perpendicular (Hillson, 2005; Fairgrieve, 2008). Os cimentócitos são então o resultado dos cimentoblastos serem rodeados de pré-cimento, ocupam espaços de diversos tamanhos (7 – 20 µm) e possuem forma irregular (Hillson, 2005; Fairgrieve, 2008). A espessura da camada de cimento varia entre um tamanho máximo no ápex da raiz e um tamanho mínimo na zona da junção cimento/esmalte (JCE) (Solheim, 1990).

Embora a classificação atribuída aos diferentes tipos de cimento varie na literatura (Schroeder *et al.*, 1986) é possível separá-los em três tipos: cimento acelular de fibras extrínsecas (CAFE); o cimento celular de fibras intrínsecas (CCFI) e o cimento celular estratificado misto (CCEM) (Figura 1.2) (Bosshardt e Selvig, 1997; Naji *et al.*, 2014). A dividir os três tecidos duros dentários existem três interfaces importantes: a junção dentina esmalte (JDE), junção cimento/dentina (JCD) e a junção cimento/esmalte (Hillson, 1996; 2005).



**Figura 1.2.** Tecidos duros dentários identificados num pré-molar inferior. 1 – esmalte; 2 - dentina; 3 – CAFE; 4 – CCFI (Imagem de Naji *et al.*, 2014. Sem escala).

O depósito de cimento é contínuo pela vida e é descrito por ocorrer em camadas, tendo um padrão de incremento anual (Stott *et al.*, 1982; Hillson, 2005; Fairgrieve, 2008), crescendo 2-3  $\mu\text{m}$  por ano (Bosshardt e Selvig, 1997; Naji *et al.*, 2014). Também a espessura média da dentina por ano é de 20  $\mu\text{m}$  (10  $\mu\text{m}$  por parede) na área da raiz, resultando da ação diferenciada dos odontoblastos nesta zona (Murray *et al.*, 2002). Estas características, como já referido previamente, podem permitir explorar uma relação entre a espessura destes tecidos dentários e a idade (Azaz *et al.*, 1977).

Como consequência tratam-se de características que poderão ter utilidade na busca de alternativas para a estimativa de idade-à-morte em dentes queimados e assim auxiliar a ultrapassar as limitações inerentes estimativa de idade em restos humanos queimados, caso se verifique a sua eficácia.

## 1.4 Objetivos

Nesta investigação teve-se como objetivo principal a tentativa de validar a eficácia da técnica cimentocronológica, ou seja, tentou-se verificar se a contagem de linhas de incremento do cimento se tratava de uma boa metodologia para estimar a idade-à-morte em dentes queimados. Mais exatamente pretendeu-se:

(1) avaliar a viabilidade da contagem de linhas de incremento em dentes queimados a duas temperaturas diferentes, 400°C e 900°C numa amostra de 60 dentes identificados monoradiculares;

(2) averiguar se as idades estimadas para esses dentes através de cimentocronologia, depois de alterações térmicas, corresponde positivamente com as idades conhecidas;

(3) idealizar a viabilidade da extrapolação do número de linhas de cimento dentário em função da espessura total do cimento para estimar a idade em dentes queimados a essas duas temperaturas;

(4) verificar se a espessura dos tecidos constituintes das raízes dentárias, cimento e dentina, após o processo de queima, têm uma relação positiva com a idade conhecida.

## 2 Materiais e Métodos

### 2.1 Recolha da Amostra

Era essencial ter dentes identificados para esta investigação. Para tal foram contactadas diversas clínicas dentárias portuguesas, inquirindo sobre o seu interesse em cooperar com este estudo e sobre a sua disponibilidade em doar dentes extraídos nas suas práticas clínicas. Obtiveram-se respostas positivas de clínicas dos distritos de Aveiro, Coimbra, Guarda, Leiria, Lisboa e Portalegre.

Para o acondicionamento dos mesmos, foram montados *kits* de recolha. O respetivo *kit* foi composto por: um saco de plástico hermético e um frasco de plástico com tampa, acompanhados de um consentimento informado (Apêndice I), todos marcados com código de identificação (letras e números). Para conservação dos dentes após a extração utilizou-se uma solução alcoólica (80%). O referido consentimento informado foi preenchido pelo médico dentista e assinado pelo paciente. Nele foram explicados os objetivos do estudo e requerida informação adicional do paciente (idade, sexo, nacionalidade, motivo para extração, idade ao parto e outras patologias).

Foram entregues 900 *kits* de recolha nos 30 consultórios que aceitaram participar voluntariamente no estudo, procedendo-se à recolha durante vários meses.

Para realização do estudo e visto o mesmo requerer componentes humanos e informações pessoais, foi requisitada permissão à Comissão de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra. Uma vez que se verificou a manutenção da confidencialidade de toda a informação solicitada e que a Declaração de Helsínquia (WMA, 2001) foi respeitada, um parecer favorável foi emitido a 17/11/2014, Ref: 108-CE-2014 (Apêndice II).

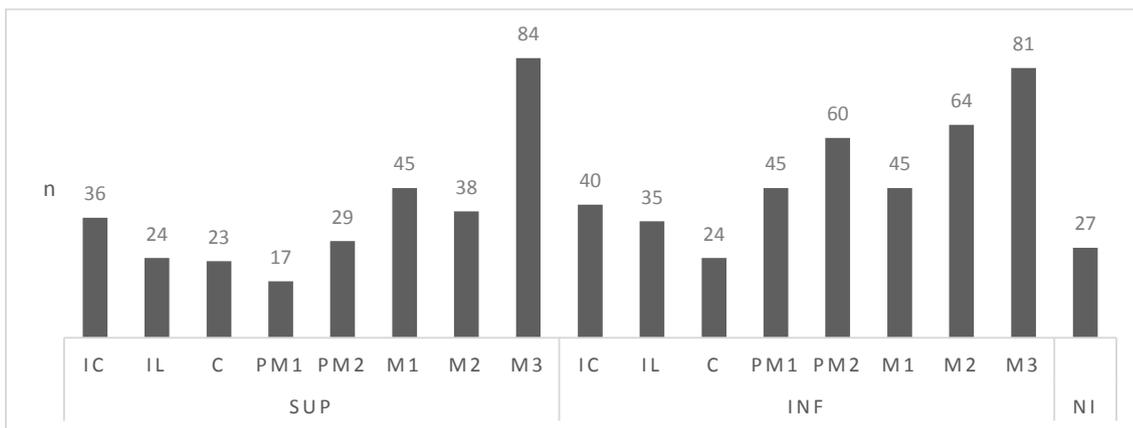
### 2.2 Limpeza da Amostra

No decorrer desta investigação foram recolhidos um total de 717 dentes (Figura 2.1), de todos os tipos dentários e pertencentes a todos os quadrantes. O registo dos mesmos foi feito consoante a nomenclatura FDI (sistema do duplo

digito), onde cada peça dentária é representada um conjunto de números, o primeiro correspondente à arcada dentária (1-4) e o segundo ao dente (1-8), para os adultos (Pereira *et al.*, 2012). Para as análises consequentes foram apenas utilizadas as identificações por código (letra e número) atribuídas a cada dente, para que o *blind test* fosse garantido.

Os dentes, mantidos até à data de limpeza na solução alcoólica (80%) dentro dos frascos providenciados, foram devidamente limpos para armazenamento. Para tal foi utilizada água destilada, escova de dentes e bisturi.

Com o auxílio dessas ferramentas foi cuidadosamente removida a maioria dos restantes tecidos moles e osso, de acordo com o procedimento seguido por Ferreira e colegas (2008). Este processo foi concomitante com a recolha, até ao mês de Dezembro de 2014.

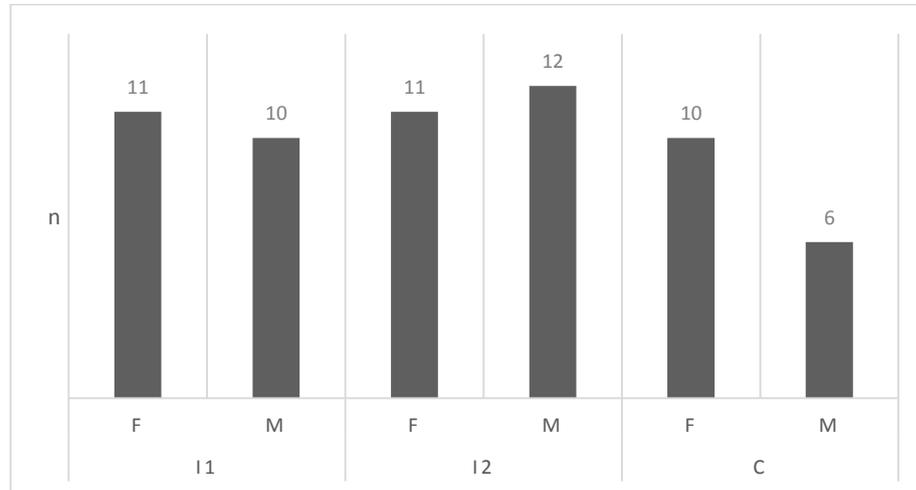


**Figura 2.1.** Dentes obtidos no decorrer do processo de recolha. SUP – superior, INF – inferior, NI - não identificado, IC – incisivo central, IL – incisivo lateral, C – canino, PM1 – primeiro pré-molar, PM2 – segundo pré-molar, M1 – primeiro molar, M2 - segundo molar, M3 – terceiro molar; n – número de dentes.

### 2.3 Seleção da Sub-Amostra

Um conjunto de 60 dentes, monoradiculares – incisivos, centrais e laterais, e caninos (de todos os quadrantes) - foram selecionados, constituindo assim a amostra a ser estudada (Apêndice III, Tabela 7.1). Esse total foi doado por 52 indivíduos dos quais 30 eram do sexo feminino e 22 do sexo masculino (Figura 2.2). Dos mesmos, 29 dentes pertenciam ao primeiro e ao quarto quadrantes enquanto os restantes 31 faziam parte do segundo e terceiro quadrantes.

Segundo Azaz e colaboradores (1977) e Solheim (1990) não há evidências da influência da lateralidade na estrutura do cimento dentário.



**Figura 2.2.** Distribuição da amostra selecionada por tipo de dente e sexo. F – Feminino, M – Masculino, I1 - Incisivo central, I2 - Incisivo lateral, C – Canino, n – Número de dentes.

Todos os dentes analisados pertenciam a indivíduos de idade conhecida. O intervalo de idades da amostra em estudo abrangeu desde os 22 aos 88 anos, sendo que a idade mais frequente foi de 61 anos. A média de idades para o total da amostra foi de 58,0 anos com desvio padrão de 14,5 anos.

A média de idades para o sexo feminino foi igual a 60,3 anos com um desvio padrão de 15,8 anos. Para o sexo masculino, a média de idades foi de 55,4 anos com um desvio padrão de 12,7 anos.

Para seleção dos dentes foram seguidos os seguintes critérios: os indivíduos terem uma idade superior a 18 anos, ser um incisivo ou canino, não haver presença de amálgamas metálicas, a raiz estar completamente preservada e estar disponível informação relativa aos parâmetros idade e sexo do indivíduo. Não foi realizada qualquer tipo de exclusão de dentes devido a patologias dentárias, tendo em consideração que a amostra em questão tem proveniência de clínicas de tratamento dentário e poucas extrações de dentes saudáveis serem realizadas nas mesmas. Tal critério de exclusão viria impossibilitar a reunião de uma amostra suficientemente grande para esta investigação.

Os motivos para extração dentária apontados nos consentimentos informados foram os seguintes: doença periodontal (n=25), cárie (n=15), cárie e

doença periodontal (n=4), fratura (n=6), mobilidade (n=2), destruição (n=2), infecção (n=1), dor (n=1). Dos 60 dentes, 4 não indicavam o motivo de extração.

## 2.4 Análise Macroscópica Pré-Queima

Quando se realiza uma investigação que envolva modificações permanentes no material em estudo, é essencial o registo máximo de informações relativas ao seu aspeto inicial. Para isso, foram tiradas fotos, efetuadas medições e pesagens de todos os dentes da amostra, ainda enquanto frescos.

No total foram realizados três tipos de medições dentárias tal como sugerido por Gocha e Schutkowski (2013) com a finalidade de aferir o efeito das alterações térmico-induzidas na zona medial da raiz e possível influência na visualização das linhas de incremento. As medidas executadas foram as seguintes: (1) a altura máxima da raiz, na faceta mesial de cada dente; (2) o diâmetro mesio-distal (MD) a meio da altura da raiz; e (3) o diâmetro bucolingual (BL) também a meio da altura da raiz. Para a execução deste procedimento foi utilizada uma craveira digital (Mitutoyo Digimatic, com precisão de 0,01 mm).

Para registo de peso foi utilizada uma balança de precisão (Kern EW600-2M, precisão de 0,01g). O registo fotográfico foi realizado utilizando uma câmara digital (Canon DS126181 DC 8.1V), conservando o máximo de informação pré-queima. As observações macroscópicas foram todas realizadas no Laboratório de Antropologia Forense do Departamento de Ciências da Vida da Universidade de Coimbra.

## 2.5 Tratamento Térmico

As modificações térmicas foram observadas em ambiente laboratorial controlado. Para isso utilizou-se um forno pertencente ao Centro de Investigação em Antropologia e Saúde da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra (Barracha K-3 trifásico 14A) e dividiu-se a amostra total em dois subgrupos, um de 30 dentes a ser submetido a uma temperatura de 400°C e outro com igual número de peças dentárias mas a ser submetido a uma temperatura de 900°C.

O primeiro grupo foi constituído por 13 incisivos centrais, 11 incisivos laterais e 6 caninos. O segundo grupo constituído por 9 incisivos centrais, 12 incisivos laterais e 9 caninos. O processo de seleção foi elaborado de modo a existir uma divisão equitativa de tipos dentários entre grupos.

O tratamento térmico foi repartido por duas etapas. Na primeira, o conjunto de 30 dentes foi submetido a stresse térmico, desde temperatura ambiente até atingir os 400°C com incrementos médios de temperatura de 3,3°C/min. Com o segundo grupo, os 900°C foram atingidos com incrementos médios de temperatura de aproximadamente 5,0°C/min, a partir da temperatura ambiente. Cada processo de queima foi monitorizado e mantido um registo de vídeo do monitor de temperatura do forno.

Após terminado o processo de queima, os dentes permaneceram dentro do forno até a temperatura descer o suficiente para atingir de novo a temperatura ambiente, sendo de seguida cuidadosamente retirados.

## 2.6 Análise Macroscópica Pós-Queima

Após a remoção do material do forno, uma segunda análise foi efetuada de forma a documentar as alterações térmico-induzidas entretanto sofridas pois estas poderiam ajudar a explicar os resultados obtidos posteriormente. Cada dente foi pesado e fotografado novamente, seguindo o mesmo processo que havia sido realizado anteriormente aquando frescos. Novas medidas da (1) altura máxima da raiz, na faceta mesial de cada dente; (2) o diâmetro mesiodistal a meio da raiz; e (3) o diâmetro bucolingual a meio da raiz foram novamente registadas.

Optou-se pela não consolidação dos dentes – de forma a maximizar a sua conservação – visto que os mesmos seriam incluídos em resina histológica no passo seguinte.

## 2.7 Técnica de Preparação Histológica

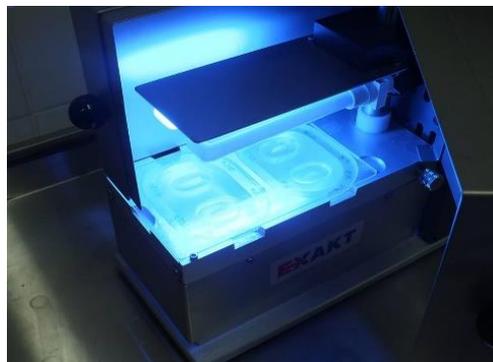
Após realizadas as observações macroscópicas pós-queima, procedeu-se à preparação dos dentes para corte histológico – procedimento essencial para a estimativa de idade-à-morte cimentocronológica, que foi executado no Laboratório

de Tecidos Duros da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra. Os dentes em estudo foram incluídos em resina metilmetracrilato (Technovit 7200 VLC – Kulzer) por um período de sete horas, 12 dentes de cada vez. Inicialmente o procedimento foi aplicado aos dentes queimados a 400°C e posteriormente aos queimados a 900°C.

Para inclusão, os dentes foram todos colocados em moldes pequenos (20x25x7mm) e orientados com o lado mesial para cima. Os dentes a serem incluídos foram completamente imersos em resina. A polimerização, cujo objetivo foi o endurecimento dos materiais, teve ação na unidade de fotopolimerização (Exakt® 520 Light Polymerization Unit) com dois ciclos de luz (amarela e azul), onde após se regular a posição das luzes, foi colocada água de modo a preencher o fundo da unidade atuando como meio de refrigeração e onde se pousaram os moldes de inclusão. Teve-se sempre o cuidado de não permitir que a água compromettesse a integridade do dente. A polimerização iniciou-se então com o ciclo amarelo, quando este ficou completo, mudou para o ciclo azul e ao fim das sete horas, a unidade encerrou automaticamente.



**Figura 2.3.** Dois dentes queimados a 900°C durante o processo de inclusão na resina.



**Figura 2.4.** Unidade de polimerização do sistema Exakt durante o ciclo azul, durante processo de polimerizar quatro dentes.

Os cortes histológicos foram realizados na unidade de corte por ponto de contacto (Exakt® Band System 300 CL/CP), que permite executar cortes em material tratado histologicamente com um sistema de refrigeração constante (água/óleo, 50:1) através de um sistema de serra diamantada (0,1 D64 BS 300,

Exakt). Foram executados dois cortes transversais por dente, na zona do terço médio da raiz, com uma espessura de dois milímetros cada. Os cortes foram realizados de forma paralela, direção mesio-distal, posicionando-se o dente na garra da unidade de corte.



**Figura 2.6.** Unidade de corte do sistema Exakt onde foram realizados os cortes histológicos.



**Figura 2.5.** Dente queimado a 400°C na garra de suporte durante o processo de corte.

Colocaram-se os respetivos cortes, individualmente, em lâminas histológicas (Exakt 50X75X1, 5mm), devidamente identificadas e com os lados mesial e bucal assinalados. De seguida aplicou-se a cola e polimerizaram-se os mesmos na unidade de polimerização de cola (Exakt® TYP/nº 42/344). Para limpeza dos slides foi utilizado benzina.

Posteriormente foi realizado o processo de polimento, almejando para uma espessura de 70 µm, na unidade de polimento (Micro Grinding System Exakt® 400 CS) com um conjunto de lixas com granulometria decrescente (1000, 1200, 2500 e 4000), num sistema de prato giratório monitorizado por computador, com velocidade e espessura controladas.

Neste passo, criaram-se os seguintes parâmetros a medir: espessura do corte do dente, a espessura da lâmina histológica e bloco (corte + cola + lâmina), um passo essencial para alcançar a espessura pretendida nos slides. A diferença entre a soma da espessura da lâmina com a espessura do corte da amostra e a espessura do bloco deu a espessura da cola e a partir daí obteve-se a espessura final pretendida: a espessura do slide adicionada à espessura da cola correspondeu aproximadamente a 70 µm.

Dos dois cortes realizados para cada dente foi preparado um slide, visto a amostra em questão poder ficar danificada durante certas etapas do processo de

preparação (polimento, medições). Como forma de precaver as perdas irreversíveis de material, manteve-se um corte de reserva.

## 2.8 Análise Microscópica

As observações das preparações histológicas foram executadas, também no Laboratório de Tecidos Duros da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Coimbra, através de um microscópio ótico (Nikon Eclipse E600) com ampliação de 20x, 40x, 100x, 200x e 400x, de acordo com Stott e colaboradores (1982), Wittwer-Backofen e colegas (2004), Wittwer-Backofen (2012), Gocha e Schutkowski (2013) e Naji e colaboradores (2014). Foi implementada a estratégia de análise da área do cimento dentário em micrografias visto ser assim recomendado por Naji e colaboradores (2014) como metodologia ideal para facilitar a análise e diminuir o erro.

Acoplado ao microscópio encontrava-se uma câmara (Nikon DXM 1200C) com o *software* Nikon ACT (for DXM 1200C) que foi utilizada para captar as referidas micrografias. Foi selecionada a melhor área para visualização.

Concomitante à sua observação foi atribuída uma escala à qualidade de visualização de cada corte. A referida escala correspondeu a: 0 – sem cimento presente; 1 – cimento presente, mas linhas de incremento não visíveis ou, se visíveis, a sua contagem não é possível; e 2 – cimento presente e a contagem das linhas de incremento é possível.

O tratamento das imagens e a respetiva contagem das linhas de incremento foram elaborados com o auxílio do *software* Imaje J (1.48v) para Windows.

## 2.9 Erro Intra- e Inter-observador

Um passo avaliado durante o estudo foi o do erro intra- e inter-observador. Visto a contagem de linhas de incremento no cimento dentário conter uma vertente interpretativa (Grue e Jensen, 1979, Stott *et al.*, 1982, Charles *et al.*, 1986) a estimativa do erro é fundamental para assegurar a replicabilidade da técnica (Buiskstra e Ubelaker, 1994; Cardoso, 2000).

Neste estudo, o erro intra-observador foi avaliado, através da recontagem de linhas de incremento em 20 slides, um mês após a primeira observação. A quantidade de erro associada à contagem foi calculada através da fórmula do erro técnico de medição (Perini *et al.*, 2005).

O erro inter-observador foi avaliado com o auxílio de dois investigadores, após lhes ter sido fornecido um tutorial sobre a técnica. Também aqui, os erros entre resultados obtidos, foram calculados com a fórmula do erro técnico de medição (Perini *et al.*, 2005).

## 2.10 Estimativa de Idade

### 2.10.1 Contagem de Linhas de Incremento

Para enumeração das linhas de incremento com vista à estimativa da idade, foram realizadas contagens em quatro zonas distintas de cada dente (sempre que possível) – mesial, distal, bucal e lingual. Em cada zona selecionou-se a área com melhor visibilidade das linhas da fronteira entre a dentina e o cimento, da primeira linha de incremento e de uma continuidade nas linhas de incremento, conforme descrito por Kagerer e Grupe (2001) e Wittwer-Backofen (2012). Optou-se por contabilizar as linhas escuras, executando três contagens por cada análise e selecionando o valor mediano tal como sugeriram Kagerer e Grupe (2001) e Wittwer-Backofen (2012).

A estimativa de idade através de contagem de anéis de incremento dentário foi obtida através do número de pares de bandas escuro/claro somado à idade de erupção do dente específica (Tabela 2.1) para cada sexo seguindo o procedimento usualmente adotado na literatura (Naylor *et al.*, 1985; Kagerer e Grupe, 2001; Wittwer-Backofen, 2012; Gauthier e Schutkowski, 2013; Naji *et al.*, 2014), resultando na seguinte equação:

$$le = n + ler,$$

onde *le* representa a idade estimada, *n* o número de linhas de incremento e *ler* a idade de erupção do dente. A idade de erupção específica para cada sexo foi atribuída de acordo com os valores estipulados no estudo de Haavikko (1970).

**Tabela 2.1.** Idades de erupção alveolar (alv) para Incisivos centrais, laterais (I1, I2) e caninos (C) (Adaptado de Haavikko, 1970). D – diferença média.

Dente	Erup.	Rapazes				Raparigas			
		Maxilar		Mandibular		Maxilar		Mandibular	
		Mediana	D	Mediana	D	Mediana	D	Mediana	D
I1	alv	6.2	2.2	5.9	1.9	6.1	0.9	5.8	1.1
I2	alv	7.3	3.3	6.9	2.0	7.0	2.3	6.5	1.4
C	alv	11.2	3.1	9.8	2.8	9.3	3.2	8.8	1.6

### 2.10.2 Extrapolação do Número de linhas de Incremento

Uma segunda abordagem foi pensada para calcular o possível número de linhas de incremento existentes numa banda de cimento, através da medição de duas linhas com aparente boa definição, para assim estimar a idade, com alguma semelhança do que havia sido tentado em dentes não queimados por Gupta e colaboradores (2014).

Nas micrografias captadas com uma ampliação de 400x, com o *software* Imaje J (1.48v) para Windows, foi medida a espessura total da camada de cimento apresentada numa área com boa visibilidade, desde a fronteira dentina/cimento até à fronteira externa do cimento.

De seguida, na mesma imagem, foi seleccionada uma área onde as linhas de incremento estavam melhor definidas e delimitadas. Foi medida a espessura de duas linhas (dois pares banda escura/banda clara) de cimento dentário. Mais uma vez, todas as medições foram realizadas três vezes e o valor mediano foi seleccionado.

Com esse valor realizou-se o seguinte cálculo:  $(2 \times C)/L$ , onde  $C$  corresponde à espessura total do cimento e  $L$  diz respeito à espessura das duas linhas de cimento medidas. O número de linhas obtido foi então somado à idade de erupção específica para o sexo proposta por Haavikko (1970) e obteve-se uma idade estimada.

### 2.10.3 Dentina e Cimento em Função da Idade

Uma outra abordagem para a estimativa da idade foi explorada neste trabalho, analisando o potencial relação das proporções de dentina e cimento (em relação à espessura total do cimento mais a dentina, e entre si) com essa variável. Nas micrografias tiradas com uma ampliação de 20x foram executadas, com o auxílio do *software* Imaje J (1.48v) para Windows, medições na zona mesial de cada corte. Efectuaram-se as seguintes medições: (1) a espessura total da dentina mais o cimento, desde o canal radicular até à fronteira externa do cimento, (2) a espessura total da dentina, desde o canal radicular até à fronteira dentina/cimento e (3) a espessura total do cimento, desde a fronteira dentina/cimento até à fronteira externa do cimento.

Nestas imagens foi selecionado um local com melhor visualização das áreas pretendidas, foram realizadas três medições e por fim selecionada a mediana. Calculou-se a percentagem de Dentina e de Cimento (%) através da seguinte fórmula:

$$\%=(x*100)/Total,$$

onde  $x$  corresponde à espessura do cimento ou dentina (em mm e depois convertida a  $\mu\text{m}$ ) e o *Total* corresponde à medida de espessura da camada de dentina mais cimento.

Utilizando os mesmos valores de medida, foi calculada a percentagem entre a dentina e o cimento:

$$(D/C)*100,$$

onde  $D$  corresponde à espessura de dentina (em mm e depois convertida a  $\mu\text{m}$ ) e  $C$  à espessura de cimento (em mm e depois convertida a  $\mu\text{m}$ ).

## 2.11 Análise Estatística

Toda a análise estatística foi efetuada no *software* Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 20.0 para Windows.

Os indicadores estatísticos apresentados para caracterizar as amostras em estudo foram a média, desvio padrão, mediana, e a amplitude. A seleção dos testes estatísticos teve sempre em conta as suposições associadas a cada um

deles. Para cada uma das abordagens, calculou-se também o erro médio da estimativa em relação à idade real.

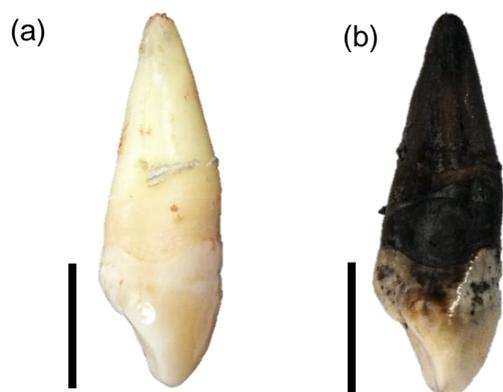
O teste paramétrico Coeficiente de Correlação de Pearson foi utilizado para aferir relações entre a idade estimada a partir da contagem de linhas de incremento e a idade cronológica, assim como a idade obtida a partir do número de linhas extrapoladas e a idade cronológica.

O teste não paramétrico Coeficiente de Correlação de Spearman Rho foi utilizado para verificar relações em ambos os sexos e na amostra com os sexos combinados entre a percentagem de cimento existente e a idade cronológica; a percentagem de dentina existente e a idade cronológica; a percentagem dentina/cimento e a idade cronológica; a idade obtida a partir do número de linhas extrapoladas e a idade cronológica em ambos os sexos; e a idade cronológica e a idade estimada em ambos os sexos.

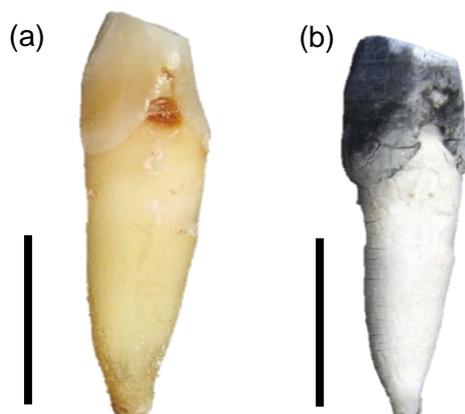
## 3 Resultados

### 3.1 Alterações Morfológicas

Os dentes submetidos ao tratamento térmico controlado sofreram um conjunto de modificações morfológicas observáveis macroscopicamente. A nível de coloração, os dentes queimados a 400°C apresentaram, ao nível da coroa uma cor semelhante à sua coloração natural. Já a raiz apresentava uma coloração do castanho-escuro a preto em toda a sua extensão (Figura 3.1. b). Quanto aos dentes queimados a 900°C, apresentaram uma coloração marcadamente distinta. Estes exibiram, a nível da coroa, tonalidades do cinzento-escuro ao cinzento-claro no esmalte. A zona da raiz apresentava-se, na sua totalidade, com uma cor branca (Figura 3.2. b).



**Figura 3.1.** Canino superior direito (13), pertencente a um individuo masculino de 43 anos, antes (a) e depois (b) de ser queimado a 400°C. Norma distal, escala 1 cm.

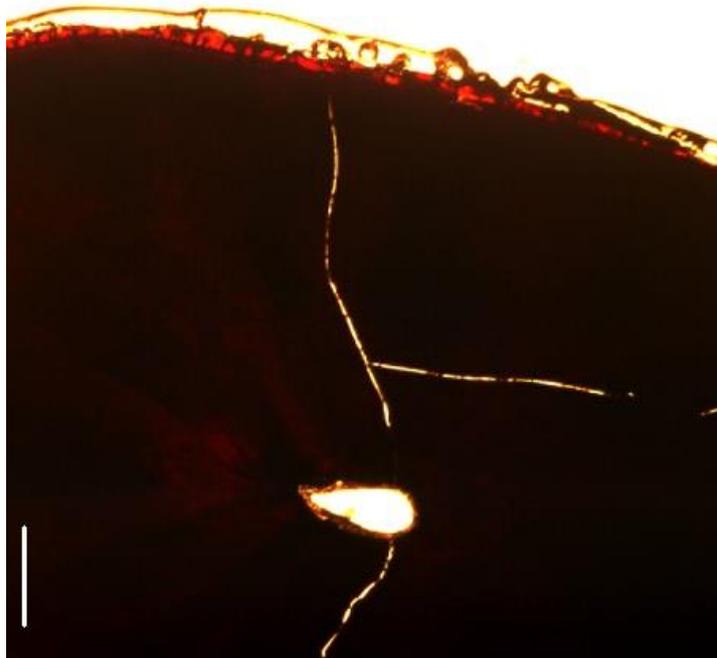


**Figura 3.2.** Canino inferior esquerdo (33), pertencente a um individuo masculino de 65 anos, antes (a) e depois (b) da queima a 900°C. Norma distal, escala 1 cm.

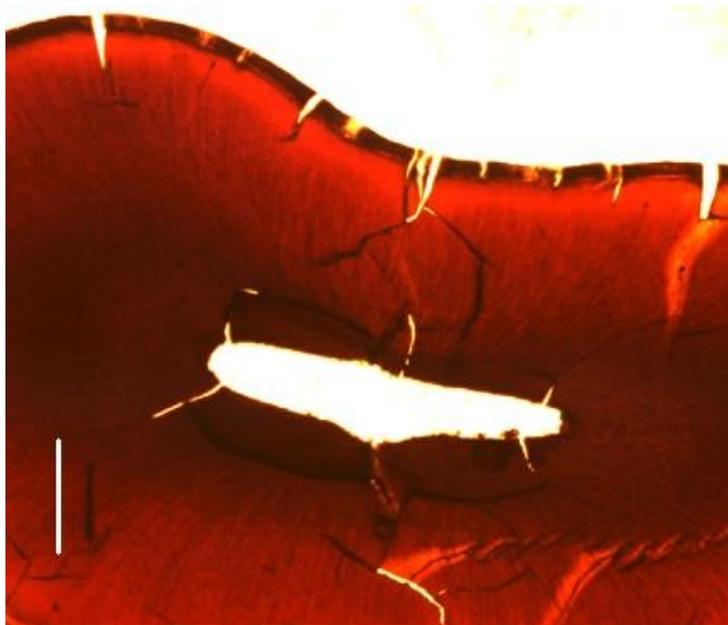
Relativamente ao estado de preservação das peças dentárias no grupo submetido aos 400°C, estas continham algumas fissuras ao longo da raiz, contudo nenhuma se encontrava fragmentada. Na zona da coroa, foi possível observar algumas fraturas do esmalte que nalguns casos resultou, com o manuseamento, em fragmentação da mesma deixando à vista a dentina coronal.

Quanto ao visualizado no conjunto submetido à temperatura de 900°C, estavam presentes fraturas tanto na área da raiz como na coroa e era visível separação/descolamento entre coroa e raiz na zona da junção cimento-esmalte. Embora a integridade da maioria dos dentes se tenha mantido até a abertura do forno, o manuseamento dessas mesmas peças resultou na sua fragmentação ao nível da coroa e na zona da junção cimento-esmalte. De realçar que em todos os casos, a área da raiz manteve-se intacta.

A 400°C estavam presentes micro-fraturas na dentina (Figura 3.3) que se iniciavam no canal radicular assim como fraturas em zonas da camada envolvente de cimento. Essa presença de fraturas é visualizada ainda com maior incidência nos dentes queimados a 900°C (Figura 3.4), onde a extensão das fissuras na dentina é maior e a camada de cimento apresenta um aspeto mais fragmentado, muitas vezes separado em partes da dentina na fronteira dentina-cimento.



**Figura 3.3.** Corte histológico de um canino inferior (33) pertencente a um indivíduo do sexo feminino de 61 anos queimado a 400°C. É possível observar o aspeto muito opaco da dentina e as fraturas que a atravessam. (Ampliação 20x, escala 500µm).



**Figura 3.4.** Corte histológico de um incisivo inferior (31) pertencente a um indivíduo do sexo feminino de 48 anos queimado a 900°C. É possível observar o aspeto muito mais claro da dentina, as fraturas que a atravessam e as fraturas na zona do cimento. (Ampliação 20x, escala 500µm).

### 3.2 Alterações no Peso e Dimensão

Uma das diferenças verificadas em material esquelético queimado é o peso. Assim, nesta investigação avaliou-se a diferença entre o peso antes e depois do tratamento térmico (Apêndice III, Tabela 7.2). No grupo dos 400°C verificou-se uma diferença média de 20,77 % (desvio padrão igual a 5,96%). Já nos 30 dentes queimados a 900°C foi apurada uma diferença média de 33,69% (desvio padrão igual a 12,43%).

Com a intenção de verificar as modificações dimensionais nas raízes dos dentes, provocadas pelas altas temperaturas, foram realizadas medições na raiz (Apêndice III, Tabela 7.3, 7.4 e 7.5), antes e depois da queima. A alteração média para cada dimensão está apresentada na Tabela 3.1.

Através dos resultados observados não é possível falar apenas de um encolhimento da raiz, visto que ocorre uma grande variabilidade dos valores. Como podemos verificar pelas dimensões obtidas após o processo de queima (Apêndice III, Tabelas 7.3, 7.4 e 7.5) remetem para casos onde ocorreu um aumento do tamanho, enquanto noutros houve uma diminuição deste.

**Tabela 3.1.** Alterações dimensionais na raiz. Foram realizadas medições da altura máxima da raiz, do diâmetro mesiodistal (MD) a meio da raiz e do diâmetro bucolingual (BL) a meio da raiz. Foi calculada a percentagem média (%) e respetivo desvio padrão ( $\sigma$ ) da diferença relativa entre as medições, antes e depois da queima a 400°C e 900°.

	400°C		900°C	
	%	$\sigma$ (%)	%	$\sigma$ (%)
<b>Altura</b>	- 3,40	8,26	- 14,90	9,68
<b>Diâmetro MD</b>	- 4,01	10,30	- 7,71	7,71
<b>Diâmetro BL</b>	- 2,59	5,65	- 13,55	10,42

### 3.3 Erro Intra- e Inter-observador

#### 3.3.1 Contagem de Linhas de Incremento

Para o erro intra-observador, calculou-se o erro técnico de medição (ETM) através da análise de 20 micrografias de 20 slides em dois momentos diferentes, com um intervalo de um mês. Obteve-se um ETM absoluto de 1,7, um ETM relativo de 3,2% e um Coeficiente de Fiabilidade igual a 0,95.

Para o erro inter-observador utilizaram-se as mesmas 20 micrografias, que foram analisadas pelo investigador B e C. No caso do investigador B o ETM absoluto foi igual a 2,9, um ETM relativo de 5,7% e um Coeficiente de Fiabilidade igual a 0,84. Com o investigador C, o ETM absoluto foi de 3,2, o ETM relativo igual a 6,3% e o coeficiente de fiabilidade igual a 0,80.

Tendo em conta ETM relativo estar nos 3% e o coeficiente de fiabilidade estar próximo de 1, para o erro intra-observador, é possível afirmar que a técnica é replicável. Já nas avaliações inter-observador, o ETM relativo aumenta para perto dos 6%, no entanto o coeficiente de fiabilidade mantém-se acima de 0,8, o que demonstra alguma dificuldade na aplicabilidade da técnica, embora ainda aceitável.

### 3.3.2 Medições das Linhas de Incremento e da Espessura do Cimento

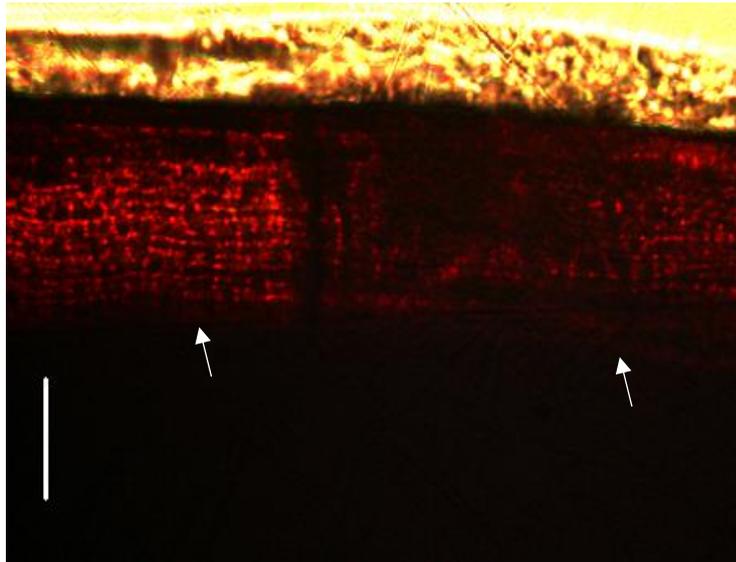
Para o erro intra-observador e inter-observador calculou-se o erro técnico de medição (ETM) através da análise de 5 micrografias em dois momentos diferentes, com um intervalo de dois meses e o auxílio do investigador A.

Na avaliação intra-observador, obteve-se para a medição das linhas, um ETM absoluto de 0,04 mm, um ETM relativo de 4% e um Coeficiente de Fiabilidade igual a 0,9. Na medição da espessura do cimento obteve-se um ETM absoluto de 0,001 mm, um ETM relativo de 5,8 e um Coeficiente de Fiabilidade igual a 0,9.

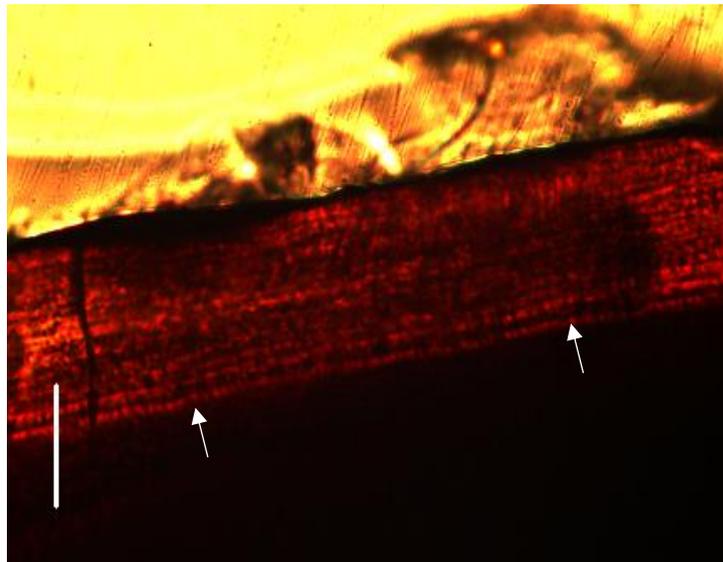
Para o erro inter-observador utilizaram-se as mesmas micrografias previamente selecionadas, que foram analisadas pelo investigador A. Aqui, para as medições das linhas, o ETM absoluto foi igual a 0,05 mm, um ETM relativo de 5,6% e um Coeficiente de Fiabilidade igual a 0,8. Para a espessura do cimento, o ETM absoluto foi de 0,002 mm, o ETM relativo igual a 8,7% e o coeficiente de fiabilidade igual a 0,9.

## 3.4 Estimativa de Idade Através da Contagem de Linhas de Incremento

O conjunto de dentes submetido a tratamento térmico de 400°C foi composto por 30 dentes de 24 indivíduos, 14 do sexo feminino e 20 do sexo masculino. Nos dentes queimados a 400°C teve-se 93,3% dos cortes com boa visualização da estrutura do cimento e das linhas de incremento (Figuras 3.5 e 3.6), 6,7% dos cortes têm visualização da área do cimento mas não foi possível distinguir as linhas de incremento enquanto em 3,3% não permitiam qualquer tipo de análise cimentocronológica. Assim, a contagem das linhas de incremento dentário foi possível em 27 dos 30 slides analisados.



**Figura 3.5.** Micrografia de corte num incisivo central (41) queimado a 400°C, pertencente a um indivíduo feminino de 41 anos. Idade média estimada 39,8 anos. As setas brancas indicam o início da camada de cimento (Ampliação 200x, escala 50µm).



**Figura 3.6.** Micrografia de corte num incisivo lateral (42) queimado a 400°C, pertencente a um indivíduo feminino de 41 anos. Idade média estimada 29,5 anos. As setas brancas indicam o início da camada de cimento (Ampliação 200x, escala 50µm).

Nas imagens obtidas durante a observação microscópica dos cortes histológicos dos dentes queimados a 400°C (Figura 3.5 e Figura 3.6) procedeu-se

à contagem das linhas de incremento no cimento dentário (Apêndice III, Tabela 7.6) e à estimativa de idade a partir das mesmas (Tabela 3.2.).

**Tabela 3.2.** Estimativa de idade através da contagem de linhas de incremento em dentes queimados a 400°C. ID – código de identificação do dente, IC – Idade cronológica, NL – número de linhas, Ier – Idade de erupção, IE – Idade estimada, Min – mínimo, Max – máximo, (idade em anos).

ID	Dente	IC (anos)	NL	Ier (anos)	IE	
					Min (anos)	Max (anos)
AA9a	32	48	25	6,5 ±1,4	30,1	32,9
AE10b	12	56	31	7,3 ±3,3	35,0	41,6
AE13a	13	43	33	9,3 ±3,2	35,2	37,0
AE13b	12	43	18	7,3 ±3,3	22,0	28,6
AE13d	21	43	14	6,2 ±2,2	20,1	26,5
B1a	31	53	32	5,8 ±1,1	36,7	38,9
D15	23	22	34	9,3 ±3,2	40,1	46,5
E12	23	53	30	9,3 ±3,2	36,1	42,5
E21	12	57	14	7,3 ±3,3	18,0	24,6
F8	22	57	25	7,3 ±3,3	29,0	35,6
H20b	32	59	28	6,5 ±1,4	33,1	35,9
H27	12	60	19	7,0 ±2,3	23,7	28,3
H40	23	62	31	9,3 ±3,2	37,1	43,5
J19	43	49	32	8,8 ±1,6	39,2	42,4
J5	42	49	12	6,5 ±1,4	17,1	19,9
M6a	11	77	-	6,1 ±0,9	-	-
M6b	21	77	18	6,1 ±0,9	23,2	25,0
M7	31	61	17	5,9 ±1,9	21,0	24,8
MD133	41	48	15	6,9 ±2,0	19,9	23,9
MD136b	42	61	18	5,9 ±1,9	22,0	25,8
N40a	41	40	34	5,8 ±1,1	38,7	40,9
N40b	42	40	23	6,5 ±1,4	28,1	30,9
N5	23	47	18	9,3 ±3,2	24,1	30,5
N9a	31	33	16	5,9 ±1,9	20,0	23,8
N9b	32	33	32	6,9 ±2,0	36,9	40,9
N9c	33	33	-	9,8 ±2,8	-	-
P2a	21	66	32	6,2 ±2,2	36,0	40,4
V7	11	73	45	6,2 ±2,2	49,0	53,4
X10a	33	61	27	8,8 ±1,6	34,2	37,4
X4	21	69	-	6,1 ±0,9	-	-

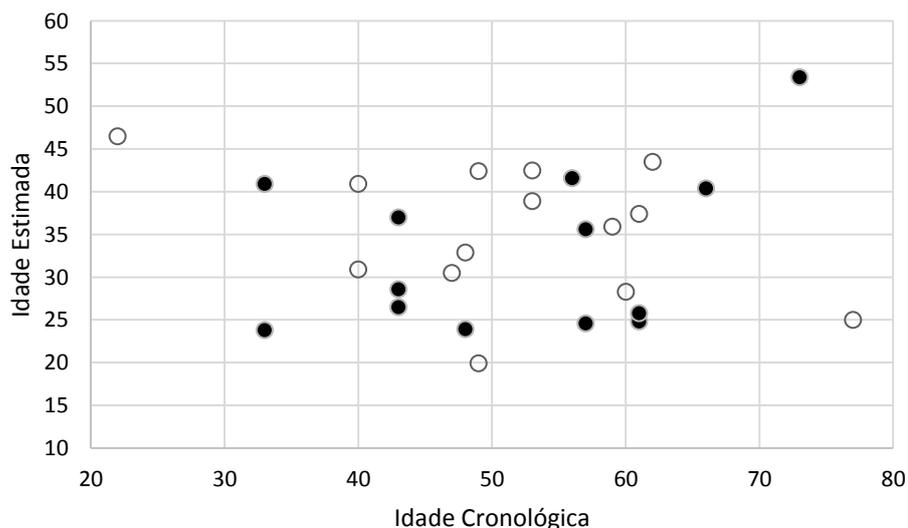
Como resultado desta análise obtiveram-se, para o grupo queimado a 400°C, os valores médios de estimativa de idade apresentados na Tabela 3.3, abaixo apresentada. Ocorreu uma subestimação da idade para a maioria dos indivíduos, resultando numa idade média estimada muito inferior à média de idade

cronológica. Demarcou-se um caso (ID - D15), onde a idade estimada foi bastante superior à conhecida. Já nas idades maiores observou-se uma disparidade ainda mais elevada entre os valores obtidos e os da idade conhecida.

**Tabela 3.3.** Resultados estimados para a idade na amostra dos 400°C comparativamente com a idade cronológica conhecida.  $\bar{x}$  - média,  $\sigma$  - desvio padrão,  $\tilde{x}$  - mediana, A - amplitude, Min - idade mínima, Max - idade máxima (idade em anos).

	400°C					
	$\bar{x}$	$\sigma$	$\tilde{x}$	A	Min	Max
<b>Idade Cronológica</b>	52,4	13,5	53,0	55,0	22,0	77,0
<b>Idade Estimada</b>	34,2	8,5	35,6	33,5	19,9	53,4

A distribuição gráfica da idade estimada relativamente à idade cronológica pode ser observada na Figura 3.7. O coeficiente de correlação de *Pearson* resultou num  $r(25)=0,009$  com um  $p=0,963$ . Este resultado demonstra assim inexistência de uma relação estatisticamente significativa entre a idade cronológica e a idade estimada nos dentes queimados a 400°C da amostra em estudo.



**Figura 3.7.** Gráfico de dispersão para a idade estimada através da contagem de linhas de incremento em dentes queimados a 400°C, relativamente à idade cronológica. Os círculos brancos

correspondem aos dentes identificados com o sexo feminino, os círculos pretos aos identificados com o sexo masculino.

Realizou-se também uma análise por sexo. Neste grupo, dos 16 dentes identificados com o sexo feminino foi possível realizar a análise cimentocronológica em 14. Dos 14 assinalados como do sexo masculino, foi possível avaliar o número de linhas de incremento em 13. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 3.4, ilustrando que as diferenças entre a idade estimada e a idade não variam notoriamente entre os sexos e a subestimação está presente nos dois grupos.

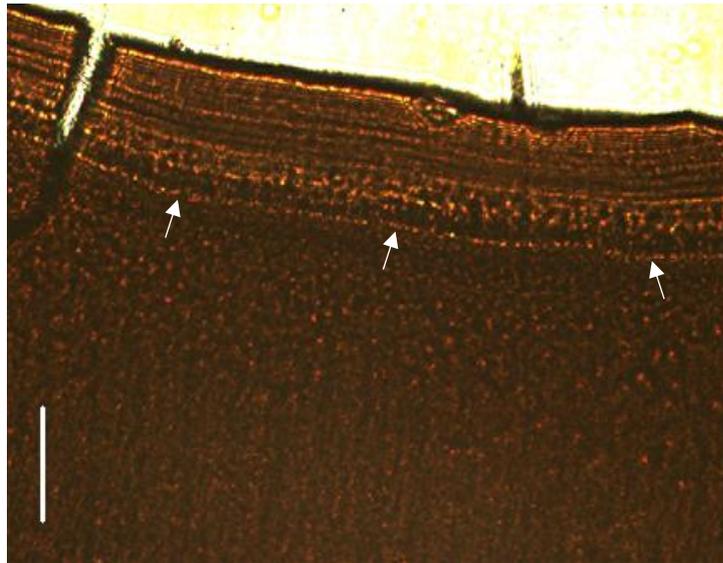
**Tabela 3.4.** Resultados estimados para a idade na amostra dos 400°C, em função do sexo feminino (F) e o sexo masculino (M), comparativamente às idades cronológicas.  $\bar{x}$  - média,  $\sigma$  - desvio padrão,  $\tilde{x}$  - mediana, A - amplitude, Min - idade mínima, Max - idade máxima (idade em anos).

		400°C					
		$\bar{x}$	$\sigma$	$\tilde{x}$	A	Min	Max
Idade Cronológica	F	54,1	14,2	53,0	55,0	22,0	77,0
	M	50,5	12,9	52,0	40,0	33,0	73,0
Idade Estimada	F	35,4	7,8	36,7	26,6	19,9	46,5
	M	32,8	9,3	28,6	29,6	23,8	53,4

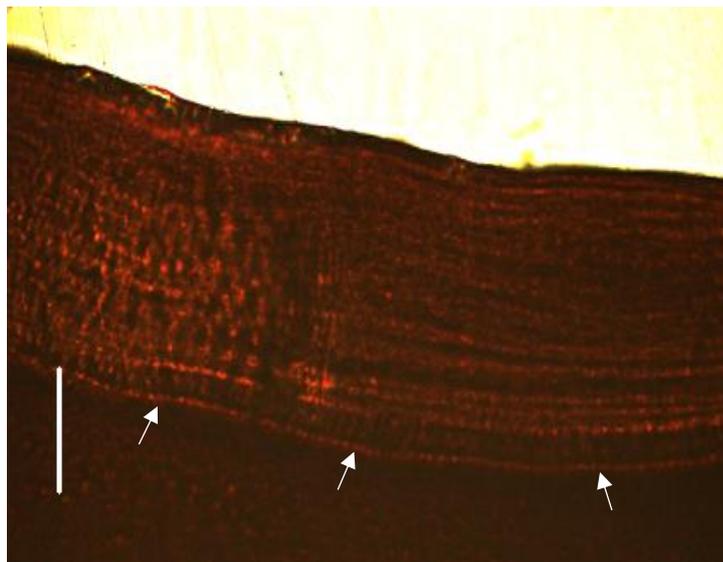
O coeficiente de correlação de *Spearman Rho* para o grupo do sexo feminino, queimado a 400°C, resultou num  $r=-0,165$  com um  $p=0,572$ . Isto demonstra uma ausência de correlação estatisticamente significativa entre a idade cronológica e a idade estimada em dentes queimados a 400°C, no sexo feminino. Para o grupo do sexo masculino, o coeficiente de correlação de *Spearman Rho* apresentou um  $r=0,233$  com um  $p=0,444$ . Este resultado indica também uma ausência de relação estatisticamente significativa entre a idade cronológica conhecida e a idade estimada em dentes queimados a 400°C, no sexo masculino.

O restante conjunto de dentes presente na amostra foi exposto a uma temperatura de 900°C, como já previamente mencionado. Através da análise das

micrografias foi realizada a contagem (Anexo III, Tabela 7.7), que resultou nas respectivas estimativas expostas na Tabela 3.5. Aqui, 90% da amostra demonstrou boa visualização da estrutura do cimento e linhas de incremento visíveis (Figuras 3.8 e 3.9) e 10% tinha a zona do cimento distinta no entanto não se distinguiram as linhas.



**Figura 3.8.** Micrografia de um canino (33) queimado a 900°C, pertencente a um indivíduo feminino de 37 anos. Idade média estimada 31,8 anos. As setas brancas indicam o início da camada de cimento (Ampliação 200x, escala 50µm).



**Figura 3.9.** Micrografia de um incisivo lateral (32) queimado a 900°C, pertencente a um indivíduo feminino de 73 anos. Idade média estimada 39,5 anos. As setas brancas indicam o início da camada de cimento (Ampliação 200x, escala 50µm).

**Tabela 3.5.** Resultado da estimativa de idade realizada a partir da contagem de linhas de incremento em dentes queimados a 900°C. ID – código de identificação do dente, IC – Idade cronológica, NL – número de linhas, Ier – Idade de erupção, IE – Idade estimada, Min – mínimo, Max – máximo.

ID	Dente	IC (anos)	NL	IEr (anos)	IE	
					Min (anos)	Max (anos)
AC18b	22	61	29	7,0±2,3	33,7	38,3
AC25c	42	77	19	6,5±1,4	24,1	26,9
AE23	21	76	36	6,1±0,9	41,2	43,0
AG11	22	39	24	7,3±3,3	28,0	34,6
B24c	33	52	37	8,8±1,6	44,2	47,4
E19	33	73	39	8,8±1,6	46,2	49,4
E20a	41	48	31	5,8±1,1	35,7	37,9
F4a	43	78	45	9,8±2,8	52,0	57,6
H29a	21	61	39	6,2±2,2	43,0	47,4
H41	11	55	21	6,2±2,2	25,0	29,4
H46b	43	61	42	9,8±2,8	49,0	54,6
MD117a	12	57	37	7,3±3,3	41,0	47,6
MD117b	13	57	24	11,2±3,1	32,1	38,3
MD145	12	65	33	7,3±3,3	37,0	43,6
MD35b	32	62	55	6,9±2,0	59,9	63,9
MD69	11	82	21	6,1±0,9	26,2	28,0
MD90	13	61	49	11,2±3,1	57,1	63,3
N15	23	43	-	11,2±3,1	-	-
N16a	31	88	38	5,8±1,1	42,7	44,9
N18a	33	37	23	8,8±1,6	30,2	33,4
N33b	42	88	53	6,5±1,4	58,1	60,9
N7	12	54	-	7,0±2,3	-	-
O1b	23	64	23	9,3±3,2	29,1	35,5
P22	32	73	33	6,5±1,4	38,1	40,9
P2b	12	66	25	7,3±2,2	30,1	34,5
P6	41	75	21	5,8±1,1	25,7	27,9
P9	21	67	26	6,1±0,9	31,2	33,0
T10b	31	62	31	5,9±1,9	35,0	38,8
X8c	42	78	43	6,9±2,0	47,9	51,9
X9	42	48	28	6,5±1,4	33,1	35,9

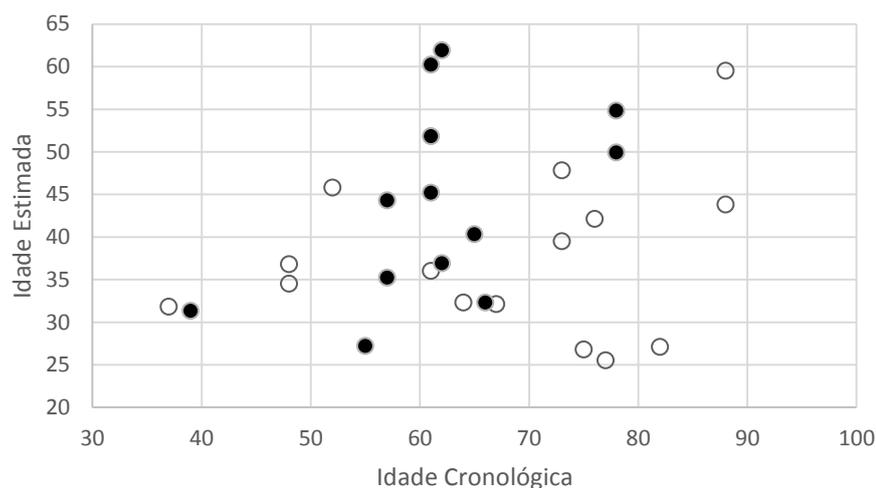
Desse grupo, os 30 dentes eram pertencentes a 29 indivíduos, dos quais 16 eram do sexo feminino e 13 do sexo masculino. Devido ao estado de visualização de cada slide, dos 30 slides observados foi possível realizar a análise cimentocronológica em 28. Com a estimativa de idade a partir das linhas de

incremento em dentes queimados a 900°C obteve-se então os resultados apresentados na Tabela 3.6, onde se revela novamente uma grande subestimação da idade através das linhas de incremento.

**Tabela 3.6.** Resultados estimados para a idade na amostra dos 400°C comparativamente com a idade cronológica conhecida.  $\bar{x}$  - média,  $\sigma$  - desvio padrão,  $\tilde{x}$  - mediana, A - amplitude, Min - idade mínima, Max - idade máxima (idade em anos).

	900°C					
	$\bar{x}$	$\sigma$	$\tilde{x}$	A	Min	Max
<b>Idade Cronológica</b>	63,6	13,5	62,0	51	37	88
<b>Idade Estimada</b>	40,5	10,6	38,2	36,4	25,5	61,9

Testou-se o coeficiente de correlação de *Pearson* para esta sub-amostra que resultou num  $r(26)=0,232$  com um  $p=0,234$ . Estes valores revelam a ausência de relação estatisticamente significativa entre a idade cronológica e a idade estimada através da contagem de linhas de incremento em dentes queimados a 900°C. A distribuição gráfica da idade cronológica relativamente à idade estimada pode ser observada na Figura 3.10.



**Figura 3.10.** Gráfico de dispersão para a idade estimada relativamente à idade cronológica em dentes queimados a 900°C. Os círculos brancos referem-se aos elementos assinalados com o sexo feminino, os círculos pretos aos elementos assinalados com o sexo masculino.

Também nesta subamostra se fez a análise de acordo com o sexo. No grupo feminino, dos 16 elementos foi possível realizar a análise cimentocronológica em 15. Dos restantes 14 do sexo masculino, foi possível observar linhas de incremento em 13. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 3.7, demonstrando uma diferença maior entre as idades estimadas e a idade conhecida no sexo feminino e uma diferença menor para o sexo masculino.

**Tabela 3.7.** Resultados para a amostra dos 900°C, avaliando as idades estimadas nos grupos do sexo feminino (F) e do sexo masculino (M), comparativamente às suas idades cronológicas.  $\bar{x}$  - média,  $\sigma$  - desvio padrão,  $\tilde{x}$  - mediana, A - amplitude, Min - idade mínima, Max - idade máxima (tudo em anos).

		900°C					
		$\bar{x}$	$\sigma$	$\tilde{x}$	A	Min	Max
<b>Idade Cronológica</b>	<b>F</b>	66,4	15,2	70,0	51,0	37,0	88,0
	<b>M</b>	60,4	10,7	61,0	39,0	39,0	78,0
<b>Idade Estimada</b>	<b>F</b>	37,4	9,2	36,0	34,0	25,5	59,5
	<b>M</b>	43,9	11,2	44,3	34,7	27,2	61,9

Para o grupo de dentes do sexo feminino queimado a 900°C, o coeficiente de correlação de Spearman Rho resultou num  $r=0,124$  com um  $p=0,661$ . Estes valores que revelam não existir uma relação estatisticamente significativa entre a idade cronológica e a idade estimada neste grupo. Para o grupo do sexo masculino, obteve-se  $r=0,452$  com um  $p=0,121$ . Também este grupo não apresenta uma relação estatisticamente significativa entre a idade conhecida e a idade estimada através da contagem de linhas de incremento.

### 3.5 Estimativa de Idade Através da Extrapolação do Número de Linhas de Incremento

Com outra abordagem baseada nas linhas de incremento presentes no cimento dentário foi realizada uma medição da espessura de uma das linhas (incluindo ambas as bandas clara e escura) e a partir daí calculou-se quantas caberiam na espessura total do cimento (Apêndice III, Tabela 7.8). Foi possível

realizar esta análise em 18 slides dos dentes queimados a 400°C, que resultaram nas estimativas apresentadas na Tabela 3.8. Os casos onde se verificava um tamanho anormal da espessura total do cimento foram excluídos.

**Tabela 3.8.** Estimativa da idade através do número de linhas de incremento extrapoladas em dentes queimados a 400°C. IC – idade cronológica; L – espessura de duas linhas de incremento (mm), C – espessura total do cimento (mm); Nle – número de linhas de incremento; Ier – idade de erupção; IE – idade estimada, (idade em anos).

	Dente	IC (anos)	Medições				IE	
			L (mm)	C (mm)	Nle	Ier (anos)	Min (anos)	Max (anos)
<b>AA9a</b>	32	48	0,0034	0,0719	42,3	6,5 ±1,4	47,4	50,2
<b>AE10b</b>	12	56	0,003	0,1081	72,1	7,3 ±3,3	76,1	82,7
<b>AE13a</b>	13	43	0,0048	0,084	35,0	9,3 ±3,2	41,1	47,5
<b>AE13b</b>	12	43	0,0028	0,0448	32,0	7,3 ±3,3	36,0	42,6
<b>B1a</b>	31	53	0,0026	0,0432	33,2	5,8 ±1,1	37,9	40,1
<b>E21</b>	12	57	0,0037	0,0607	32,8	7,3 ±3,3	36,8	43,4
<b>H27</b>	12	60	0,0025	0,0531	42,5	7,0 ±2,3	47,2	51,8
<b>J19</b>	43	49	0,0021	0,0273	26,0	8,8 ±1,6	33,2	36,4
<b>J5</b>	42	49	0,0032	0,1028	64,3	6,5 ±1,4	69,4	72,2
<b>MD133</b>	41	48	0,0031	0,0647	41,7	6,9 ±2,0	46,6	50,6
<b>MD136b</b>	42	61	0,0039	0,0754	38,7	5,9 ±1,9	42,7	46,5
<b>N40a</b>	41	40	0,0033	0,0861	52,2	5,8 ±1,1	56,9	59,1
<b>N40b</b>	42	40	0,0026	0,0739	56,8	6,5 ±1,4	61,9	64,7
<b>N5</b>	23	47	0,0028	0,0523	37,4	9,3 ±3,2	43,5	49,9
<b>N9a</b>	31	33	0,0035	0,0478	27,3	5,9 ±1,9	31,3	35,1
<b>P2a</b>	21	66	0,0056	0,1248	44,6	6,2 ±2,2	48,6	53,0
<b>V7</b>	11	73	0,0035	0,1271	72,6	6,2 ±2,2	76,6	81,0
<b>X10a</b>	33	61	0,0028	0,0795	56,8	8,8 ±1,6	64,0	67,2
<b>X4</b>	21	69	0,0034	0,0719	65,0	6,1 ±0,9	70,2	72,0

Os elementos analisados compreenderam 10 do sexo feminino e 9 do sexo masculino. Através deste método obteve-se os resultados para estimativa da idade apresentados na Tabela 3.9 e a sua distribuição gráfica pode ser observada na Figura 3.11.

**Tabela 3.9.** Resultados obtidos com a estimativa de idade através da extrapolação do número de linhas de incremento em dentes queimados a 900°C, comparativamente à idade conhecida da amostra.  $\bar{x}$  - média,  $\sigma$  - desvio padrão,  $\tilde{x}$  - mediana, A - amplitude, Min - idade mínima, Max - idade máxima (idade em anos).

	400°C					
	$\bar{x}$	$\sigma$	$\tilde{x}$	A	Min	Max
<b>Idade Cronológica</b>	52,4	13,5	53,0	55,0	22,0	77,0
<b>Idade Estimada</b>	51,3	13,6	48,7	45,6	33,21	78,8

O coeficiente de correlação de *Pearson* resultou num  $r(16)=0,436$  com um  $p=0,043$  indicando uma relação positiva, embora não muito forte, estatisticamente significativa ( $p<0,05$ ) entre a idade estimada e a idade cronológica em dentes queimados a 400°C.

Para o grupo dos 900°C, foram realizadas as mesmas extrapolações (Apêndice III, Tabela 7.9) e foi possível realizar a estimativa de idade em 23 micrografias dos slides analisados. Os resultados obtidos estão expostos na Tabela 3.10.

**Tabela 3.10.** Idades estimadas através do número de linhas de incremento extrapoladas em dentes queimados a 900°C. ID - Código de identificação do dente, IC - idade cronológica; L - espessura de duas linhas de incremento (mm), C - espessura total do cimento (mm), Nle - número de linhas de incremento; ler - idade de erupção; IE - idade estimada.

ID	Dente	IC (anos)	L (mm)	C (mm)	Nle	ler (anos)	IE	
							Min (anos)	Max (anos)
AC18b	22	61	0,0027	0,096	70,8	7 $\pm$ 2,3	68,5	73,1
AE23	21	76	0,0028	0,118	84,3	6,1 $\pm$ 0,9	83,4	85,2
AG11	22	39	0,0028	0,068	48,5	7,3 $\pm$ 3,3	45,2	51,8
B24c	33	52	0,0027	0,108	80,1	8,8 $\pm$ 1,6	78,5	81,7
E20a	41	48	0,0035	0,064	36,3	5,8 $\pm$ 1,1	35,2	37,4
F4a	43	78	0,0036	0,12	66,8	9,8 $\pm$ 2,8	64,0	69,6
H29a	21	61	0,002	0,079	79,0	6,2 $\pm$ 2,2	76,8	81,2
H41	11	55	0,0028	0,09	64,2	6,2 $\pm$ 2,2	62,0	66,4
H46b	43	61	0,0054	0,141	52,1	9,8 $\pm$ 2,8	49,3	54,9
MD117a	12	57	0,0035	0,092	52,4	7,3 $\pm$ 3,3	49,1	55,7
MD117b	13	57	0,0039	0,105	53,9	11,2 $\pm$ 3,1	50,8	57,0
MD145	12	65	0,0044	0,121	55,0	7,3 $\pm$ 3,3	51,7	58,3

ID	Dente	IC (anos)	L (mm)	C (mm)	Nle	ler (anos)	Min (anos)	Max (anos)
MD35b	32	62	0,0041	0,162	78,9	6,9±2,0	76,9	80,9
MD90	13	61	0,0038	0,15	78,8	11,2±3,1	75,7	81,9
N15	23	43	0,0027	0,079	58,7	11,2±3,1	55,6	61,8
N18a	33	37	0,003	0,055	36,9	8,8±1,6	35,3	38,5
N33b	42	88	0,0048	0,176	73,5	6,5±1,4	72,1	74,9
O1b	23	64	0,0037	0,089	48,1	9,3±3,2	44,9	51,3
P2b	12	66	0,0028	0,101	72,1	7,3±2,2	69,9	74,3
P9	21	67	0,0034	0,097	56,9	6,1±0,9	56,0	57,8
P22	32	73	0,0047	0,111	47,2	6,5±1,4	45,8	48,6
T10b	31	62	0,0037	0,114	61,4	5,9±1,9	59,5	63,3
X8c	42	78	0,0054	0,192	71,2	6,9±2	69,2	73,2

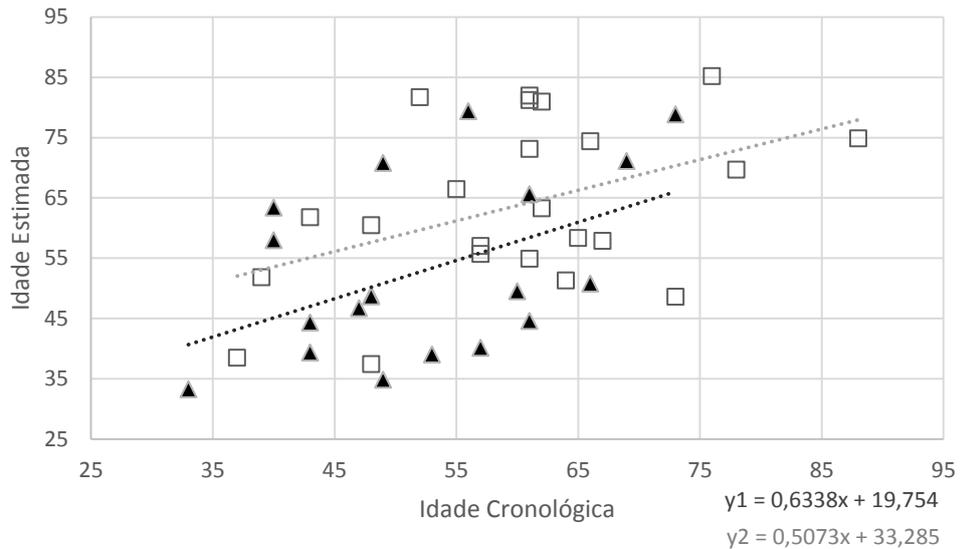
Nota: continuação da tabela 3.10

O conjunto analisado a 900°C foi composto por 10 elementos do sexo feminino e 13 do sexo masculino. Os resultados estão na Tabela 3.11, apresentada de seguida e a distribuição gráfica das idades estimadas representada na Figura 3.11.

**Tabela 3.11.** Resultados obtidos com a estimativa de idade através da extrapolação do número de linhas de incremento em dentes queimados a 900°C, comparativamente à idade conhecida da amostra.  $\bar{x}$  - média,  $\sigma$  – desvio padrão,  $\tilde{x}$  – mediana, A – amplitude, Min – idade mínima, Max – idade máxima (idade em anos).

	900°C					
	$\bar{x}$	$\sigma$	$\tilde{x}$	A	Min	Max
<b>Idade Cronológica</b>	60,0	12,3	61,0	51,0	37,0	88,0
<b>Idade Estimada</b>	63,7	13,8	61,8	47,8	37,4	85,2

O coeficiente de correlação de *Pearson* apresentou um  $r(21)=0,451$  com um  $p=0,031$ . Demonstra então uma relação positiva estatisticamente significativa ( $p<0,05$ ) entre a idade estimada através do número de linhas extrapolado e a idade conhecida, em dentes queimados a 900°C.



**Figura 3.11.** Gráfico de dispersão para a idade estimada através da extrapolação do número de linhas de incremento relativamente à idade conhecida, para os 400°C (triângulos pretos) e para os 900°C (quadrados brancos). Y1 refere à equação da linha de tendência para a estimativa de idade em dentes queimados a 400°C e Y2 refere à equação da linha de tendência para a estimativa de idade em dentes queimados a 900°C.

### 3.6 Erro Médio nas Estimativas de Idade

Após a estimativa de idade utilizando os métodos mencionados nos pontos anteriores, foi averiguada a diferença absoluta entre a idade cronológica e a idade estimada para cada um deles e calculado o erro médio (Tabela 3.12). A diferença média entre a idade estimada através da contagem de linhas de incremento promoveu um erro médio muito superior, tanto a 400°C como a 900°C, do que a estimada através do número de linhas extrapolado.

**Tabela 3.12.** Erro médio (EM) entre a idade estimada e a idade conhecida, nas duas abordagens utilizadas, a 400°C e a 900°C. IE- idade estimada através da contagem de linhas de incremento, IExt- idade estimada através da extrapolação do número de linhas de incremento,  $\tilde{x}$  – idade média estimada,  $\sigma$  – desvio padrão, (idade em anos).

	400°C				900°C			
	$\tilde{x}$ (anos)	$\sigma$ (anos)	EM (anos)	$\sigma$ (anos)	$\tilde{x}$ (anos)	$\sigma$ (anos)	EM (anos)	$\sigma$ (anos)
<b>IE</b>	32,0	8,5	21,6	11,7	40,5	10,6	24,2	14,9
<b>IExt</b>	52,9	14,7	10,3	8,4	62,0	14,0	11,4	7,0

### 3.7 Dentina e Cimento em Função da Idade

Foi calculada a percentagem da dentina e do cimento em relação à espessura entre o canal radicular e a superfície externa da raiz do dente (doravante designada por espessura total) em 15 micrografias de dentes queimados a 400°C (Apêndice III, Tabela 7.10) e em 15 micrografias de dentes queimados a 900°C (Apêndice III, Tabela 7.11).

Não foi encontrada uma relação estatisticamente significativa entre a proporção que a espessura da dentina representa na espessura total, nos dentes queimados a 400°C ( $p=0,472$ ) nem nos dentes queimados a 900°C ( $p=0,400$ ), com a idade conhecida (Tabela 3.13). Também não se verificou uma relação estatisticamente significativa entre a proporção que a espessura do cimento representa na espessura total e a idade cronológica ( $p=0,505$ ) em dentes queimados a 400°C, assim como nos dentes queimados a 900°C ( $p=0,125$ ) (Tabela 3.13).

Similarmente aos resultados anteriores no cálculo da percentagem dentina/cimento (Apêndice III, Tabela 7.10, 7.11) não se obteve uma relação estatisticamente significativa relativamente à idade cronológica em dentes queimados a 400°C ( $p=0,751$ ) e em dentes queimados a 900°C ( $p=0,156$ ) (Tabela 3.13).

**Tabela 3.13.** Percentagens (%) de dentina (D) e cimento (C) em relação à espessura total do corte e percentagem dentina/cimento (D/C) em dentes queimados a 400°C e a 900°C, relacionados com a idade cronológica.  $\bar{x}$  – idade média da amostra,  $\sigma$  – desvio padrão,  $r$  - coeficiente de correlação de Spearman Rho.

	400°C					900°C				
	$\bar{x}$ (anos)	$\sigma$ (anos)	%	$\sigma$ (%)	$r$	$\bar{x}$ (anos)	$\sigma$ (anos)	%	$\sigma$ (%)	$r$
<b>D</b>	54,0	13,3	90,6	6,6	0,201	60,7	13,7	89,6	6,9	-0,400
<b>C</b>	54,0	13,3	7,7	4,4	-0,187	60,7	13,7	9,9	4,1	0,414
<b>D/C</b>	54,0	13,3	9,5	6,1	-0,90	60,7	13,7	11,6	4,3	0,386

Diferenciou-se as percentagens anteriores para cada sexo nos dentes queimados tanto a 400°C como a 900°C.

**Tabela 3.14.** Resultados obtidos para as percentagens de dentina (D) e cimento (C) em relação à espessura total do corte e percentagem dentina/cimento (D/C), para os grupos feminino (F) e masculino (M), em dentes queimados a 400°C e a 900°C. % - percentagem,  $\sigma$  – desvio padrão (%), r- coeficiente de correlação de Spearman Rho.

	400°C					900°C					
	$\bar{x}$ (anos)	$\sigma$ (anos)	%	$\sigma$ (%)	r	$\bar{x}$ (anos)	$\sigma$ (anos)	%	$\sigma$ (%)	r	
<b>D</b>		61,0	12,7	89,9	6,9	-0,024	64,0	17,4	87,3	8,6	-0,429
	<b>M</b>	53,6	15,9	91,3	6,8	0,491	57,0	7,0	92,3	2,8	-0,655
<b>C</b>	<b>F</b>	61,0	12,7	8,6	5,6	-0,060	64	17,4	11,7	7,5	0,333*
	<b>M</b>	53,6	15,9	6,7	2,6	-0,236	57,0	7,0	7,8	2,4	0,782*
<b>D/C</b>	<b>F</b>	61,0	12,7	10,0	7,7	-0,216	64	17,4	14,2	10,8	0,333*
	<b>M</b>	53,6	15,9	7,5	3,6	-0,236	57,0	7,0	8,6	2,8	0,782*

\*(p<0,05)

Do grupo submetido a 400°C, 8 foram do sexo feminino e 7 do masculino. Para o sexo feminino não se obteve qualquer correlação estatisticamente significativa entre a percentagem de dentina e a idade cronológica (p=0,955), entre a percentagem de cimento e a idade cronológica (p=0,888) e entre a percentagem dentina/cimento e a idade cronológica (p=0,216) (Tabela 3.14).

Para o conjunto do sexo masculino queimado a 400°C também se testou a relação entre as percentagens já mencionadas e a idade conhecida. Não foi obtida qualquer correlação estatisticamente significativa entre a percentagem de dentina e a idade cronológica (p=0,263), entre a percentagem de cimento e a idade cronológica (p=-0,236) e também entre a percentagem dentina/cimento e a idade cronológica (p=0,610) (Tabela 3.14).

Quanto ao grupo submetido a 900°C no tratamento térmico, este compreendeu 8 elementos assinalados como do sexo feminino e 7 do sexo masculino. No grupo do sexo feminino não se avaliou qualquer relação estatisticamente significativa entre a percentagem de dentina e a idade cronológica (p=0,289), entre a percentagem de cimento e a idade cronológica

( $p=0,420$ ) e nem entre a percentagem dentina/cimento e a idade cronológica ( $p=0,420$ ) (Tabela 3.14).

Já no conjunto do sexo masculino não se encontrou uma relação estatisticamente significativa entre a percentagem de dentina e a idade cronológica ( $p=0,111$ ). Contudo, apresentou uma relação estatisticamente significativa entre a percentagem de cimento e a idade cronológica ( $p=0,038$ ,  $p\leq 0,05$ ) e entre a percentagem de cimento/dentina e a idade cronológica ( $p=0,038$ ,  $p\leq 0,05$ ) (Tabela 3.14).

## 4 Discussão

### 4.1 Alterações Cromáticas e Morfológicas

Quando se lida com restos humanos queimados, a metodologia de análise a adotar tem de ser apropriada e específica a este tipo de material. Assim, a informação sobre o processo da queima torna-se uma mais-valia (Sandholzer *et al.*, 2014b). A avaliação macroscópica das alterações provocadas por temperaturas elevadas é útil para recolher informação acerca desse processo, como por exemplo aferir o efeito da temperatura atingida na dimensão dos dentes (Shipman *et al.*, 1984; Piga *et al.*, 2009).

As mudanças cromáticas observadas nos dentes submetidos a tratamento térmico de 400°C e 900°C retrataram em parte o que havia sido descrito em trabalhos anteriores. Estas alterações cromáticas correspondem às mudanças progressivas, semelhantes às observadas em ossos queimados, também descritas por Shipman e colegas (1984) em ossos e dentes de caprinos e Endris e Berrsche (1985), Merlati e colegas (2002), Beach e colegas (2008) e Sandholzer e colegas (2013) em dentes humanos, todos submetidos a tratamento térmico em fornos com condições controladas. Segundo Bush e Bush (2011) com o aumento da temperatura tem início um processo que destrói todo o material orgânico exceto o carbono, a carbonização (entre os 400°C e 600°C). Devido à presença exclusiva de carbono, o dente adquire uma coloração escura/preta até que este elemento seja queimado e o dente começa a obter, progressivamente, uma cor clara chegando ao estado de calcinado, ou seja desprovido de material orgânico (perto dos 800°C) (Herrmann, 1977; Bush e Bush, 2011).

No que diz respeito à homogeneidade da cor na estrutura do dente, observou-se, tanto a 400°C como a 900°C, uma disparidade entre a cor da raiz e a da coroa. Estas diferenças são possivelmente causadas pela desigual composição química nos tecidos dentários. A diversidade de reações a temperaturas elevadas foi descrita por Shipman e colegas (1984) que indicaram que uma vez que os tecidos constituintes dos dentes possuem estruturas diferentes, os tipos de mudanças a ocorrer são geridas pela resposta do tecido em relação à temperatura. Também Merlati e colaboradores (2002) mostram que

as alterações nos tecidos dentários estão relacionados com o aumento da temperatura, consequência da natureza físico-química dos tecidos dentários.

Tratando-se de um processo de queima laboratorial controlado, onde as alterações cromáticas são constantes nas amostras submetidas ao tratamento térmico, as cores apresentadas podem ser um bom indicador para estimar a temperatura a que foram submetidos. Assim é possível inferir que uma coloração castanha-escura/preta ao nível da raiz e natural/amarela ao nível da coroa corresponde a temperaturas até aos 400°C enquanto uma coloração branca ao nível da raiz e cor cinzenta na coroa a temperaturas até 900°C, aproximadamente. Fairgrieve (2008) e Bush e Bush (2011) estão de acordo na aplicabilidade deste indicador. No entanto existe um número de variáveis que podem influenciar a mudança de cor no processo de queima - a presença ou não de tecidos moles e osso, a disponibilidade de oxigénio, a presença de agentes contaminantes, um incremento rápido da temperatura ou formas de extinção do fogo (Savio *et al.*, 2006; Shandholzer *et al.*, 2013, Shandholzer *et al.*, 2014a), e nessa avaliação é necessário agir com precaução, especialmente quando comparando observações realizadas num contexto laboratorial com o resultado de cremações ou queimas acidentais. Em investigações futuras será útil a junção de técnicas de investigação como espectrofotometria (Rubio *et al.*, 2015) e difração de raio-X (Piga *et al.*, 2009) para aferir as condições de queima, pois um dos factores condicionantes na escolha de qualquer método para análise de restos humanos queimados é a temperatura a que estes estiveram sujeitos (Gocha e Schutkwoski, 2013) e esta pode ter uma grande influência na visibilidade das linhas de incremento do cimento dentário, como se irá falar mais adiante.

Quanto ao estado de preservação das peças ósseas os resultados obtidos foram algo díspares do espectável. É descrito que os dentes, sendo das partes mais resistentes do esqueleto humano quando face a situações extremas, podem suportar temperaturas superiores aos 1000°C (Savio *et al.*, 2006; Ferreira *et al.*, 2008), embora comecem a sofrer uma grande fragmentação com as temperaturas elevadas (Ferreira *et al.*, 2008). A preservação das peças dentárias a 400°C e a 900°C foi consideravelmente melhor do que já havia sido descrito. Isto pode ser então consequência do incremento de temperatura mais lento adaptado no protocolo metodológico. Porém Beach e colegas (2008) indicam que um maior tempo de exposição a temperaturas elevadas não significa necessariamente um

aumento nas mudanças observáveis na estrutura dos dentes, pois as principais alterações surgem nos primeiros 30 minutos da queima. No entanto não mencionam as disparidades que poderão ocorrer caso se exponham as peças dentárias a diferentes incrementos. Para averiguar esta hipótese há a possibilidade de testar diferentes tempos e intensidades de queima com a finalidade de observar as diferenças provocadas, à mesma temperatura. Tal informação poderia então tornar-se uma ferramenta extra para auxiliar na inferência das condições de queima, na sua duração e intensidade, através das alterações morfológicas em dentes queimados.

Assim, também a forma dos dentes manteve-se, no geral, muito semelhante à inicial sem apresentar uma deformação marcante. Ao contrário do que acontece nos ossos e que permite contribuir para inferir a condição pré-queima dos mesmos (White, 2001; Gonçalves *et al.*, 2011). E embora se observe um ligeiro deslocamento da coroa em relação à raiz, estas observações vão de encontro ao apresentado por Sandholzer e colaboradores (2013) que afirmaram não ocorrerem deformações notáveis em dentes queimados, possivelmente devido a distribuição isotrópica da matriz de colagénio nos dentes ao contrário do que ocorre nos ossos, que possuem uma distribuição anisotrópica de colagénio entre o osso trabecular e o cortical (Thompson, 2005).

A análise microscópica dos cortes histológicos é afetada pelo efeito de queima dos componentes orgânicos e inorgânicos (Ferreira *et al.*, 2008). Sandholzer e colegas (2013; 2014a) descrevem, com dados obtidos por *micro-CT*, que a partir dos 500°C ocorrem fraturas e fragmentação na dentina e que dos 700°C aos 1000°C numerosas fraturas transversais são visíveis na dentina, na maioria começando em canais ou na camara polpar. Esse aumento de microfraturas na dentina foi observado na amostra em estudo, dos 400°C para os 900°C. Essas fraturas na dentina, iniciadas nas zonas do canal radicular podem ser devidas à rápida perda de água nessa estrutura juntamente com um aumento da força tênsil intertubular nos túbulos dentinais, estendendo-as ao esmalte (Hughes e White, 2009) e como tal, será possível que algo paralelo ocorra na área da raiz.

Foi possível depreender, através da análise de qualidade de visualização realizada nos cortes histológicos, haver uma melhor preservação do cimento nos dentes queimados a 400°C mas uma melhor visualização nos dentes queimados

a 900°C. Há uma tendência geral dos tecidos para se tornarem mais claros com o aumento da temperatura (Reesu *et al.*, 2015), o que é observável com a análise microscópica mais facilitada nas lâminas correspondentes a dentes queimados a 900°C.

## 4.2 Alterações no Peso e Dimensão

A presente investigação existente sobre as diferenças de peso em material esquelético recai sobretudo no estudo do esqueleto completo (ou do que resta após o processo de queima). Por exemplo, Warren e Maples (1997) observaram que o peso dos restos de cremação estava fortemente relacionado com o peso esquelético antes da queima, já Bass e Jantz (2004) avaliaram possíveis variações relacionadas com peso corporal e atividade, no peso de cremações.

Aqui a avaliação realizada relativamente ao peso dos dentes teve como principal objetivo a recolha de dados pré-queima e pós-queima, como forma de conservar dados, contudo foi possível observar uma redução no mesmo, ainda maior no grupo sujeito à temperatura mais elevada. Esta diferença poderá ter resultado do processo de desidratação e da perda de material orgânico (colagénio) a que os dentes queimados estão sujeitos, tal como acontece nos ossos (Beach *et al.*, 2008; Gonçalves *et al.*, 2013).

Quanto às alterações nas dimensões da raiz, a informação recolhida nesta investigação pretendia averiguar a influência do processo de encolhimento na visualização e contagem das linhas de incremento no cimento dentário assim como averiguar a influência das alterações térmico-induzidas nas raízes dentárias, um tema ainda pouco explorado. Os resultados obtidos foram de encontro ao apresentado por Gocha e Schutkowski (2013) e Gouveia (2015) que registaram um grau de encolhimento maior consoante o aumento da temperatura. Ao se falar de modificações dimensionais em material esquelético que esteve exposto a stresse térmico a maioria dos trabalhos apresentados relatam um encolhimento subsequente dos ossos e dos dentes (Bush e Bush, 2011; Shandholzer *et al.*, 2013). Herrmann (1977) e Shipman e colaboradores (1984) indicam que a percentagem de encolhimento está relacionada com a temperatura e à extensão de queima a que os espécimes são expostos. Gocha e Schutkowski (2013) verificaram que de facto existia encolhimento nas raízes devido à

exposição a temperaturas elevadas, semelhante ao que se verifica nos ossos, e que esse mesmo encolhimento podia influenciar negativamente a clara visualização das linhas de incremento. Resultado este que era expectável, visto que quando se inicia o processo de calcinação, o material orgânico é perdido e a reorganização dos cristais de hidroxiapatite facilitada (Sandolzher *et al.*, 2013).

Nas três medidas avaliadas, altura máxima, diâmetro mesiodistal e diâmetro bucolingual a meio da raiz, a percentagem de encolhimento foi sempre mais elevada nos dentes submetidos a 900°C, com uma percentagem média de encolhimento de -14,90% para a altura da raiz, -7,71% para o diâmetro MD e -13,55% para o diâmetro BL.

Contudo, como é possível observar através dos valores de desvio padrão (Tabela 3.1) para cada medida, ocorreram grandes divergências nas medições. Houve casos, em que ao contrário do encolhimento descrito ocorreu expansão, o que pode ser devido a uma resposta não linear dos tecidos dentários às variações de temperatura. Estas alterações dimensionais possivelmente têm uma grande influência na camada de cimento, sendo esta a camada mais externa a revestir a estrutura dentária e adicionando às já mencionadas dificuldades provocadas pelas alterações cromáticas, pode ter uma relação com o facto de a 400°C, onde as alterações dimensionais têm uma percentagem menor, a qualidade de visualização da amostra ser melhor (93,3%) do que a 900°C (90%). Neste último caso, as alterações dimensionais tem uma maior influência, como comprovado através das medições efetuadas.

### **4.3 Estimativa de Idade Através da Contagem de Linhas de Incremento**

Após a exposição dos tecidos dentários a temperaturas elevadas, a raiz pode ser das fontes mais viáveis de informação, uma vez que esta permanece maioritariamente intacta e a dentina é menos suscetível aos stresses térmicos que o esmalte (Beach *et al.*, 2008). Mesmo assim a zona apical da mesma é mais sensível que as suas outras regiões (Beach *et al.*, 2008) e foi observado, principalmente nos dentes queimados a 900°C graus uma maior fragmentação na zona da JCE. Ultrapassando estas dificuldades, e indo ao encontro dos objetivos pretendidos, utilizou-se a área do terço médio da raiz.

Nesta investigação foi possível aferir que a estrutura do cimento dentário se mantém visível após o tratamento térmico contudo não similarmente às duas temperaturas testadas, e mesmo havendo exceções, é possível realizar uma contagem das linhas de incremento, tal como foi demonstrado por em Großkopf (1989; 1990) em dentes cremados de origem arqueológica utilizando dentes extraídos recentemente como controlo, Czermak e colaboradores (2012), também numa amostra de dentes cremados arqueológicos através de um método automático de contagem e Gotcha e Schutkowski (2013) em dentes doados em clínicas dentários que foram posteriormente queimados em laboratório.

Foram realizadas contagens nas zonas mesial, distal, bucal e lingual de cada corte e verificou-se valores muito distintos na maioria das observações. Isto pode ficar a dever-se a uma deposição desigual do cimento ao longo da raiz, tal como é descrito por Bosshardt e Selvig (2000) que menciona o potencial do cimento ser um tecido que na sua deposição responde às forças tenses a que o dente está sujeito no alvéolo e daí adquira espessuras dissimilares nas diferentes normas.

Contudo, tanto a 400°C como a 900°C falhou-se na obtenção de uma relação entre a idade conhecida e a estimada e observou-se, na maioria dos casos uma subestimação das idades obtidas, similarmente ao que Lipsnic e colegas (1986) observaram em dentes frescos. Estes resultados diferem consideravelmente dos resultados obtidos por Gotcha e Schutkowski (2013) que demonstraram ser possível não só realizar as contagens em dentes queimados, como também efetuar uma estimativa da idade-à-morte em dentes queimados a altas temperaturas numa amostra de idade e sexo conhecidos. O mesmo também já ocorreu quando executada em dentes frescos, com investigadores como Charles e colegas (1986), Kagerer e Grupe (2001), Wittwer-Backofen e colaboradores (2004) a obterem resultados muito promissores enquanto Renz e Radlanski (2006) e Roksandic e colegas (2009) não conseguiram comprovar a eficácia desta metodologia para estimar idade.

Diversas causas podem ter gerado a divergência no sucesso em obter resultados, como por exemplo as diferenças na metodologia. Por exemplo, Gotcha e Schutkowski (2013) utilizaram dentes cuja coroa foi extraída previamente à queima, a espessura dos cortes foi dez micrómetros menor que a utilizada aqui e sem processo de polimento, o grupo de temperaturas utilizado foi diferente e a

abordagem estatística divergiu. Tal como indicam Colard e colaboradores (2015), essas disparidades dificultam a tarefa de comparação entre diferentes trabalhos.

Um factor que afetou grandemente a técnica aplicada em dentes queimados foi a capacidade de uma boa visualização dos cortes histológicos. Nos dentes queimados a 400°C, 6,7% dos cortes têm visualização da área do cimento mas não foi possível distinguir as linhas de incremento enquanto em 3,3% não permitiam qualquer tipo de análise cimentocronológica. Já a 900°C, 10% tinha a zona do cimento distinta no entanto não se distinguiram as linhas. Também a coloração dos cortes histológicos, como é demonstrado nas Figuras 3 e 4 do Capítulo 4, tornaram a análise mais complexa. Similarmente numa investigação com microscopia de fluorescência com a finalidade de verificar a integridade da estrutura microscópica do osso e o seu conteúdo de colagénio (Harbeck *et al.*, 2011) verificou que a cor adquirida no osso após a queima tornava-se um factor impeditivo ao processo durante a fase de carbonização. Também Czermak e colaboradores (2012) mencionam o facto que com a cor escura dos dentes carbonizados a visualização das linhas de incremento é dificultada. Possivelmente, para o caso da visualização das linhas de incremento uma espessura de corte menor que 70µm contornaria este obstáculo, no entanto foi impossível alcança-la sem danificar irreversivelmente o material a estudar. Da mesma maneira é referido por Czermak e colaboradores (2012) que temperaturas mais elevadas de queima podem tornar o material demasiado frágil para seccionar (embora estes autores estejam a retirar as suas conclusões em dentes provenientes de queimas em piras, um contexto bastante díspar do que aqui apresentamos).

É conjecturado também que uma das razões para a ausência de relação entre a idade cronológica e o número de linhas em dentes queimados seja a desorganização das fibras pelas quais é composta a camada de cimento provocada pelas temperaturas elevadas. Verifica-se um rearranjo das linhas de incremento, umas vezes fundindo várias em bandas mais compactas e noutras dividindo-as em bandas mais finas. O mesmo foi observado por Gocha e Schutkowski (2013) que as descreve como possível consequência de uma modificação na forma dos cristais e do já mencionado encolhimento das raízes. Este processo pode ser grandemente influenciado pela alteração dimensional que a zona medial da raiz, como foi mencionado anteriormente. E é muito provável

que este factor tenha influenciado grandemente a contagem e consequente estimativa pois foi observado um encolhimento médio no diâmetro MD de -4,01% a 400° e de -7,71% a 900°C, e no diâmetro BL de -2,59 a 400°C e -13,55% a 900°C.

Há ainda a acrescentar dois factores limitantes neste processo: a fragilidade do material e as suas patologias. No primeiro caso, como já foi descrito por vários autores, a resistência a manuseamento dos dentes queimados ao tratamento histológico é muito menor (Herrmann, 1977; Myers *et al.*, 1999) e foi opção neste estudo não os consolidar pois já iriam ser colocados na resina histológica que conservaria a sua integridade nos passos seguintes. Contudo é possível que isto tenha levado a uma maior degradação das amostras, com maior presença de artefactos nas preparações. Aliás, na técnica de preparação histológica aplicada a ossos é aconselhada a consolidação prévia dos mesmos (Rossi *et al.*, 2004) e o presente estudo parece confirmar essa recomendação.

Quanto às patologias, na amostra em estudo, embora se conheça a maioria das razões para extração dos dentes e estas sejam maioritariamente de natureza patológica, não foi aferido o grau de impacto que estas podem ter gerado na dentição, pois a maioria dos dentes apresentava alguma patologia. Assim sendo a amostra não possuía a variabilidade necessária para uma investigação estatística desta questão. Uma vez que a cimentogenese envolve a calcificação do ligamento periodontal, é espectável que qualquer patologia que o afete vá influenciar a sua normal formação (Condon *et al.*, 1986). É descrito por vários autores que a doença periodontal pode ter uma influência negativa na deposição do cimento e na formação das linhas de incremento (Condon *et al.*, 1986; Kato *et al.*, 1992; Kagerer e Grupe, 2001; Dias *et al.*, 2010; Gauthier e Schutkowski, 2013). Quanto à presença de cáries, é mencionado, que quando tratadas não afetam a estrutura do cimento, mas quando se realiza a análise em dentes cariados já se observa a influência desta patologia (Kagerer e Grupe, 2001). Isto é suportado também por Furseth e Johansen (1968) que indicam alterações provocadas por cárie nos processos de hipermineralização e hipomineralização associados à deposição de cimento dentário.

Ocorreu também um caso em que a contagem de linhas de incremento resultou numa estimativa muito superior à idade conhecida. Isto pode ser devido a uma deposição desregulada das bandas na camada de cimento, no entanto o

motivo de extração era inespecífico (infecção), não se podendo assim concluir se esse número anómalo de bandas era resultado de uma patologia como por exemplo a hipercimentose. Esta resulta num espessamento da banda de cimento (Kagerer e Grupe, 2001; Maat *et al.*, 2006), que pode surgir devido à perda de altura oclusal ou infecção periapical (Azaz, *et al.*, 1974; Azaz *et al.*, 1977). Ainda assim é de salientar a importância de realizar estas avaliações em dentes com patologias, não só em dentes saudáveis, pois a presença das mesmas é um factor constante na análise de restos esqueléticos, não invalidando contudo a importância de reunir uma amostra livre de patologias para aplicar o estudo e aferir o verdadeiro impacto das mesmas nos resultados e as diferenças que daí podem surgir.

Não obstante, a idade estimada através da contagem das linhas de incremento do cimento, ainda que subestimada pode ser útil para averiguar a idade mínima dos indivíduos, como é referido por Czermak e colaboradores (2012), informação igualmente valiosa para inclusão ou exclusão de indivíduos no processo de identificação, principalmente quando aplicada à estimativa de idade-à-morte em adultos, um dos campos que acarreta mais dificuldades (Ritz-Timme *et al.*, 2000; Cunha *et al.*, 2009). Naji e colaboradores (2014) assim como Colard e colaboradores (2015) salientam a necessidade de se estabelecer um protocolo para a execução da técnica cimentocronológica. Visto os dentes queimados requerem um tratamento mais sensível, uma sugestão será estabelecer um protocolo mais eficaz, com materiais específicos, para o manuseamento dos mesmos de forma a otimizar os resultados.

#### **4.4** Estimativa de Idade Através da Extrapolação do Número de Linhas de Incremento

Visto que a técnica padrão de contagem das linhas de incremento falhou em dar um resultado positivo na obtenção da idade cronológica, procuraram-se alternativas. Uma delas, depois de estudar a forma como Gupta e colaboradores (2014) avaliaram as linhas de incremento em dentes não queimados recentemente extraídos, inspirou uma tentativa alternativa de aferir o número de linhas presente no cimento dentário em dentes queimados e por fim realizar a estimativa de idade. Os resultados obtidos foram melhores que os obtidos anteriormente, através da contagem de linhas da maneira clássica. Para além de

se obter uma relação estatisticamente significativa entre a idade estimada e a idade conhecida, tanto a 400°C como a 900°C, o erro médio para a estimativa da idade foi claramente menor. Enquanto o erro médio para a estimativa através da contagem das bandas de incremento ficou acima dos 20 anos, tanto a 400°C como a 900°C, já na idade extrapolada ficou em aproximadamente 11 anos, nas duas temperaturas.

Mesmo com estes resultados promissores é uma técnica que foi aplicada preliminarmente, numa amostra muito reduzida. Acarreta também o factor de necessitar de bastante mais treino nas observações antes de aplicada, o que ficou demonstrado através do erro técnico de medição inter-observador. A seleção e medição dos dois pares de linhas de incremento a medir é um passo ainda mais complexo para o olho humano do que a contagem do número total de linhas. Levanta-se também, novamente a questão da presença de patologias nos dentes, já anteriormente referida. Ao afetarem a espessura do cimento toda a análise ficará comprometida.

Assim para uma melhor avaliação da real aplicação e eficácia desta metodologia é necessário realiza-la numa amostra com um maior número de elementos e um conjunto de dentes a atuar como controlo.

#### 4.5 Dentina e Cimento em Função da Idade

Foi avaliada a espessura dos tecidos dentários, cimento e dentina, relativamente à idade conhecida e calculou-se a percentagem da dentina e do cimento em relação à espessura total, sabendo que estes sofrem uma mudança estrutural progressiva ao longo da vida dos indivíduos (Nitzan *et al.*, 1986) e que estas alterações podiam ser visíveis nos dentes após estarem sujeitos a temperaturas muito elevadas.

Quando avaliados no total das sub-amostras, a 400°C e a 900°C, as percentagens obtidas tanto para o cimento, como para a dentina, como a percentagem dentina/cimento não apresentaram quaisquer relações com a idade cronológica. Contudo verificou-se diferenças nas percentagens entre o sexo feminino e masculino, existindo uma maior percentagem de dentina nos homens, a 400°C e 900°C. Já a percentagem de cimento era mais elevada nas mulheres, em ambas as temperaturas.

Nos dentes queimados a 900°C graus verificou-se ainda uma relação entre a percentagem de cimento e a idade conhecida, tanto em mulheres como em homens, e entre a percentagem dentina/cimento e a idade conhecida, em ambos os sexos. Peculiarmente, não se obteve qualquer relação quanto à quantidade de dentina em relação à idade cronológica, ao contrário do que Zilberman e Smith (2001) e Murray e colaboradores (2002) demonstraram em dentes não queimados. O registo de maior percentagem de dentina no grupo do sexo masculino contudo vai de encontro ao que é descrito sobre o processo odontoblástico resultar numa espessura de dentina maior no sexo masculino que no feminino (Zilberman e Smith, 2001).

Em dentes não queimados foi demonstrado que a espessura do cimento varia ao longo do dente e na zona medial da raiz pode atingir os 200 a 300 µm (Furseth e Johansen, 1968) e que a espessura de cimento, conhecida por ter um incremento anual em média de 2-3 µm, demonstra uma diminuição dessa aposição com o aumento da idade (Azaz *et al.*, 1974; Solheim, 1990). Gouveia (2015) relata que as alterações dimensionais na raiz tem uma percentagem mais elevada ao nível da JCE do que na zona do terço médio da raiz, o que indica que os resultados obtidos podem estar fortemente enviesados pelas alterações térmico-induzidas. O que também pode explicar as diferenças obtidas nas percentagens de cimento e na percentagem de dentina/cimento. É assim sugerido que esta análise seja realizada na zona da JCE, aparentemente menos sujeita a estas variações, para se conseguir resultados mais realistas. Podendo-se até, utilizando cortes longitudinais do dente, realizar a análise em mais zonas para verificar se se mantém de facto uma relação entre a espessura dos tecidos duros com a idade, após o processo de queima.



## 5 Conclusão

Nos últimos anos tem-se adensado o campo de pesquisa referente a restos humanos queimados uma vez que estes podem ser encontrados em diversos cenários (acidentes, atentados, cremações, por exemplo) (Thompson, 2004; Sandholzer *et al.*, 2014b). Embora haja um maior entendimento acerca das modificações provocadas por temperaturas elevadas e o contacto direto do fogo (Thompson, 2004), as metodologias para analisar campos do perfil biológico necessitam de validação e, possivelmente, de aperfeiçoamento.

Neste estudo foi possível verificar que o dente humano mantém a sua forma após exposição a stresse térmico e os tecidos duros constituintes da raiz, o cimento e a dentina são mantidos mesmo após exposição a temperaturas elevadas num contexto laboratorial controlado. Foi possível confirmar a preservação de linhas de incremento do cimento em dentes queimados, tanto a 400°C como a 900°C. No entanto não se obteve através delas uma relação estatisticamente significativa entre a idade estimada e a idade cronológica. Assim, numa tentativa preliminar de contornar a ineficácia deste método, tentou-se uma extrapolação do número de linhas de incremento com a medição da espessura total do cimento e de um conjunto de linhas. O que resultou numa estimativa de idade mais fiável na amostra onde foi conduzida a avaliação. Esta técnica revelou um erro aceitável e tem potencial para funcionar como ferramenta de estimativa de idade-à-morte na análise histológica do cimento. Também demonstrando potencial enquanto ferramenta para o auxílio da estimativa de idade em restos humanos queimados, onde as abordagens disponíveis são extremamente limitadas (Ubelaker, 2009).

Uma questão de interesse seria testar esta mesma abordagem numa amostra de maior número e com um conjunto de dentes saudáveis e não queimados como controlo, de maneira a uniformizar as variáveis que venham a influenciar as interações da deposição dos tecidos duros. Também seria relevante realizar as medições em zonas da raiz aparentemente menos afetadas pelas alterações térmico induzidas, como na zona da JCE (Gouveia, 2015).

Ainda assim, o processo de análise cimentocronológica que passava exclusivamente pela contagem das linhas de incremento e resultante estimativa, deu origem a uma pesquisa mais alargada que deve agora ser repensada após conclusões obtidas por este trabalho. A definição de cimentocronologia deve ser alargada, passando assim a tratar não só da averiguação do número de linhas, mas da avaliação da relação que a deposição contínua do cimento pode ter com a idade e as diversas abordagens que daí podem surgir para a sua estimativa. Permitindo assim tornar a cimentocronologia um campo promissor para a estimativa de idade-à-morte em dentes queimados.

Além de propor uma nova técnica de estimativa de idade a partir de dentes queimados, este trabalho permitiu documentar as alterações macroscópicas (mudança de cor, alterações dimensionais e de peso), informações úteis para a compreensão do processo de queima e a resposta dos componentes dentários a este.

Estar ciente que as condições reais de uma cremação, ou outro processo de queima que resulte em vítimas, envolvem muitas mais variáveis (por exemplo, a presença ou não de tecidos moles e osso ou a presença de acelerantes) do que foram testadas aqui é fundamental. Também as temperaturas, intensidades e duração variam consoante o tipo de queima, é por isso que as conclusões retiradas desta investigação devem ser aplicadas com precaução em cenários não-laboratoriais (Bohnert *et al.*, 1998).

Acrescenta-se que um método para a estimativa de um parâmetro de perfil biológico tem de cumprir certos padrões como ser expostas à comunidade científica, testadas utilizando metodologias estatísticas válidas e descrita em termos exatos (Ritz-Timme *et al.*, 2000; Franklin, 2009). É por isso que é necessário que novas investigações sejam realizadas nesse sentido.

Enquanto tal não ocorre, esta investigação é uma mais-valia para a avaliação antropológica de restos humanos queimados, adicionando informação pertinente, confirmando resultados previamente obtidos e contrariando outros, o que demonstra uma grande necessidade de pesquisa contínua no futuro.

## 6 Bibliografia

- Absolonova, K.; Veleminsky, P.; Dobisikova, M.; Beran, M.; Zocova, J. 2013. Histological Estimation of Age at Death from the Compact Bone of Burned and Unburned Human Ribs. *Journal of Forensic Sciences*, 58(s1): S135-S145.
- Alunni, V.; Grevin, G.; Buchet, L.; Quatrehomme, G. 2014. Forensic aspect of cremations on wooden pyre. *Forensic Science International*, 241: 167-172.
- Arora, J.; Sahni, D.; Talwar, I.; Rattan, V. 2013. Age estimation among North Indians by cementum annulation count: A light microscopic study. *Journal of the Anatomical Society of India*, 62(2): 110-114.
- Azaz, B.; Ulmansky, M.; Moshev, R.; Sela, J. 1974. Correlation between age and thickness of cementum in impacted teeth. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 38(5): 691-694.
- Azaz, B.; Michaeli, Y.; Nitzan, D. 1977. Aging of tissues of the roots of nonfunctional human teeth (impacted canines). *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 43(4): 572-578.
- Bass, W. M.; Jantz, R. L. 2004. Cremation weights in east Tennessee. *Journal of Forensic Sciences*, 49(5), 901-904.
- Beach, J. J.; Passalacqua, N. V.; Chapman, E. N. 2008. Heat-related changes in tooth color: temperature versus duration of exposure. In: Schmidt, C. W.; Symes, S. A. (eds.). *The analysis of burned human remains*. London, Academic Press: 137-144.
- Bertrand, B.; Schug, R. G.; Polet, C.; Naji, S.; Colard, T. 2014. Age-at-death estimation of pathological individuals: A complementary approach using teeth cementum annulations. *International Journal of Paleopathology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpp.2014.04.001>.

- Blondiaux, J.; Najj, S.; Audureau, E.; Colard, T. 2015. Cementochronology and sex: A reappraisal of sex-associated differences in survival in past French societies. *International Journal of Paleopathology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpp.2015.05.001>.
- Blondiaux, J.; de Broucker, A.; Colard, T.; Haque, A.; Najj, S. 2015. Tuberculosis and survival in past populations: A paleo-epidemiological appraisal. *Tuberculosis*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.tube.2015.02.002>.
- Bohnert, M.; Rost, T.; Pollak, S. 1998. The degree of destruction of human bodies in relation to the duration of the fire. *Forensic Science International*, 95(1): 11-21.
- Bosshardt, D. D.; Selvig, K. A. 1997. Dental cementum: the dynamic tissue covering of the root. *Periodontology 2000*, 13(1), 41-75.
- Brooks, S.; Suchey, J. M. 1990. Skeletal age determination based on the os pubis: a comparison of the Acsádi-Nemeskéri and Suchey-Brooks methods. *Human Evolution*, 5(3): 227-238.
- Buckberry, J. L.; Chamberlain, A. T. 2002. Age estimation from the auricular surface of the ilium: a revised method. *American Journal of Physical Anthropology*, 119(3): 231-239.
- Buikstra, J. E.; Ubelaker, D. H. 1994. *Standards for data collection from human skeletal remains: Proceedings of a seminar at the Field Museum of Natural History (Arkansas Archaeology Research Series 44)*. Fayetteville, Arkansas Archaeological Survey.
- Bush, P.J.; Bush, M.A. 2011. The next level in victim identification: materials properties as an aid in victim identification, *In: Bowers C. (ed.), Forensic Dental Evidence*, Elsevier Academic Press, London, pp.55–72.
- Cameriere, R.; Ferrante, L.; Belcastro, M. G.; Bonfiglioli, B.; Rastelli, E.; Cingolani, M. 2007. Age Estimation by Pulp/Tooth Ratio in Canines by Peri-Apical X-Rays. *Journal of Forensic Sciences*, 52(1): 166-170.

- Cardoso, H. F. C. 2000. *Dimorfismo sexual na estatura, dimensões e proporções dos ossos longos dos membros: o caso de uma amostra Portuguesa dos séculos XIX-XX*. Dissertação de Mestrado em Evolução Humana, Departamento de Antropologia, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Coimbra.
- Cattaneo, C.; DiMartino, S.; Scali, S.; Craig, O. E.; Grandi, M.; Sokol, R. J. 1999. Determining the human origin of fragments of burnt bone: a comparative study of histological, immunological and DNA techniques. *Forensic Science International*, 102(2): 181-191.
- Charles, D. K.; Condon, K.; Cheverud, J. M.; Buikstra, J. E. 1986. Cementum annulation and age determination in *Homo sapiens*. I. Tooth variability and observer error. *American Journal of Physical Anthropology*, 71(3): 311-320.
- Colard, T.; Bertrand, B.; Naji, S.; Delannoy, Y.; Bécart, A. 2015. Toward the adoption of cementochronology in forensic context. *International Journal of Legal Medicine*, 1-8.
- Condon, K.; Charles, D. K.; Cheverud, J. M.; Buikstra, J. E. 1986. Cementum annulation and age determination in *Homo sapiens*. II. Estimates and accuracy. *American Journal of Physical Anthropology*, 71(3): 321-330.
- Cox, M. 2000. Ageing adults from the skeleton. In: Cox, M.; Mays, S. (eds.) *Human osteology in archaeology and forensic science*. Cambridge, Cambridge University Press: 61-82.
- Cunha, E.; Baccino, E.; Martrille, L.; Ramsthaler, F.; Prieto, J.; Schuliar, Y., Lynnerup N.; Cattaneo, C. 2009. The problem of aging human remains and living individuals: a review. *Forensic Science International*, 193(1): 1-13.
- Czermak, A.; Czermak, A.; Ernst, H.; Grupe, G. 2006. A new method for the automated age-at-death evaluation by tooth-cementum annulation (TCA). *Anthropologischer Anzeiger*, 64(1): 25-40.
- Czermak, A.; Masanz, R.; Brather, S. 2012. Age at death evaluation of urn burials (Friedenhain-Přešovice type) from the Late Roman and Migration Period -

- TCA applied to cremated teeth using automated line counting (Auto-TCA). *19th European Meeting of the Paleopathology Association (PPA)*, Lille, France 27.
- Dias, P. E. M.; Beaini, T. L.; Melani, R. F. H. 2010. Age estimation from dental cementum incremental lines and periodontal disease. *Journal of Forensic Odonto-Stomatology*, 28(1): 13-21.
- DiGangi, E. A.; Bethard, J. D., Kimmerle, E. H.; Konigsberg, L. W. 2009. A new method for estimating age-at-death from the first rib. *American Journal of Physical Anthropology*, 138(2): 164-176.
- Endris, R.; Berrsche, R. 1985. Color change in dental tissue as a sign of thermal damage. *Zeitschrift für Rechtsmedizin. Journal of Legal Medicine*, 94(2): 109.
- Fairgrieve, S. I. 2008. *Forensic cremation recovery and analysis*. USA, CRC Press.
- Falys, C. G.; Schutkowski, H.; Weston, D. A. 2006. Auricular surface aging: worse than expected? A test of the revised method on a documented historic skeletal assemblage. *American Journal of Physical Anthropology*, 130(4): 508-513.
- Ferreira, J. L.; Ferreira, Á. E. D.; Ortega, A. I. 2008. Methods for the analysis of hard dental tissues exposed to high temperatures. *Forensic Science International*, 178(2): 119-124.
- Ferrante, L.; Cameriere, R. 2009. Statistical methods to assess the reliability of measurements in the procedures for forensic age estimation. *International journal of legal medicine*, 123(4): 277-283.
- Furseth, R.; Johansen, E. 1968. A microradiographic comparison of sound and carious human dental cementum. *Archives of Oral Biology*, 13(10): 1197-1213.
- Garvin, H. M.; Passalacqua, N. V. 2012. Current practices by forensic anthropologists in adult skeletal age estimation. *Journal of Forensic Sciences*, 57(2): 427-433.

- Gauthier, J.; Schutkowski, H. 2013. Assessing the application of tooth cementum annulation relative to macroscopic aging techniques in an archeological sample. *HOMO - Journal of Comparative Human Biology*, 64(1): 42-57.
- Gibelli, D.; De Angelis, D.; Rossetti, F.; Cappella, A.; Frustaci, M.; Magli, F.; Mazzearelli, D.; Mazzucchi, A.; Cattaneo, C. 2014. Thermal modifications of root transparency and implications for aging: A pilot study. *Journal of Forensic Sciences*, 59(1): 219-223.
- Gocha, T. P.; Schutkowski, H. 2013. Tooth cementum annulation for estimation of age-at-death in thermally altered remains. *Journal of Forensic Sciences*, 58(s1): S151-S155.
- Gonçalves, D. 2011. The reliability of osteometric techniques for the sex determination of burned human skeletal remains. *HOMO - Journal of Comparative Human Biology*, 62(5): 351-358.
- Gonçalves, D.; Thompson, T. J. U.; Cunha, E. 2011. Implications of heat-induced changes in bone on the interpretation of funerary behaviour and practice. *Journal of Archaeological Science*, 38(6): 1308-1313.
- Gonçalves, D.; Thompson, T. J. U.; Cunha, E. 2013a. Osteometric sex determination of burned human skeletal remains. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 20(7): 906-911.
- Gonçalves, D.; Cunha, E.; Thompson, T. J. 2013b. Weight references for burned human skeletal remains from Portuguese samples. *Journal of Forensic Sciences*, 58(5): 1134-1140.
- Gonçalves, D.; Cunha, E.; Thompson, T. J. U. 2014. Estimation of the pre-burning condition of human remains in forensic contexts. *International Journal of Legal Medicine*, 1-7.
- Gonçalves, D.; Thompson, T. J.; Cunha, E. 2015. Sexual dimorphism of the lateral angle of the internal auditory canal and its potential for sex estimation of burned human skeletal remains. *International Journal of Legal Medicine*, 1-4.

- Gouveia, M. 2015. *Avaliação do potencial da odontometria para a diagnose sexual em vestígios humanos queimados*. Dissertação de Mestrado em Evolução e Biologia Humanas, Departamento de Antropologia, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Coimbra
- Grévin, G.; Baillet, P.; Quatrehomme, G.; Ollier, A. 1998. Anatomical reconstruction of fragments of burned human bones: a necessary means for forensic identification. *Forensic Science International*, 96(2): 129-134.
- Grue, H.; Jensen, B.; 1979. Review of the formation of incremental lines in tooth cementum of terrestrial mammals. *Danish Review of Game Biology*, 11: 1-48.
- Großkopf, B. 1989. Incremental lines in prehistoric cremated teeth. A technical note. *Zeitschrift für Morphologie und Anthropologie*, 77(3): 309-311.
- Großkopf, B. 1990. Individualaltersbestimmung mit Hilfe von Zuwachsringen im Zement bodengelagerter menschlicher Zähne [abstract]. *Zeitschrift für Rechtsmedizin*, 103(5): 351-359.
- Gupta, P.; Kaur, H.; Madhu Shankari, G. S.; Jawanda, M. K.; Sahi, N. 2014. Human age estimation from tooth cementum and dentin. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8(4): ZC07.
- Gustafson, G. 1950. Age determination on teeth. *Journal of the American Dental Association*, 41(1): 45-54.
- Harbeck, M.; Schleuder, R.; Schneider, J.; Wiechmann, I.; Schmahl, W. W.; Grupe, G. 2011. Research potential and limitations of trace analyses of cremated remains. *Forensic Science International*, 204(1): 191-200.
- Haavikko, K. 1970. The formation and the alveolar and clinical eruption of the permanent teeth: An orthopantomographic study. *Suomen Hammaslääkäriseuran toimituksia - Finska tandläkarsällskapets förhandlingar*, 66(3): 103.
- Herrmann, B. 1977. On histological investigations of cremated human remains. *Journal of Human Evolution*, 6(2): 101-103.
- Hillson, S. 1996. *Dental anthropology*. Cambridge, Cambridge University Press.

- Hillson, S. 2005. *Teeth*. Cambridge. Cambridge University Press.
- Hiller, J. C.; Thompson, T. J. U. Evison, M. P.; Chamberlain, A. T.; Wess, T. J. 2003. Bone mineral change during experimental heating: an X-ray scattering investigation. *Biomaterials*, 24(28): 5091-5097.
- Hughes, C. E.; White, C. A. 2009. Crack Propagation in Teeth: A Comparison of Perimortem and Postmortem Behavior of Dental Materials and Cracks\*. *Journal of Forensic Sciences*, 54(2): 263-266.
- Işcan, M. Y.; Loth, S. R.; Wright, R. K. 1984. Age estimation from the rib by phase analysis: white males. *Journal of Forensic Sciences*, 29(4): 1094-1104.
- Işcan, M. Y.; Loth, S. R.; Wright, R. K. 1985. Age estimation from the rib by phase analysis: white females. *Journal of Forensic Sciences*, 30(3): 853-863.
- Jankauskas, R.; Barakauskas, S.; Bojarun, R. 2001. Incremental lines of dental cementum in biological age estimation. *HOMO - Journal of Comparative Human Biology*, 52(1): 59-71.
- Kagerer, P.; Grupe, G. 2001. Age-at-death diagnosis and determination of life-history parameters by incremental lines in human dental cementum as an identification aid. *Forensic Science International*, 118(1): 75-82.
- Kato, S.; Nakagaki, H.; Kunisaki, H.; Sugihara, N.; Noguchi, T.; Ito, F.; Yosmoka, I.; Weatherell J.A.; Robinson, C. 1992. The thickness of the sound and periodontally diseased human cementum. *Archives of Oral Biology*, 37(8): 675-676.
- Kerley, E. R.; Ubelaker, D. H. 1978. Revisions in the microscopic method of estimating age at death in human cortical bone. *American Journal of Physical Anthropology*, 49(4): 545-546.
- Klevezal, G. A.; Shishlina, N. I. 2001. Assessment of the season of death of ancient human from cementum annual layers. *Journal of Archaeological Science*, 28(5): 481-486.
- Kvaal, S. I.; Solheim, T. 1995. Incremental lines in human dental cementum in relation to age. *European Journal of Oral Sciences*, 103(4): 225-230.

- Lain, R.; Taylor, J.; Croker, S.; Craig, P.; Graham, J. 2011. Comparative dental anatomy in disaster victim identification: lessons from the 2009 Victorian Bushfires. *Forensic Science International*, 205(1): 36-39.
- Lamendin, H.; Baccino, E.; Humbert, J. F.; Tavernier, J. C.; Nossintchouk, R. M.; Zerilli, A. 1992. A simple technique for age estimation in adult corpses: the two criteria dental method. *Journal of Forensic Sciences*, 37(5): 1373-1379.
- Lieberman, D. E. 1994. The biological basis for seasonal increments in dental cementum and their application to archaeological research. *Journal of Archaeological Science*, 21(4): 525-539.
- Lipsinic, F. E.; Paunovich, E.; Houston, G. D.; Robison, S. F. 1986. Correlation of age and incremental lines in the cementum of human teeth. *Journal of Forensic Sciences*, 31(3): 982-989.
- Lovejoy, C. O.; Meindl, R. S.; Pryzbeck, T. R.; Mensforth, R. P. 1985. Chronological metamorphosis of the auricular surface of the ilium: a new method for the determination of adult skeletal age at death. *American Journal of Physical Anthropology*, 68(1): 15-28.
- Lucas, P. W.; Loh, H. S. 1986. Are the incremental lines in human cementum laid down annually? [abstract]. *Annals of the Academy of Medicine*, 15(3): 384-386.
- Maat, G. J.; Gerretsen, R. R. R.; Aarents, M. J. 2006. Improving the visibility of tooth cementum annulations by adjustment of the cutting angle of microscopic sections. *Forensic Science International*, 159: S95-S99.
- Márai, S. 2001. *As velas ardem até ao fim*. Demeter, M. M. (Trad.) Portugal, Dom Quixote, Originalmente publicado em 1942.
- McKinley, J. I. 1993. Bone fragment size and weights of bone from modern British cremations and the implications for the interpretation of archaeological cremations. *International Journal of Osteoarchaeology*, 3(4): 283-287.
- Meindl, R. S.; Lovejoy, C. O. 1985. Ectocranial suture closure: A revised method for the determination of skeletal age at death based on the lateral-anterior sutures. *American Journal of Physical Anthropology*, 68(1): 57-66.

- Meinl, A.; Huber, C. D.; Tangl, S.; Gruber, G. M.; Teschler-Nicola, M.; Watzek, G. 2008. Comparison of the validity of three dental methods for the estimation of age at death. *Forensic Science International*, 178(2): 96-105.
- Merlati, G.; Danesino, P.; Savio, C.; Fassina, G.; Osculati, A.; Menghini, P. 2002. Observations on dental prostheses and restorations subjected to high temperatures: experimental studies to aid identification processes. *Journal of Forensic Odontostomatology*, 20(2): 17-24.
- Morse, D. R. 1991. Age-related changes of the dental pulp complex and their relationship to systemic aging. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 72(6): 721-745.
- Muller, M.; Berytrand, M. F.; Quatrehomme, G.; Bolla, M.; Rocca, J. P. 1998. Macroscopic and microscopic aspects of incinerated teeth. *The Journal of Forensic Odonto-Stomatology*, 16(1): 1-7.
- Mulhern, D. M.; Jones, E. B. 2005. Test of revised method of age estimation from the auricular surface of the ilium. *American Journal of Physical Anthropology*, 126(1): 61-65.
- Murray, P. E.; Stanley, H. R.; Matthews, J. B.; Sloan, A. J.; Smith, A. J. 2002. Age-related odontometric changes of human teeth. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 93(4): 474-482.
- Myers, S. L.; Williams, J. M.; Hodges, J. S. 1999. Effects of extreme heat on teeth with implications for histologic processing [abstract]. *Journal of Forensic Sciences*, 44(4): 805-809.
- Naji, S.; Colard, T.; Blondiaux, J.; Bertrand, B.; d'Incau, E.; Bocquet-Appel, J. P. 2014. Cementochronology, to cut or not to cut? *International Journal of Paleopathology*, dx.doi.org/10.1016/j.ijpp.2014.05.003.
- Naylor, J. W.; Miller, W. G.; Stokes, G. N.; Stott, G. G. 1985. Cemental annulation enhancement: a technique for age determination in man. *American Journal of Physical Anthropology*, 68(2): 197-200.

- Nitzan, D. W.; Michaeli, Y.; Weinreb, M.; Azaz, B. 1986. The effect of aging on tooth morphology: a study on impacted teeth. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 61(1): 54-60.
- Obertová, Z.; Francken, M. 2009. Tooth cementum annulation method: accuracy and applicability. In: Koppe, I; Meyer, G; Alt, KW (eds.): *Comparative Dental Morphology: Selected Papers of the 14th International Symposium on Dental Morphology, August 27-30, 2008*. Greifswald, Germany, Karger Medical and Scientific Publishers.13: 184-189.
- Paewinsky, E.; Pfeiffer, H.; Brinkmann, B. 2005. Quantification of secondary dentine formation from orthopantomograms—a contribution to forensic age estimation methods in adults. *International Journal of Legal Medicine*, 119(1): 27-30.
- Pereira, C.; Mendonça, M. C.; Pedrosa, F.; Santos, C. J. 2012. Identificação humana em desastres de massa: O papel da medicina dentária forense. In: Pereira, C. (ed.) *Medicina Dentária Forense*. Lisboa, LIDEL.
- Perini, T. A.; Oliveira, G. L. D.; Ornellas, J. D. S.; Oliveira, F. P. D. 2005. Technical error of measurement in anthropometry. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 11(1): 81-85.
- Piga, G.; Malgosa, A.; Thompson, T. J. U.; Enzo, S. 2008. A new calibration of the XRD technique for the study of archaeological burned human remains. *Journal of Archaeological Science*, 35(8): 2171-2178.
- Piga, G.; Thompson, T. J.; Malgosa, A.; Enzo, S. 2009. The Potential of X-Ray Diffraction in the Analysis of Burned Remains from Forensic Contexts. *Journal of Forensic Sciences*, 54(3): 534-539.
- Radović, M. B. 2012. Ageing in the Danube gorges population (9500-5500 BC): Tooth cementum annulation method. *Starinar*, 62: 9-18.
- Reesu, G. V.; Augustine, J.; Urs, A. B. 2015. Forensic considerations when dealing with incinerated human dental remains. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 29: 13-17.

- Renz, H.; Radlanski, R.J. 2006. Incremental Lines in Root Cementum of Human Teeth--a Reliable Age Marker? *HOMO - Journal of Comparative Human Biology*, 57(1): 29–50.
- 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 practise. *International Journal of Legal Medicine*, 113(3): 129-136.
- Roksandic, M.; Vlak, D.; Schillaci, M. A.; Voicu, D. 2009. Technical note: applicability of tooth cementum annulation to an archaeological population. *American Journal of Physical Anthropology*, 140(3): 583-588.
- Rossi, D.; De Gruchy, S.; Lovell, N. C. 2004. A comparative experiment in the consolidation of cremated bone. *International Journal of Osteoarchaeology*, 14(2): 104-111.
- Rösing, F. W.; Graw, M.; Marré, B.; Ritz-Timme, S.; Rothschild, M. A.; Röttscher, K.; Schmeling, A.; Schröder, I.; Geserick, G. 2007. Recommendations for the forensic diagnosis of sex and age from skeletons. *HOMO - Journal of Comparative Human Biology*, 58(1): 75-89.
- Rubio, L.; Sioli, J. M.; Suarez, J.; Gaitan, M. J.; Martin-de-las-Heras, S. 2015. Spectrophotometric analysis of color changes in teeth incinerated at increasing temperatures. *Forensic Science International*, 252: 193.e1–193.e6.
- Sandholzer, M. A.; Walmsley, A. D.; Lumley, P. J.; Landini, G. 2013. Radiologic evaluation of heat-induced shrinkage and shape preservation of human teeth using micro-CT. *Journal of Forensic Radiology and Imaging*, 1(3): 107-111.
- Sandholzer, M. A.; Baron, K.; Heimel, P.; Metscher, B. D. 2014a. Volume analysis of heat-induced cracks in human molars: A preliminary study. *Journal of Forensic Dental Sciences*, 6(2): 139.
- Sandholzer, M. A.; Sui, T.; Korsunsky, A. M.; Damien Walmsley, A.; Lumley, P. J.; Landini, G. 2014b. X-ray Scattering Evaluation of Ultrastructural Changes in

- Human Dental Tissues with Thermal Treatment. *Journal of Forensic Sciences*, 59(3): 769-774.
- 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 Science International*, 158(2): 108-116.
- Schmidt, C. W. 2008. The recovery and study of burned human teeth. In: Schmidt, C. W.; Symes, S. A. (eds.) *The analysis of burned human remains*. London, Academic Press: 55-74.
- Schroeder, H. E.; Amstad-Jossi, M.; Kroni, R., Scherle, W. 1986. The periodontium. In: Schroeder, H. E.; Amstad-Jossi, M.; Kroni, R.; Scherle, W. (eds.) *Handbook of Microscopic Anatomy*. Berlin, Springer-Verlag: V/5.
- Scott, G. R.; Turner, C. G. 2000. *The anthropology of modern human teeth: dental morphology and its variation in recent human populations*. Cambridge, Cambridge University Press.
- Shipman, P.; Foster, G.; Schoeninger, M. 1984. Burnt bones and teeth: an experimental study of color, morphology, crystal structure and shrinkage. *Journal of Archaeological Science*, 11(4): 307-325.
- Schug, G. R.; Brandt, E. T.; Lukacs, J. R. 2012. Cementum annulations, age estimation, and demographic dynamics in Mid-Holocene foragers of North India. *HOMO - Journal of Comparative Human Biology*, 63(2): 94-109.
- Solheim, T. 1990. Dental cementum apposition as an indicator of age. *European Journal of Oral Sciences*, 98(6): 510-519.
- Spinage, C. A. 1973. A review of the age determination of mammals by means of teeth, with especial reference to Africa. *African Journal of Ecology*, 11(2): 165-187.
- Stein, T. J.; Corcoran, J. F. 1994. Pararadicular cementum deposition as a criterion for age estimation in human beings. *Oral surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 77(3): 266-270.

- Stiner, M. C.; Kuhn, S. L.; Weiner, S.; Bar-Yosef, O. 1995. Differential burning, recrystallization, and fragmentation of archaeological bone. *Journal of Archaeological Science*, 22(2): 223-237.
- Stott, G. G.; Sis, R. F.; Levy, B. M. 1982. Cemental annulation as an age criterion in forensic dentistry. *Journal of Dental Research*. 61(6): 814-817.
- Thompson, T. J. U. 2004. Recent advances in the study of burned bone and their implications for forensic anthropology. *Forensic Science International*, 146: S203-S205.
- Thompson, T. J. U. 2005. Heat-induced dimensional changes in bone and their consequences for forensic anthropology. *Journal Forensic Science*, 50(5): 1008-1015.
- Thompson, T. J. U.; Chudek, J. A. 2007. A novel approach to the visualisation of heat-induced structural change in bone. *Science & Justice*, 47(2): 99-104.
- Thompson, T. J. U.; Gauthier, M.; Islam, M. 2009. The application of a new method of Fourier transform infrared spectroscopy to the analysis of burned bone. *Journal of Archaeological Science*, 36(3): 910-914.
- Ubelaker, D. H. 2009. The forensic evaluation of burned skeletal remains: a synthesis. *Forensic Science International*, 183(1): 1-5.
- Waterhouse, K. 2013a. The effect of weather conditions on burnt bone fragmentation. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 20(5): 489-495.
- Waterhouse, K. 2013b. The effect of victim age on burnt bone fragmentation: Implications for remains recovery. *Forensic Science International*, 231(1): 409-e1.
- Waterhouse, K. 2013c. Post-burning fragmentation of calcined bone: Implications for remains recovery from fatal fire scenes. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 20(8), 1112-1117.
- Warren, M. W.; Maples, W. R. 1997. [Abstract] The anthropometry of contemporary commercial cremation. *Journal of Forensic Sciences*, 42(3): 417-423.

- Whyte, T. R. 2001. Distinguishing remains of human cremations from burned animal bones. *Journal of Field Archaeology*, 28(3-4): 437-448.
- Williams, D.; Lewis, M.; Franzen, T.; Lissett, V.; Adams, C.; Whittaker, D.; Tysoe, C.; Butler, R. 2004. *Sex determination by PCR analysis of DNA extracted from incinerated, deciduous teeth*. *Science & Justice*, 44(2): 89-94.
- Wittwer-Backofen, U.; Gampe, J.; Vaupel, J. W. 2004. Tooth cementum annulation for age estimation: Results from a large known-age validation study. *American Journal of Physical Anthropology*, 123(2): 119-129.
- Wittwer-Backofen, U. 2012. Age estimation using tooth cementum annulation. In: Bell, L. S. (ed.) *Forensic Microscopy for Skeletal Tissues*. Humana Press: 129-143.
- Woisetschläger, M.; Lussi, A.; Persson, A.; Jackowski, C. 2011. Fire victim identification by post-mortem dental CT: radiologic evaluation of restorative materials after exposure to high temperatures. *European Journal of Radiology*, 80(2): 432-440.
- World Medical Association. 2001. World Medical Association Declaration of Helsinki. Ethical principles for medical research involving human subjects. *Bulletin of the World Health Organization*, 79(4): 373.
- Yekkala, R.; Meers, C.; Van Schepdael, A.; Hoogmartens, J.; Lambrichts, I.; Willems, G. 2006. Racemization of aspartic acid from human dentin in the estimation of chronological age. *Forensic Science International*, 159: S89-S94.
- Zilberman, U.; Smith, P. 2001. Sex-and age-related differences in primary and secondary dentin formation. *Advances in Dental Research*, 15(1): 42-45.

## 7 Apêndice



## 7.1 Apêndice I



FCTUC DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE DE COIMBRA  
Apartado 3046, 3001-401 Coimbra, Portugal  
Tels.: +351 239 855 210, 239 855 760, 239 853 600  
dcv@uc.pt – www.uc.pt/fctuc/dcv

### Formulário de Informação e Consentimento informado

Estimativa de idade à morte numa amostra de dentes queimados identificados através de *Tooth Cementum Annulation & Análise odantométrica de Primeiros molares: uma ajuda na determinação do sexo*

Investigador(es) Coordenador(es)

Professora Eugénia Cunha ([cunhae@ci.uc.pt](mailto:cunhae@ci.uc.pt))

Professora Ana Luísa Santos ([alsantos@antrop.uc.pt](mailto:alsantos@antrop.uc.pt))

Doutor David Gonçalves ([davidmiguelgoncalves@gmail.com](mailto:davidmiguelgoncalves@gmail.com))

Márcia Gouveia ([marciagou\\_20@hotmail.com](mailto:marciagou_20@hotmail.com))

Inês Santos ([ines.olsantos@gmail.com](mailto:ines.olsantos@gmail.com))

Centro de Estudo

Departamento de Ciências da Vida da Faculdade de Ciências da Vida  
Calçada Martim de Freitas, 3000-456 Coimbra  
239 855 210

Nome do doente

(letra de Imprensa) \_\_\_\_\_

Este procedimento é chamado consentimento informado e descreve a finalidade do estudo, os procedimentos, os possíveis benefícios e riscos. A sua participação poderá contribuir para melhorar conhecimentos na área da Antropologia Biológica e Forense. O Investigador ou outro membro da sua equipa irá esclarecer qualquer dúvida que tenha sobre o termo de consentimento e também alguma palavra ou informação que possa não entender.

A participação neste estudo é voluntária e não envolve quaisquer riscos para o/a dador/a. Depois de compreender o estudo e de não ter qualquer dúvida acerca do mesmo, deverá tomar a decisão de participar ou não. Caso não pretenda colaborar não haverá nenhuma consequência em relação a qualquer outro tratamento médico.

Este estudo irá decorrer no Departamento de Ciências da Vida da FCTUC e resulta da necessidade em desenvolver novas metodologias de análise de restos humanos queimados. Estes são frequentemente encontrados em contextos arqueológicos e forenses, mas a nossa capacidade para extrair informação a partir deles é dificultada pelas alterações que o fogo provoca no nosso esqueleto. Por exemplo, isto pode impedir a identificação de vítimas cujo corpo se encontre esqueletizado. Assim sendo, esta investigação tem o objetivo de, através da exposição dos dentes doados a diferentes temperaturas, observar alterações neles infligidas, testando metodologias para estimativa de idade. Pretende-se ainda averiguar a possível existência de dimorfismo sexual em indivíduos não identificados. Para tal, serão aplicadas técnicas métricas e histológicas e realizadas análises microscópicas e estatísticas. Os dentes recolhidos que não vierem a fazer parte desta investigação serão utilizados para a formação de uma coleção de dentes identificados e para o desenvolvimento de futuras investigações.

Os resultados obtidos serão divulgados e publicados cientificamente, sob total confidencialidade, inclusive anonimato dos participantes e sem quaisquer fins lucrativos ou comerciais. Não haverá também qualquer custo envolvido na participação nem será oferecida compensação para o efeito.

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética da Faculdade Medicina da Universidade de Coimbra (FMUC) de modo a garantir a protecção dos direitos de todos os intervenientes.

Se tiver questões sobre este estudo deve contactar:

Departamento de Ciências da Vida, FCTUC  
Calçada Martim de Freitas, 3000-456 Coimbra  
239 855 210

Pág 1 de 2

**Figura 7.1.** Consentimento informado para requisição da doação dos dentes extraídos nas clínicas dentárias (página 1).



**FCTUC** DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA  
 FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
 UNIVERSIDADE DE COIMBRA  
 Apartado 3046, 3001-401 Coimbra, Portugal  
 Tels.: +351 239 855 210, 239 855 760, 239 853 600  
 dcv@uc.pt – www.uc.pt/fctuc/dcv

**NÃO ASSINE ESTE FORMULÁRIO DE CONSENTIMENTO INFORMADO A MENOS QUE  
 TENHA TIDO A OPORTUNIDADE DE PERGUNTAR E TER RECEBIDO  
 RESPOSTAS SATISFATÓRIAS A TODAS AS SUAS PERGUNTAS.**

### **CONSENTIMENTO INFORMADO**

De acordo com a Declaração de Helsínquia da Associação Médica Mundial e suas actualizações:

1. Declaro ter lido este formulário e aceito de forma voluntária realizar a doação para este estudo.
2. Fui devidamente informado(a) da natureza, objectivos e riscos do mesmo.
3. Tive a oportunidade de fazer perguntas sobre o estudo e percebi as respostas e as informações que me foram dadas.
4. Os meus dados serão mantidos estritamente confidenciais.
5. Autorizo o uso dos resultados do estudo para fins exclusivamente científicos.

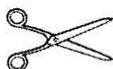
Após ter sido devidamente esclarecido/a, concordo participar doando voluntariamente o(s) dente(s)  
 \_\_\_\_\_ (tipo de dentes) para serem utilizados nas referidas pesquisas.

Coimbra, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 201\_

\_\_\_\_\_  
 (Assinatura do/a doador/a)

\_\_\_\_\_  
 (Assinatura do/a médico/a)

Confirma-se que foi explicado ao participante acima mencionado a natureza, os objectivos e os potenciais  
 riscos do Estudo acima mencionado.



-----

#### **Dados a recolher:**

Idade: \_\_\_\_\_ anos

Sexo: M (  ), Feminino (  ), tem filhos? N (  ) S (  ). Caso afirmativo, indique por favor a sua idade em  
 cada um dos partos \_\_\_\_\_.

Nacionalidade: \_\_\_\_\_

Motivo da extração dentária: \_\_\_\_\_

Outras patologias: \_\_\_\_\_

**Figura 7.2.** Consentimento informado para requisição da doação dos dentes extraídos nas clínicas dentárias (página 2).

## 7.2 Apêndice II

FMUC FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**COMISSÃO DE ÉTICA DA FMUC**

Of. Ref<sup>o</sup> **108-CE-2014**  
Data 17/11/2014

C/C aos Exmos. Senhores  
Investigadores e co-investigadores

Exmo Senhor  
Prof. Doutor Joaquim Neto Murta  
Director da Faculdade de Medicina de  
Universidade de Coimbra

**Assunto: Pedido de parecer à Comissão de Ética - Projecto de Investigação autónomo (ref<sup>o</sup> CE-104/2014).**

**Investigador(a) Principal:** Eugénia Maria Guedes Pinto Antunes da Cunha

**Co-Investigador(es):** David Miguel da Silveira Gonçalves | Inês de Oliveira Santos

**Título do Projecto: "Age-at-death Estimation in a Sample of Burned Identified Teeth Through Tooth Cementum Annulation".**

A Comissão de Ética da Faculdade de Medicina, após análise do projecto de investigação supra identificado, decidiu emitir o parecer que a seguir se transcreve: "**Parecer Favorável**".

Queira aceitar os meus melhores cumprimentos. 

O Presidente,

  
Prof. Doutor João Manuel Pedroso de Lima

GC

SERVIÇOS TÉCNICOS DE APOIO À GESTÃO - STAG - COMISSÃO DE ÉTICA  
Pólo das Ciências da Saúde - Unidade Central  
Avenida de Santa Comba, Celas, 3050-354 COIMBRA - PORTUGAL  
Tel: +351 239 857 707 (Ext. 542707) | Fax: +351 239 823 236  
E-mail: [comissaoetica@fmuc.pt](mailto:comissaoetica@fmuc.pt) | [www.fmuc.pt](http://www.fmuc.pt)

**Figura 7.3.** Parecer atribuído pela Comissão de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.

## 7.3 Apêndice III

**Tabela 7.1.** Amostra selecionada para ser queimada a 400°C e a 900°C graus, identificada com sexo (F – feminino, M- masculino), tipo de dente (FDI), idade cronológica (IC) e motivo da extração (ME).

400°C					900°C				
ID	Sexo	Dente	IC	ME	ID	Sexo	Dente	IC	ME
AA9a	F	32	48	C	AC18b	F	61	22	C
AE10b	M	12	56	C	AC25c	F	77	42	C
AE13a	M	13	43	DP	AE23	F	76	21	F
AE13b	M	12	43	DP	AG11	M	39	22	C
AE13d	M	21	43	DP	B24c	F	52	33	DP
B1a	F	31	53	DP	E19	F	73	33	NA
D15	F	23	22	I	E20a	F	48	41	NA
E12	F	23	53	DP	F4a	M	78	43	C
E21	M	12	57	NA	H29a	M	61	21	DP
F8	M	22	57	NA	H41	M	55	11	DP
H20b	F	32	59	DP	H46b	M	61	43	DP
H27	F	12	60	DP	MD117b	M	57	12	DP
H40	F	23	62	C	MD145	M	57	13	DP
J19	F	43	49	C/DP	MD17a	M	65	12	C
J5	F	42	49	C/DP	MD35b	M	62	32	C
M6a	F	11	77	C/DP	MD69	F	82	11	D
M6b	F	21	77	C/DP	MD90	M	61	13	M
M7	M	41	61	DP	N15	M	43	23	C
MD133	M	42	48	DP	N16a	F	88	31	C
MD136b	M	31	61	C	N18a	F	37	33	DP
N40a	F	41	40	C	N33b	F	88	42	C
N40b	F	42	40	C	N7	F	54	12	C
N5	F	23	47	F	O1b	F	64	23	C
N9a	M	31	33	F	P2b	M	66	12	Des
N9b	M	32	33	F	P9	F	75	41	DP
N9c	M	33	33	F	P6	F	67	21	F
P2a	M	21	66	Des	P22	F	73	32	DP
V7	M	11	73	M	T10b	M	62	31	DP
X10a	F	33	61	DP	X8c	M	78	42	DP
X4	F	21	69	DP	X9	F	48	42	DP

Nota: C – cárie, DP – doença periodontal, C/DP – cárie e doença periodontal, I – infecção, F – fratura, M – mobilidade, Des – destruição, D – dor, NA – não apontada.

## Apêndice III

**Tabela 7.2.** Peso para cada dente estudado, antes (P1) e depois (P2) da queima, a 400°C e a 900°C. (P2-P1) refere-se à diferença entre as duas avaliações realizadas. ID – código de identificação do dente. Unidade de medida – grama (g).

400°C				900°C			
ID	P1 (g)	P2 (g)	$\left[ \left( 1 - \frac{P2}{P1} \right) * 100 \right]$	ID	P1 (g)	P2 (g)	$\left[ \left( 1 - \frac{P2}{P1} \right) * 100 \right]$
AA9a	0,45	0,35	22,22	AC18b	0,73	0,47	35,62
AE10b	0,53	0,42	20,75	AC25c	0,62	0,45	27,42
AE13a	1,68	1,38	17,86	AE23	2,02	0,39	80,69
AE13b	0,98	0,81	17,35	AG11	0,65	0,44	32,31
AE13d	1,57	1,27	19,11	B24c	1	0,69	31,00
B1a	0,42	0,34	19,05	E19	0,73	0,48	34,25
D15	1,04	0,83	20,19	E20a	0,7	0,52	25,71
E12	0,89	0,72	19,10	F4a	0,75	0,55	26,67
E21	0,43	0,33	23,26	H29a	0,97	0,89	8,25
F8	1,02	0,83	18,63	H41	1,19	0,82	31,09
H20b	0,49	0,38	22,45	H46b	1,15	0,77	33,04
H27	0,76	0,59	22,37	MD117b	1,49	1,02	31,54
H40	0,58	0,43	25,86	MD145	0,89	0,6	32,58
J19	1,27	0,98	22,83	MD17a	0,84	0,59	29,76
J5	0,43	0,34	20,93	MD35b	0,67	0,34	49,25
M6a	0,95	0,73	23,16	MD69	1,06	0,72	32,08
M6b	0,72	0,55	23,61	MD90	1,51	1,05	30,46
M7	0,45	0,34	24,44	N15	0,98	0,63	35,71
MD133	0,46	0,36	21,74	N16a	0,28	0,18	35,71
MD136b	0,35	0,26	25,71	N18a	1,17	0,84	28,21
N40a	0,57	0,42	26,32	N33b	0,23	0,14	39,13
N40b	0,58	0,43	25,86	N7	0,51	0,36	29,41
N5	0,29	0,28	3,45	O1b	0,88	0,72	18,18
N9a	0,35	0,26	25,71	P22	0,69	0,49	28,99
N9b	0,35	0,27	22,86	P2b	0,26	0,1	61,54
N9c	0,27	0,19	29,63	P6	0,73	0,46	36,99
P2a	0,18	0,18	0,00	P9	0,93	0,61	34,41
V7	1,29	1,05	18,60	T10b	0,59	0,4	32,20
X10a	1,06	0,85	19,81	X8c	0,59	0,42	28,81
X4	0,94	0,75	20,21	X9	0,54	0,38	29,63

**Tabela 7.3.** Altura máxima da raiz dos dentes em estudo, desde o ápice até à linha cimento-esmalte, antes (A1) e depois (A2) das queimas a 400°C e 900°C. ID – código de identificação do dente. Unidade de medida - milímetros (mm).

400°C				900°C			
ID	A1 (mm)	A2 (mm)	$\left[\left(1 - \frac{D2}{D1}\right) * 100\right]$	ID	A1 (mm)	A2 (mm)	$\left[\left(1 - \frac{D2}{D1}\right) * 100\right]$
AA9a	15,17	14,12	6,92	AC18b	13,34	12,56	5,85
AE10b	15,77	14,1	10,59	AC25c	14,37	13,52	5,92
AE13a	21,11	20,92	0,90	AE23	13,93	11,87	14,79
AE13b	18,34	17,35	5,40	AG11	12,6	11,15	11,51
AE13d	17,85	17,88	-0,17	B24c	18,08	12,32	31,86
B1a	12,02	11,98	0,33	E19	15,49	14,56	6,00
D15	16,6	17,26	-3,98	E20a	14,87	12,95	12,91
E12	14,71	13,08	11,08	F4a	14,7	12,97	11,77
E21	12,23	11,62	4,99	H29a	15	15,56	-3,73
F8	17,87	16,93	5,26	H41	17,75	14,39	18,93
H20b	14,56	14,85	-1,99	H46b	19,46	15,82	18,71
H27	14,31	14,64	-2,31	MD117b	16,98	15,22	10,37
H40	16,53	14,27	13,67	MD145	20,87	18,45	11,60
J19	20,82	19,01	8,69	MD17a	18,54	13,9	25,03
J5	17,71	12,49	29,47	MD35b	13,27	10,66	19,67
M6a	15,01	14,9	0,73	MD69	16,35	14,29	12,60
M6b	15,16	12,1	20,18	MD90	17,5	13,85	20,86
M7	14,4	15,7	-9,03	N15	19,66	14,66	25,43
MD133	13,66	13,28	2,78	N16a	11,9	10,94	8,07
MD136b	14,97	15,12	-1,00	N18a	16,49	11,31	31,41
N40a	14,5	15,79	-8,90	N33b	13,4	8,58	35,97
N40b	14,92	13,93	6,64	N7	14,29	12,23	14,42
N5	13,07	12,81	1,99	O1b	17,63	16,06	8,91
N9a	12,72	12,58	1,10	P22	15,71	14,85	5,47
N9b	12,78	12,49	2,27	P2b	9,58	8	16,49
N9c	10,95	10,64	1,70	P6	14,84	15,68	-5,66
P2a	12,38	12,17	-2,34	P9	16,1	14,38	10,68
V7	14,97	15,32	-10,77	T10b	12,54	10,07	19,70
X10a	14,85	16,45	0,74	X8c	14,78	12,47	15,63
X4	14,85	14,74	6,92	X9	16,67	12,36	25,85

**Tabela 7.4.** Diâmetro mesiodistal a meio da raiz de todos os dentes estudados, antes (D1) e depois (D2) das queimas a 400°C e 900°C. ID – código de identificação do dente. Unidade de medida – milímetros (mm).

400°C				900°C			
ID	D1 (mm)	D2 (mm)	$\left[\left(1 - \frac{D2}{D1}\right) * 100\right]$	ID	D1 (mm)	D2 (mm)	$\left[\left(1 - \frac{D2}{D1}\right) * 100\right]$
AA9a	2,38	2,49	-4,62	AC18b	3,86	3,34	13,47
AE10b	3,7	2,82	23,78	AC25c	2,65	2,39	9,81
AE13a	4,15	3,82	7,95	AE23	4,26	4,23	0,70
AE13b	3,59	3,47	3,34	AG11	3,76	3,21	14,63
AE13d	5,32	4,86	8,65	B24c	4,01	3,03	24,44
B1a	2,73	2,99	-9,52	E19	3,83	5,72	-49,35
D15	3,79	3,82	-0,79	E20a	2,52	2,39	5,16
E12	3,79	2,87	24,27	F4a	2,67	2,72	-1,87
E21	4,43	3,91	11,74	H29a	4,73	3,58	24,31
F8	3,81	3,64	4,46	H41	4,41	4,3	2,49
H20b	2,77	2,77	0,00	H46b	4,29	3,34	22,14
H27	3,35	3,25	2,99	MD117b	3,62	3,06	15,47
H40	3,68	2,6	29,35	MD145	3,99	3,62	9,27
J19	3,16	3,39	-7,28	MD17a	3,59	2,81	21,73
J5	2,18	2,2	-0,92	MD35b	2,82	2,47	12,41
M6a	4,36	4,38	-0,46	MD69	5,03	4,35	13,52
M6b	4,51	3,74	17,07	MD90	3,9	3,57	8,46
M7	2,31	2,54	-9,96	N15	3,8	4,01	-5,53
MD133	2,7	2,58	4,44	N16a	2,87	2,24	21,95
MD136b	2,67	2,78	-4,12	N18a	3,88	4,94	-27,32
N40a	2,65	2,89	-9,06	N33b	2,63	2,08	20,91
N40b	2,68	2,66	0,75	N7	3,03	3,08	-1,65
N5	3,29	3,19	3,04	O1b	3,84	3,21	16,41
N9a	2,32	2,34	-0,86	P22	2,18	2,49	-14,22
N9b	2,64	2,64	0,00	P2b	2,83	2,41	14,84
N9c	2,87	2,88	2,64	P6	2,27	2,48	-9,25
P2a	3,03	2,95	11,72	P9	4,22	4	5,21
V7	5,12	4,52	19,11	T10b	3,23	2,19	32,20
X10a	3,82	3,09	-2,80	X8c	2,95	2,44	17,29
X4	4,64	4,77	-4,62	X9	2,36	2,04	13,56

**Tabela 7.5.** Diâmetro bucolingual a meio da raiz de todos os dentes estudados, antes (D1) e depois (D2) das queimas a 400°C e 900°C. ID – código de identificação do dente. Unidade de medida – milímetros (mm).

400°C				900°C			
ID	D1 (mm)	D2 (mm)	$\left[\left(1 - \frac{D2}{D1}\right) * 100\right]$	ID	D1 (mm)	D2 (mm)	$\left[\left(1 - \frac{D2}{D1}\right) * 100\right]$
AA9a	5,29	5,41	-2,27	AC18b	5,3	4,84	8,68
AE10b	4,91	4,64	5,50	AC25c	5,44	4,73	13,05
AE13a	6,65	6,87	-3,31	AE23	5,03	3,67	27,04
AE13b	5,82	5,58	4,12	AG11	5,28	4,37	17,23
AE13d	5,94	5,51	7,24	B24c	6,03	4,87	19,24
B1a	5,3	5,35	-0,94	E19	6,5	3,5	46,15
D15	6,04	6,55	-8,44	E20a	5,09	4,1	19,45
E12	5,78	4,88	15,57	F4a	5,41	5,67	-4,81
E21	5,02	4,43	11,75	H29a	5,26	5,26	0,00
F8	6,33	5,73	9,48	H41	4,95	4,67	5,66
H20b	5,16	5,12	0,78	H46b	6,52	5,21	20,09
H27	4,99	4,96	0,60	MD117b	6,21	5,04	18,84
H40	5,38	4,94	8,18	MD145	7,51	6,62	11,85
J19	6,59	6,37	3,34	MD17a	5,45	4,57	16,15
J5	5,14	4,95	3,70	MD35b	5,27	4,47	15,18
M6a	5,26	5,27	-0,19	MD69	5,85	4,97	15,04
M6b	5,63	4,94	12,26	MD90	6,62	5,77	12,84
M7	4,91	5,14	-4,68	N15	6,83	5,01	26,65
MD133	4,63	4,41	4,75	N16a	4,61	4,4	4,56
MD136b	4,83	4,68	3,11	N18a	6,49	5,06	22,03
N40a	5,88	5,48	6,80	N33b	4,96	4,17	15,93
N40b	5,62	5,45	3,02	N7	3,61	3,89	-7,76
N5	4,71	4,98	-5,73	O1b	6,33	5,15	18,64
N9a	5,78	5,81	-0,52	P22	6,54	6,23	4,74
N9b	5,9	5,82	1,36	P2b	3,87	3,28	15,25
N9c	4,43	4,81	0,24	P6	5,53	5,59	-1,08
P2a	4,21	4,2	-4,16	P9	5,56	4,87	12,41
V7	5,29	5,51	7,58	T10b	5,92	5,16	12,84
X10a	6,33	5,85	0,81	X8c	5,2	4,6	11,54
X4	6,17	6,12	-2,27	X9	5,46	4,96	9,16

**Tabela 7.6.** Registo da escala de qualidade de observação e das contagens de linhas de incremento no grupo de dentes submetido a 400°C. ID – código de identificação do dente, F – feminino, M – masculino, IC – idade cronológica.

ID	Sexo	Dente	IC	Escala de Observação (0-2)				Contagens			
				Mesial	Distal	Bucal	Lingual	Mesial	Distal	Bucal	Lingual
AA9a	F	32	48	2	1	2	2	25	-	12	24
AE10b	M	12	56	2	2	1	2	31	24	-	22
AE13a	M	13	43	2	2	2	1	30	33	20	27
AE13b	M	12	43	2	2	2	2	18	17	17	16
AE13d	M	21	43	2	2	2	1	14	10	11	10
B1a	F	31	53	2	1	1	0	32	-	-	-
D15	F	23	22	2	2	1	1	34	24	-	-
E12	F	23	53	2	2	1	1	30	21	-	-
E21	M	12	57	0	2	1	1	-	14	-	-
F8	M	22	57	2	1	2	1	25	-	19	-
H20b	F	32	59	2	2	2	0	26	28	18	-
H27	F	12	60	2	1	0	1	19	-	-	-
H40	F	23	62	2	2	2	2	11	31	31	19
J19	F	43	49	2	1	1	2	27	-	-	32
J5	F	42	49	2	1	1	0	12	-	-	-
M6a	F	11	77	1	1	1	1	-	-	-	-
M6b	F	21	77	2	0	1	1	18	-	-	-
M7	M	31	61	2	2	0	2	13	17	-	14
MD133	M	41	48	2	1	1	1	15	-	-	-
MD136b	M	42	61	2	2	2	2	15	16	18	12
N40a	F	41	40	2	2	1	2	34	30	-	17
N40b	F	42	40	2	2	1	2	23	17	-	23
N5	F	23	47	1	2	2	1	-	11	18	-
N9a	M	31	33	1	2	1	2	-	16	13	11
N9b	M	32	33	2	1	2	1	32	-	16	-
N9c	M	33	33	0	0	0	0	-	-	-	-
P2a	M	21	66	2	1	1	2	32	-	10	13
V7	M	11	73	1	0	2	0	-	-	45	-
X10a	F	33	61	2	1	0	0	27	-	-	-
X4	F	21	69	1	1	1	1	-	-	-	-

**Nota:** 0 – sem cimento presente; 1 – cimento presente, mas linhas de incremento não visíveis ou, se visíveis, a sua contagem não é possível; 2 – cimento presente e a contagem das linhas de incremento é possível.

**Tabela 7.7.** Registo da escala de qualidade de observação e das contagens de linhas de incremento nos dentes queimados a 900°C. ID – código de identificação do dente, F – feminino, M – masculino, IC – idade cronológica.

ID	Sexo	Dente	IC	Escala de Observação (0-2)				Contagens			
				Mesial	Distal	Bucal	Lingual	Mesial	Distal	Bucal	Lingual
AC18b	F	22	61	2	1	2	2	25	-	29	21
AC25c	F	42	77	2	1	2	0	19	-	19	-
AE23	F	21	76	2	1	2	1	36	-	18	-
AG11	M	22	39	2	1	0	1	24	-	-	-
B24c	F	33	52	2	1	2	1	30	-	37	-
E19	F	33	73	2	2	1	2	39	24	-	22
E20a	F	41	48	1	2	1	2	-	11	-	31
F4a	M	43	78	2	2	1	2	45	36	-	28
H29a	M	21	61	2	1	2	2	31	-	28	-39
H41	M	11	55	2	2	1	2	19	21	-	18
H46b	M	43	61	2	2	2	2	42	26	42	37
MD117a	M	12	57	2	2	0	1	37	24	-	15
MD117b	M	13	57	1	1	2	2	-	-	24	21
MD145	M	12	65	1	2	2	1	-	33	23	-
MD35b	M	32	62	2	2	1	2	55	28	-	27
MD69	F	11	82	2	2	1	2	18	17	-	21
MD90	M	13	61	2	2	2	2	49	42	37	42
N15	M	23	43	1	1	1	1	-	-	-	-
N16a	F	31	88	1	2	2	1	-	38	31	-
N18a	F	33	37	2	1	1	1	23	-	-	-
N33b	F	42	88	2	2	1	0	53	29	-	-
N7	F	12	54	1	1	1	1	-	-	-	-
O1b	F	23	64	2	2	2	2	23	22	18	22
P22	F	32	73	2	2	1	1	29	33	-	-
P2b	M	12	66	1	2	1	2	-	25	-	18
P6	F	41	75	2	2	2	2	16	21	16	15
P9	F	21	67	2	2	1	2	26	22	-	22
T10b	M	31	62	2	2	2	2	31	25	23	20
X8c	M	42	78	2	2	1	0	43	42	-	-
X9	F	42	48	2	1	1	2	24	-	-	28

**Nota:** 0 – sem cimento presente; 1 – cimento presente, mas linhas de incremento não visíveis ou, se visíveis, a sua contagem não é possível; 2 – cimento presente e a contagem das linhas de incremento é possível.

**Tabela 7.8.** Registo das medições realizadas para a extrapolação do número de linhas de incremento em dentes queimados a 400°C. ID – código de identificação do dente, F – feminino, M – masculino, IC- idade cronológica (anos); L – espaço ocupado por duas linhas de incremento (mm); C – comprimento total do cimento, desde a barreira dentina/cimento até à fronteira externa (mm); Nle – número de linhas extrapolado.

ID	Sexo	Dente	IC (anos)	Medições		Nle
				L (mm)	C (mm)	(2×C)/L
AA9a	F	32	48	0,0034	0,0719	42,3
AE10b	M	12	56	0,003	0,1081	72,1
AE13a	M	13	43	0,0048	0,084	35,0
AE13b	M	12	43	0,0028	0,0448	32,0
B1a	F	31	53	0,0026	0,0432	33,2
D15	F	23	22	0,0035	0,1293	73,9
E12	F	23	53	0,0121	0,4977	82,3
E21	M	12	57	0,0037	0,0607	32,8
H20b	F	32	59	0,0025	0,1414	113,1
H27	F	12	60	0,0025	0,0531	42,5
J19	F	43	49	0,0021	0,0273	26,0
J5	F	42	49	0,0032	0,1028	64,3
MD133	M	41	48	0,0031	0,0647	41,7
MD136b	M	42	61	0,0039	0,0754	38,7
N40a	F	41	40	0,0033	0,0861	52,2
N40b	F	42	40	0,0026	0,0739	56,8
N5	F	23	47	0,0028	0,0523	37,4
N9a	M	31	33	0,0035	0,0478	27,3
P2a	M	21	66	0,0056	0,1248	44,6
V7	M	11	73	0,0035	0,1271	72,6
X10a	F	33	61	0,0028	0,0795	56,8
X4	F	21	69	0,003	0,0975	65,0

**Tabela 7.9.** Registro das medições realizadas para a extrapolação do número de linhas de incremento em dentes queimados a 900°C. IC- Idade cronológica (anos); L – espaço ocupado por duas linhas de incremento (mm); C – comprimento total do cimento, desde a barreira dentina/cimento até à fronteira externa (mm); Nle – número de linhas extrapolado. ID – código de identificação do dente; F – feminino, M – masculino.

ID	Sexo	Dente	IC (anos)	Medições		Nle
				L (mm)	C (mm)	(2×C)/L
AC18b	F	22	61	0,0027	0,096	70,8
AC25c	F	42	77	0,003	0,069	45,9
AE23	F	21	76	0,0028	0,118	84,3
AG11	M	22	39	0,0028	0,068	48,5
B24c	F	33	52	0,0027	0,108	80,1
E20a	F	41	48	0,0035	0,064	36,3
F4a	M	43	78	0,0036	0,120	66,8
H29a	M	21	61	0,002	0,079	79,0
H41	M	11	55	0,0028	0,090	64,2
H46b	M	43	61	0,0054	0,141	52,1
MD117a	M	12	57	0,0035	0,092	52,4
MD117b	M	13	57	0,0039	0,105	53,9
MD145	M	12	65	0,0044	0,121	55,0
MD35b	M	32	62	0,0041	0,162	78,9
MD69	F	11	82	0,0003	0,010	64,0
MD90	M	13	61	0,0038	0,150	78,8
N15	M	23	43	0,0027	0,079	58,7
N18a	F	33	37	0,003	0,055	36,9
N33b	F	42	88	0,0048	0,176	73,5
O1b	F	23	64	0,0037	0,089	48,1
P2b	M	12	66	0,0028	0,101	72,1
P6	F	41	75	0,0022	0,066	60,3
P9	F	21	67	0,0034	0,097	56,9
P22	F	32	73	0,0047	0,111	47,2
T10b	M	31	62	0,0037	0,114	61,4
X8c	M	42	78	0,0054	0,192	71,2
X9	F	42	48	0,0032	0,095	59,1

**Tabela 7.10.** Medições realizadas em dentes queimados a 400°C para avaliar a espessura da dentina (D), do cimento (C) e do conjunto dos dois (Total) e calculo das percentagens de dentina, cimento e da percentagem dentina/cimento. ID – código de identificação do dente, F – feminino, M – masculino, IC – idade cronológica.

ID	Sexo	Dente	IC	Medições			%		
				Total (mm)	D (mm)	C (mm)	(D*100)/Total	(C*100)/Total	(D/C)*100
H20b	F	32	59	1,083	0,996	0,087	92,0	8,0	8,7
H40	F	23	62	1,41	1,089	0,308	77,2	21,8	28,3
J19	F	43	49	1,46	1,189	0,137	81,4	9,4	11,5
M6b	F	21	77	2,206	2,08	0,102	94,3	4,6	4,9
M7	M	31	61	1,17	1,137	0,047	97,2	4,0	4,1
MD133	M	41	48	1,237	0,97	0,145	78,4	11,7	14,9
MD136b	M	42	61	1,305	1,215	0,083	93,1	6,4	6,8
N5	F	23	47	1,204	1,079	0,096	93,4	5,5	8,9
N9a	M	31	33	1,424	1,35	0,082	94,6	7,0	6,1
N9b	M	32	33	1,128	1,054	0,062	87,5	5,6	5,9
N40a	F	41	40	1,251	1,184	0,088	89,6	8,0	7,4
N40b	F	42	40	1,212	1,06	0,068	94,8	5,8	6,4
P2a	M	21	66	1,143	1,037	0,087	90,7	7,6	8,4
V7	M	11	73	1,924	1,883	0,086	96,0	5,6	5,9
X10	F	33	61	1,866	1,795	0,105	99,1	13,4	13,5

**Tabela 7.11.** Medições realizadas em dentes queimados a 900°C para averiguar a espessura da dentina (D), do cimento (C) e do conjunto dos dois (Total) e calculo das percentagens de dentina, cimento e da percentagem dentina/cimento. ID – código de identificação do dente, F – feminino, M – masculino, IC – idade cronológica.

ID	Sexo	Dente	IC	Medições			%		
				Total (mm)	D (mm)	C (mm)	(D*100)/Total	(C*100)/Total	(D/C)*100
AC18b	F	22	61	1,424	1,283	0,087	90,1	6,1	6,8
AC25c	F	42	77	1,146	1,104	0,047	96,3	4,1	4,3
AE23	F	21	76	1,481	1,294	0,185	87,4	12,5	14,3
B24c	F	33	52	1,1	0,964	0,152	87,6	13,8	15,8
E19	F	33	73	1,619	1,277	0,261	78,9	16,1	20,4
E20a	F	41	48	1,032	0,895	0,094	86,7	9,1	10,5
H29a	M	21	61	1,376	1,3	0,081	94,5	5,9	6,2
H41	M	11	55	1,705	1,609	0,096	94,4	5,6	6,0
H46b	M	43	61	1,455	1,281	0,169	88,0	11,6	13,2
MD117a	M	12	57	1,223	1,14	0,102	93,2	8,3	8,9
MD117b	M	13	57	1,267	1,146	0,113	90,4	8,9	9,9
MD145	M	12	65	1,404	1,265	0,131	90,1	9,3	10,4
N15	M	23	43	1,532	1,462	0,08	95,4	5,2	5,5
N16a	F	31	88	0,819	0,593	0,219	72,4	26,7	36,9