

Valoración de los cambios histológicos pulpaes para la determinación de la data de la muerte



Caballín García, A.

Doctor en Medicina
Licenciado en Odontología
Profesor de Odontología Legal y Forense de la Universidad Rey Juan Carlos de Madrid
Residente de la Escuela de Medicina Legal de la Universidad Complutense de Madrid

Peréa Pérez, B.

Profesor Titular Medicina Legal y Forense de la Universidad Complutense de Madrid. Vocal de Ética y Odontología Legal de la Comisión Científica del Colegio de Odontólogos y Estomatólogos de la I Región. Miembro de la Comisión Científica y de Investigación del Colegio de Médicos de Madrid.

de Agustín Vázquez, D.

Doctor en Medicina por la Universidad Complutense de Madrid. Especialista en Anatomía Patológica. Profesor de Clínica Integrada, San Pablo CEU.

Sánchez Sánchez, J.A.

Director de la Escuela de Medicina Legal de la Universidad Complutense de Madrid. Profesor titular del Departamento de Toxicología y Legislación Sanitaria y director del Laboratorio de Antropología Forense (UCM).

Indexada en / Indexed in:

- IME.
- IBECIS.
- LATINDEX.
- GOOGLE ACADÉMICO.

Correspondencia:
e-mail: armando.caballin@urjc.es

CABALLÍN, A.; PERÉA, B.; DE AGUSTÍN, D.; SÁNCHEZ, J.A. Valoración de los cambios histológicos pulpaes para la determinación de la data de la muerte. *Cient Dent* 2010;7;1:9-13.

RESUMEN

La determinación de la data de la muerte es un problema fundamental en la medicina forense necesaria para esclarecer las circunstancias que rodearon a este acontecimiento. Existen numerosos métodos macroscópicos y microscópicos de distinta fiabilidad para intentar aproximarse a esa data.

En este artículo se propone una metodología basada en los cambios histológicos pulpaes postmortem. Para ello se estudiarán las variaciones tisulares acontecidas en la cámara pulpar de 122 dientes polirradiculares vitales tras la interrupción del flujo sanguíneo, en diversos intervalos de tiempo. Asumimos que debido a que los tejidos pulpaes se encuentran separados del resto de tejidos orgánicos por la dentina, su proceso de cambio postmortem sería similar al producido tras la interrupción del flujo sanguíneo. Los dientes tras ser exodonciados y prefijados, fueron preparados para la observación microscópica convencional (corte, fijación y tinción).

Como principales resultados observamos una pérdida gradual del parénquima pulpar y de su organización, en función del tiempo transcurrido (horas, días, semanas). La variación estructural de la sustancia orgánica de la cámara pulpar ha demostrado ser un elemento útil para la determinación valoración de la data de la muerte durante el primer intervalo postmortal.

Assessment of changes in dental pulp tissue in order to determine the time of death

ABSTRACT

The determination of the time of death is a fundamental problem in forensic medicine and something that is required in order to clarify the circumstances surrounding a death. Many macroscopic and microscopic methods – some more reliable than others – are used to estimate this time. This article proposes a methodology based on post-mortem changes in dental pulp tissue. Variations in the tissue within the pulp chamber of 122 multi-rooted teeth after the blood flow had stopped were analysed at different time intervals. We assumed that because the pulp tissue is separated from other body tissues by the dentine, the post-mortem change process would be similar to that which occurs after the blood flow stops. After being extracted and prefixed, the teeth were prepared for conventional microscopic observation (sectioning, fixing and staining).

The main results observed were a gradual loss of the pulp parenchyma and its organisation, in accordance with the amount of time that elapsed (hours, days, weeks). The structural variation in the organic substance of the pulp chamber proved to be a useful element for determining the time of death during the first post-mortem interval.

PALABRAS CLAVE

Data; Pulpa; Forense; Necrosis.ósea..

KEY WORDS

Time; Pulp; Forensic; Necrosis.



INTRODUCCIÓN

La determinación de la data de la muerte está íntimamente ligada a la medicina legal y en consecuencia, a la odontología legal y forense, siendo fundamental en cuestiones como: el estudio de los mecanismos de la muerte y las circunstancias que la rodearon, el orden de la muerte en problemas de herederos, etc.^{1,2}

La determinación de la misma ha sido ampliamente estudiada por numerosos autores basándose en las alteraciones corporales que ocurren en los diferentes momentos posteriores a la muerte. Estas alteraciones corporales se podrían clasificar en macroscópicas, microscópicas y bioquímicas. Son criterios macroscópicos la variación de la temperatura corporal, el estado de contracción pupilar, los intervalos de rigidez post mortal y putrefactivos, entre otros.¹

Los criterios microscópicos incluyen los fenómenos autolíticos celulares y la degeneración de microestructuras tisulares. Por último los criterios bioquímicos, incluirían variaciones en la composición química, intracelulares y extracelulares.²

Todos estos factores, a su vez, se ven influenciados por los agentes ambientales externos como son la temperatura ambiente, el grado de humedad y la composición del terreno.^{1,3}

Los trabajos sobre determinación de la data de la muerte basándose en estudios dentarios son escasísimos, a pesar de la importancia de la odontología forense dentro de la medicina legal.

Existen estudios para la determinación de la edad en el individuo vivo o en restos cadavéricos mediante el estudio de la erupción dentaria o en los cambios posteruptivos. En cambio, las modificaciones postmortem, tanto macroscópicas como microscópicas, que ocurren en el diente no han sido apenas estudiadas. Merece ser destacado el magnífico trabajo del Dr. F. Calatayud Carral realizado en la UCM en 1944.⁴ En este trabajo de investigación se valoró la sustancia orgánica de la cámara pulpar y la desaparición de la misma con el paso del tiempo y su relación con la cronotanatología. Para ello usó la luz de Wood (rayos ultravioleta) sobre cortes dentales que englobasen la sustancia pulpar. Entre sus conclusiones, destacó que no existen rastros de materia orgánica pulpar a partir de los dieciocho años.

Existen algunos trabajos que estudian la irrigación pulpar como los de Suarez Núñez *et col.* en 1965,⁵ Schnettler *et col.* en 1991⁶ y Gopikrishna *et col.* en el año 2007⁷ y estudios experimentales en monos respecto a la degeneración pulpar debida a la aterosclerosis vascular por Krell *et col.* en 1994⁸ y la necrosis del tejido pulpar, inducida en perros y monos, mediante la aplicación de laser de CO₂, Melcer *et col.*, 1985.⁹

El tejido pulpar es, básicamente, mesenquimatoso. Podemos distinguir la pulpa coronal situada en la cámara pulpar y la pulpa radicular. El tejido pulpar está compuesto, por cuatro zonas de fuera a dentro. La más externa es de células odontoblasticas, en íntima relación con la dentina. Más internamente existe una zona acelular formada por fibrillas de tejido conjuntivo (capa basal de Weil). Por debajo de esta hay una zona de alta densidad celular compuesto por células diferenciadas (odontoblastos), e indiferenciadas (fibroblastos, macrófagos, linfocitos, células inflamatorias y otras en relación con el paquete vasculonervioso). Todas ellas se hallan inmersas en la sustancia fundamental que junto a las fibras colágenas forman el espacio extracelular. Por último, en la cuarta zona, la más interna, encontramos el sistema vasculonervioso que nutre e inerva la pulpa, siendo de gran interés por su papel antes y después del cese del flujo sanguíneo tras la muerte.² La primera capa de este complejo dentino-pulpar está formada por los odontoblastos que se sitúan en la periferia pulpar formando en la zona coronal de la pulpa empalizadas de 3 a 5 odontoblastos. Estos presentan prolongaciones citoplásmicas que se introducen en el espesor dentinario (45000/mm²) y son menores a nivel de la pulpa radicular.² En la zona coronal los odontoblastos son mayores que en la zona de la raíz y con aspecto cilíndrico, en contraste de los de la zona apical que presentan una forma más aplanada.² Aunque la materia orgánica del tejido pulpar está especialmente protegida por estructuras muy resistentes que la separan del resto del organismo casi por completo, a excepción del foramen apical por donde se introduce el paquete vasculonervioso. Con el cese de la irrigación sanguínea se van a producir cambios en el tejido pulpar general y en la empalizada de odontoblastos. Esta separación hace que los fenómenos putrefactivos del resto del organismo incidan de forma diferente en el tejido pulpar.²

El objetivo del presente trabajo es el estudio de los cambios tisulares que se producen en el tejido presente en la cámara pulpar tras la interrupción del flujo sanguíneo. En base a estos cambios histológicos se propondrán intervalos de tiempos transcurridos desde dicha interrupción que suelen coincidir, en medicina forense, con la data de la muerte.

MATERIAL Y MÉTODO

A. MATERIAL

La muestra estaba compuesta por 179 dientes multiradiculares no erupcionados o parcialmente erupcionados. Todos pertenecían a pacientes atendidos en el servicio de Maxilofacial del Hospital Gregorio Marañón de Madrid.



Los criterios de inclusión fueron que las piezas dentales estuviesen completas, sin patología previa y que fuesen terceros molares que no hubiesen entrado en oclusión y estuviesen perfectamente definidos topográficamente. Hubo que rechazar 55 dientes por presentar patología previa (caries, procesos periodontales, etc.) o rotura del mismo, durante el procedimiento quirúrgico, así como defectos de fijación en los cortes histológicos. De los dientes obtenidos (122), 80 pertenecen a mujeres y 42 a hombres. El rango de edad oscila entre los 16 y 64 años.

Además de los dientes se utilizaron los siguientes materiales que se exponen a continuación:

- Recipiente estéril.
- Líquido fijador y decalcificante *SURGIPATH*[®].
- Registro fichas clasificatorias de las extracciones dentales (hora y fecha de extracción y de fijación, localización, sexo y edad).
- Rotulador para marcar los botes estériles.
- Parafina de 60°.
- Microtomo convencional de 4 a 6 micras de espesor.
- Tinciones de hematoxilina/ eosina y tricrómico de Masson.
- Portas de cristal.
- Microscopio óptico.

B. MÉTODO

Cada uno de los dientes fue introducido en un recipiente estéril durante un tiempo variable, días (entre uno y siete días), semanas (de una a cuatro), o meses (dos o tres), antes de incluirlos en el líquido fijador correspondiente.

Cada recipiente se le consignó un número de identificación que se registró en una ficha con los datos del número de la pieza dental, la hora de la exodoncia, el sexo y edad del paciente y la hora de fijación del diente.

La fijación se realizó en líquido fijador/decalcificante[®], donde se mantuvo entre dos y cuatro meses, antes de su tallado para realizar el bloque de parafina. El tallado se practicó mediante un corte axial de la pieza correspondiente. Se realizó inclusión en parafina de 60° y posteriormente cortes con microtomo convencional de 4 a 6 micras de espesor.

Para su observación inicial mediante microscopio óptico se realizaron dos tinciones: hematoxilina/eosina y tricrómico de Masson. Este estudio consistió, inicialmente, en la valoración del tejido de la cámara pulpar en las preparaciones histológicas. Los cortes obtenidos mostraban la estructura dental con la cámara pulpar bordeada por dentina (complejo pulpodentinario). En esta fase se estudió la relación pulpo-dentinaria y la línea odontoblástica, mediante el re-

conocimiento de puentes de conexión entre la pulpa y la dentina y la observación de las células odontoblásticas.

RESULTADOS

La pulpa normal (Fig. 1) presenta un estroma de tejido conjuntivo, vasos y células. Dentro de los elementos celulares podemos visualizar los odontoblastos en empalizada situados en el borde interno de la dentina y sus prolongaciones citoplásmicas introduciéndose en el tejido dentinario. Hay por tanto una íntima conexión entre la pulpa y la dentina que posteriormente será objeto de observación en nuestro trabajo.

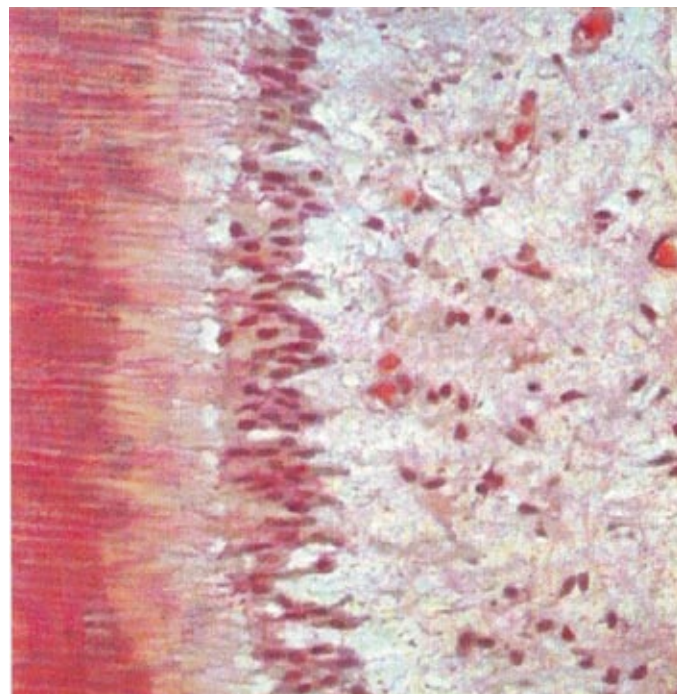


Figura 1. Pulpa dental normal.

El estudio al microscopio óptico de las 122 piezas válidas arrojó las siguientes conclusiones:

A nivel celular pudimos observar que los cuerpos celulares de los odontoblastos que se alinean a lo largo del borde dentinario interno, formando el límite periférico de la pulpa dentaria, sufrían cambios con el transcurso del tiempo desde la extracción de la pieza dentaria hasta su fijación en un líquido fijador/decalcificante. Dichas alteraciones se pueden resumir en:

- agrupación de las células odontoblásticas.
- despegamiento de los odontoblastos de la dentina.
- aparición de espacios claros como consecuencia de la agrupación de los odontoblastos.

A nivel del estroma pulpar constatamos que con el transcurso de los días objetivamos alteraciones como:



- condensaciones que tienen como consecuencia la aparición de espacios claros (ausencia de conectivo pulpar).
- rarefacción tintorial del tejido pulpar, entendiéndose como rarefacción como la disminución de la densidad de dicho tejido por atrofia o resorción.

Podemos decir que visualizamos dichos cambios con el microscopio óptico, predominando unos sobre otros según el tiempo transcurrido desde el día de la exodoncia de la pieza dental.

En un período de tiempo comprendido entre las 24 horas a 72 horas los cambios predominantes a nivel celular incluía la agrupación de los odontoblastos con la aparición de espacios claros entre los mismos junto con una condensación pulpar manifiesta. (Fig. 2).

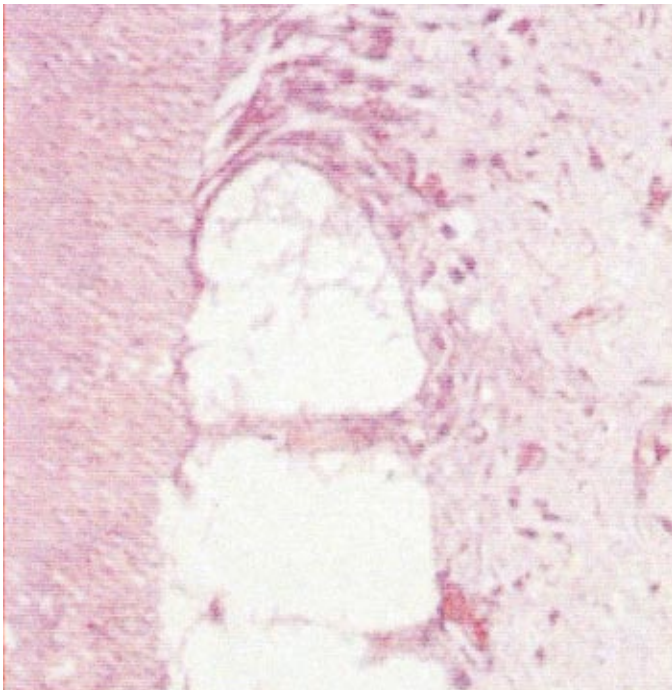


Figura 2. Pulpa de 24-72 horas.

En un segundo período de tiempo que abarcaría del 3º día al 6º los odontoblastos comenzarían a despegarse del límite interno de la dentina combinado con la desaparición de parte del estroma pulpar produciéndose la existencia de grandes espacios. (Fig. 3).

Y es a partir de la semana, tercer periodo de tiempo estudiado, cuando los componentes celulares prácticamente han desaparecido y se aprecia una gran rarefacción y degeneración de todo el tejido pulpar (Fig. 4).

DISCUSIÓN

En la bibliografía consultada tan sólo el trabajo del Dr. Calatayud Carral hace un estudio de la valoración del estroma

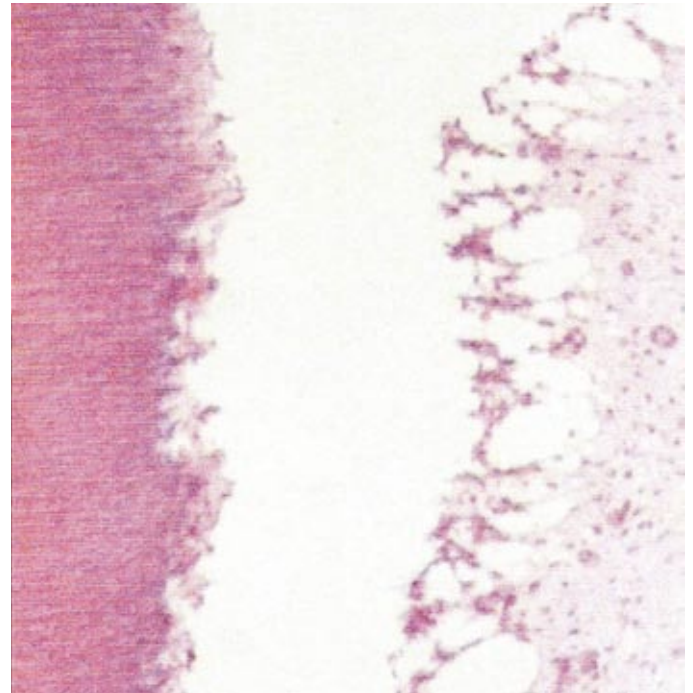


Figura 3. Pulpa del 3º al 6º día.

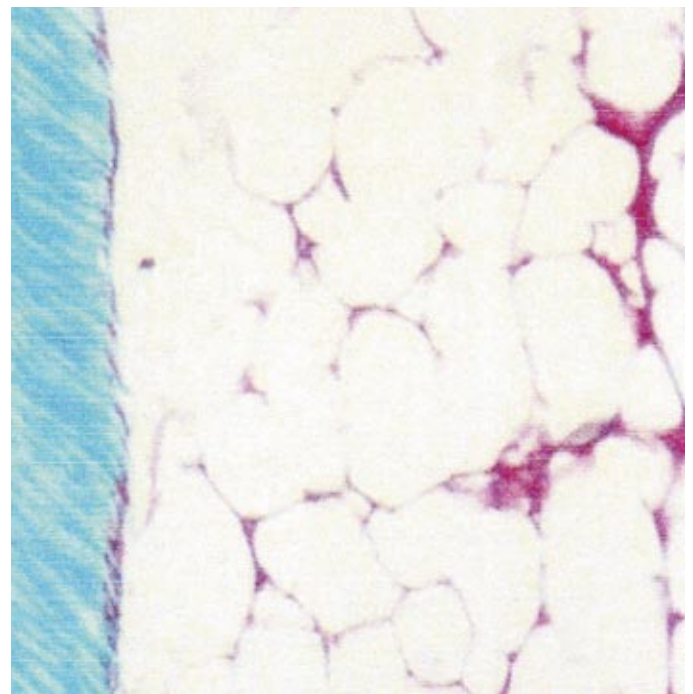


Figura 4. Pulpa a partir de la semana

pulpar en relación con la cronotanatología mediante la utilización de la luz de Wood aplicada a cortes dentales y su desaparición con el trascurso del tiempo y por tanto de la data. Desde luego ese trabajo se refería tiempos largos (meses y años) sin considerar la posibilidad de una valoración de la data más reciente con métodos más perfeccionados



gracias al avance de la histología anatomopatológica (métodos de tinción y aparatología).

El procedimiento utilizado presenta algunos problemas como el procesado de las muestras, las elecciones de los cortes ideales, posibles lesiones intrínsecas no detectables, dificultades de obtención de las piezas dentales en un estado óptimo así como otros problemas asociados a la recogida del material que compone la muestra.

Dicha muestra estaba compuesta por terceros molares no erupcionados. Al no estar erupcionados, no estaban sometidos a factores fisiológico-patológicos como el resto de las piezas dentales bucales. Esto eliminaba factores alteradores del objeto del estudio: La cámara pulpar y sus cambios tras la interrupción sanguínea.

Además, no debemos olvidarnos de las condiciones generales del sujeto como son la edad, alimentación, enfermedades sistémicas y patologías previas, así como particularidades de la técnica de extracción, técnica de corte y tinción, registros incompletos de la cámara pulpar, errores humanos en la datación de las exodoncias, etc. En este trabajo de investigación nos hemos encontrado con numerosos problemas en la recogida y procesado de las muestras, siendo los terceros molares no erupcionados los dientes que más seguridad nos daban para el estudio de la data de la muerte. El motivo no es otro que al no estar erupcionados, no presentaban las alteraciones pulpares de un diente en boca que se ve sometida a fuerzas fisiológicas (desgastes), patológicas (bruxismo, caries, enfermedad periodontal, etc.) que afectan directa o indirectamente a la pulpa invalidando nuestro estudio sobre las modificaciones que acontecen en el tejido pulpar tras la muerte del sujeto. Es por ello, que nuestros futuros trabajos las piezas utilizadas deben ser dientes no erupcionados sin afectación pulpar para poder objetivar los cambios a nivel del tejido blando del diente, sin excluir la posibilidad de abordar el estudio comparativo de piezas erupcionadas, aunque parece evidente el centrarnos inicialmente en dientes sin alteración pulpar para el co-

nocimiento previo de los cambios que ocurren en un diente con la pulpa íntegra y sin afectaciones.

Por otra parte, aunque el tamaño de la muestra es suficiente para la realización de un estudio pormenorizado, hay que tener en cuenta otros factores que pueden influir en este estudio:

Generales: la edad del individuo, enfermedades previas, alimentación, enfermedades sistémicas, etc.

Particulares: técnicas de extracción, recogida de muestras, técnica de corte y de tinción, así como la falta de registro de la cámara pulpar completa etc.

Por tanto este estudio debe considerarse como el comienzo y base para establecer otros trabajos posteriores que nos ayuden a delimitar con más precisión los cambios que acontecen en el diente y su relación con la data.

CONCLUSIONES

1. Se puede realizar una sistemática para valorar los cambios pulpares tras la interrupción del aporte sanguíneo.
2. Las alteraciones histológicas, hasta el día 7, dependiente de la interrupción del flujo sanguíneo **son susceptibles** de estudio histológico con el fin de establecer un intervalo probable de la data de la muerte del sujeto. Se aprecian cambios claros en periodos comprendidos entre 24 a 72 horas, 3º a 6º día y más de una semana
3. Son evidentes las dificultades que entraña este método debido tanto a factores exógenos como particulares.
4. El uso de terceros molares incluidos excluye factores distorsionadores fisiopatológicos que acontecen en el resto de los dientes erupcionados.

AGRADECIMIENTOS

A los profesores del Departamento de Medicina Legal de la Universidad Complutense que siempre me hacen sentirme respaldado, y a la Universidad Rey Juan Carlos, que me ha dado la oportunidad de cumplir un sueño: la docencia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Villanueva Cañadas E. *Data de la muerte y otros problemas tanatológicos médico-legales*. En Gisbert Calabuig, Medicina Legal y Toxicología. 6ª ed. Barcelona: Ed. Masson; 2005. p. 243-52.
2. Ten Cate AR. *Histología oral. Desarrollo, estructura y función*. 2ª ed. Buenos Aires: ed. Panamericana; 1986. P. 473-528
3. Moya V, Roldán B, Sánchez JA. *Odontología Legal y Forense*. Barcelona: ed. Masson; 1994.
4. Carral C. *Evolución de los fenómenos de putrefac-*

- ción en la cámara pulpar en relación con la cronotanatología [tesis doctoral]*. Madrid: Universidad Complutense de Madrid, facultad de medicina; 1944.
5. Suarez Núñez JM. *Las arterias terminales de la pulpa dentaria*. An Esp Odontostomatol. 1965;24: 181-5.
6. Schnettler JM, Wallace JA. *Pulse oximetry as diagnostic tool of pulpal vitality*. J Endod. 1991; 17(10) 488-40.
7. Gopikrishna V, Kushi T, Deivanayaj K. *Evaluation of efficacy of a new custom-made pulse oximeter dental probe in comparison with the electrical and*

- thermal test for assessing pulp vitality*. J Endod. 2007; 33(4) 411-14.
8. Krell KV, Mc Murtney L, Walton RE. *Vasculature of dental pulp of atherosclerotic monkeys: light and electron microscopic findings*. J Endod. 1994; 20 (10); 469-73.
9. Melcer J, Chaumette MT, Melcer F, Zeboulon S. *Experimental research on the preparation of dentin-pulp tissue of teeth exposed to CO2 laser beams in dogs and macaques (macaca mulatta and macaca fascicularis)*. CR Seances Soc. Biol. Fil. 1985; 179(5). 577-85.