01461

Zg.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE . MÉXICO



Vniversdad Nacional AvPnyma de Mexico

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION E INSTITUTO DE FISICA

ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN Y ESTRUCTURA DEL ESMALTE Y LA UNIÓN AMELODENTINARIA EN DIENTES HUMANOS

TESIS

QUE PRESENTA EL CIRUJANO DENTISTA

ZAMORA MONTES DE OCA, CARLOS EDUARDO

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRIA EN ODONTOLOGIA

DIRECTOR: DR. JOSE REYES GASGA

MÉXICO D.F.

1998

270620

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Cualquier tésis no publicada postulada para el grado de Maestría y depositada en la biblioteca de la Universidad, Facultad de Odontología, queda abierta para inspección, y solo podrá ser usada con la debida autorización. Las referencias bibliográficas pueden ser tomadas, pero ser copiadas solo con el permiso del autor y el crédito se da posteriormente a la escritura y publicación del trabajo.

Esta tésis ha sido utilizada por las siguientes personas, que firman y aceptan las restricciones señaladas.

La biblioteca que presta esta tésis deberá asegurarse de recoger la firma de cada persona que la utilice.

NOMBRE Y DIRECCIÓN

FECHA

ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN Y ESTRUCTURA DEL ESMALTE Y LA UNIÓN AMELODENTINARIA EN DIENTES HUMANOS

APROBADO POR:

Dr. Manuel Saavedra Garcia

Dr. Miguel Angel Araiza

M. O. Arcelia Melendez

Dr. José Reyes Gasga

Asesor

Asesor

Director

Asesor

RECONOCIMIENTOS

INSTITUTO DE FÍSICA.

Mi más sincero agradecimiento al Dr. en Fis. José Reyes Gasga, por el gran empeño, cuidado e interés que dedica a todos y cada uno de sus alumnos.

Agradezco a Roberto Hernandez (IFUNAM), Pedro Mexía (IFUNAM), Carlos Flores (IFUNAM), Samuel Tehuacanero (IFUNAM), Jacqueline Cañetas (IFUNAM), Rebeca Trejo (IFUNAM), Cristina Zorrilla (IFUNAM), Felipe Juarez (ININ), Leticia Carapia (ININ), Francisco Solorio (IIM-UMSNH) Por el apoyo técnico que me brindaron para la realizacion de esta tesis.

A la M en C. Maria Eugenia Contreras (IIM-UMSNH), M en C. Sandra Bribiesca (IIM-UMSNH), M en C. Jesus Arenas (ININ) por permitirme utilizar sus equipos.

DEDICATORIAS

Al Amor de mi vida, Nancy pues con su ternura hace de mi vida un sueño.

A Angélica

Porque a cada paso entreteje dulzura.

A mis padres

Por haberme dado este loco deseo de creer en lo que estoy haciendo.

A la mamis, mi abuela

La que siempre ha estado ahí.

A mis hermanos

Por estar siempre presentes.

ÍNDICE

ć

INTRODUCCIÓN				
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA				
OBJETIVOS	4			
HIPOTESIS	5			
JUSTIFICACION				
CAPITULO I				
Microscopía electrónica, Análisis por rayos X y conceptos basicos	8			
1.1 Microscopia Electronica	8			
1.2 Microscopio Electronico de Transmision	9			
1.3 Rayos X Caracteristicos	12			
1.4 Analisis Cuantitativo con Rayos X Caracteristicos	13			
1.5 Sistemas Cristalinos	14			
1.6 Microdureza				
CAPITULO II				
Caracteristicas quimicas y ultraestructurales del esmalte				
2.1 Esmalte	17			
Composisicion Química	18			
Estructura	20			
1. Prismas	20			
2.Penachos	21			
3. Microestructura	22			

4. Vainas	24		
5. Estriaciones			
6. Sustancia Interprismatica			
7. Dirección de los prismas	26		
Ultraestructura del esmalte	29		
Línea Obscurá	33		
2.2 Dentina	36		
Estructura de la dentina			
Odontoblastos			
Túbulos dentinarios	38		
Dentina peritubular			
Dentina intertubular			
Predentina			
2.3 Unión Amelodentinaria			
CAPITULO III			
Procedimiento Experimental			

3.1 Material y método	44
Corte y pulido de la muestra	45
Preparacion de muestras MEB	46
Preparacion de muestras MET	47
Análisis químico por espectroscopía de energía de los rayos X	
característicos (EDS)	49

١

3.2 Universo de trabajo	50
3.3 Tipo y tamaño de la muestra	50
3.4 Criterios de Inclusión	51
3.5 Criterios de Exclusión	51
3.6 Variable Independiente	51
3.7 Variable Dependiente	52

CAPITULO IV

÷

Resultados

4.1 Microscopía óptica	53
4.2 Microscopía electrónica de barrido	59
4.3 Microscopía electrónica de transmisión	67
4.4 Microdureza	69
4.5 Análisis químico	78

CAPITULO V

Discusion5.1 Microscopía óptica y electrónica1015.2 Análisis Químico1035.3 Microdureza104Conclusiones106Bibliografia108

ABSTRACT

Enamel is a highly mineralized tissue consisting mainly of inorganic material (96% hydroxyapatite) and only a small amount of organic material and water (4%). The structural formula of the Hydroxyapatite is represented as $[Ca_{10} (Po_4)_6 (OH)_2]$, and it shows an hexagonal net. Its unit cell can generate a series of large crystals by a repetition of crystals along its axes. Enamel composition can be shown by an energy dispersion spectomery, which analyzes the X ray from the sample once they have been bombarded by an electron beam. This energy is unique for each element, so we can easily classify all the elements of the sample. The prismatic arrangement can be determined by means of scanning electron microscopy. Some studies ⁽³⁻⁴⁻⁵⁾ have reported that crystals showed a ribbon-like shape. Several studies ⁽⁶⁻¹⁰⁾ demonstrate that hydroxyapatite showed a hexagonal form. Some others ⁽¹¹⁻¹³⁾ have also observed a dark line within the crystals.

According to some enamel structural studies ⁽¹⁴⁾ enamel didn't show the same features all along its width. Its composition changes according to the area from which the sample is taken (surface; dentin enamel junction DEJ). The enamel can be different both chemically and structurally on its surface than in the dentin-enamel junction.

The aim of this study was to compare the chemical structure, morphology and prismatic arrangement of the enamel located upon the surface of teeth with that of the enamel located near the dentin enamel junction.

Due to the fact that the hardness of a material depends directly on its structure, and chemical composition, microstiffness measurements were taken from 3 different areas: the fosa, cusps and interproximal middle third of 3 bicuspid teeth, 22 measurements were taken on each area approximately, totaling 53 measurements on each tooth. Our findings didn't show the same behavior in all zones, but generally, we can say that the stiffness of the enamel is higher in the surface (400 Vickers) and diminishes near the DEJ (200 Vickers).

The scanning electron microscope findings carried out along the width of the enamel, revealed that it can be divided into 4 zones according to the different morphology. The first is the "tuft" zone (150 μ m), the second zone is characterized by a lineal path which is also perpendicular to the DEJ (150 μ m). The third is a "chaotic" zone where the prisms form Knots (80 μ m). The fourth is the "Ondulatory" zone (850 μ m).

The chemical analysis of the cusps, middle third and neck revealed some differences in the concentration of elements. Sodium concentration is higher in the nearer zone to the DEJ, whereas chlorum concentration is higher on the surface. Concentration of Calcium an Phosphor are different depending on the zone analyzed and the tooth. Furthemore, Ca/P Ratio was always higher than 2.

Keywords: Enamel Structure, Microhardness, Electron Microscopy, EDS Microanalysis.

RESUMEN

El esmalte es un tejido altamente mineralizado compuesto principalmente de material inorgánico (96% hidroxiapatita) y solo una pequeña cantidad de sustancia orgánica (enamelinas y amelogeninas) y agua (4%). Cristalográficamente los cristales de hidroxiapatita [Ca10 (Po4)k presentan una red hexagonal. La Celda unitaria de la hidroxiapatita constituye su $(OH)_{2}$ unidad estructural más pequeña y esta formada por 10 átomos de Calcio, 6 grupos fosfato (Po₄) y 2 grupos oxhidrilos (OH⁻¹). La celda unitaria puede generar cristales muy largos por medio de la repetición indefinida en la dirección de los ejes del cristal.⁽¹⁾ La composición química del esmalte puede ser obtenida a través de un análisis EDS (Energy Dispersion spectometry) en el cual se mide la energía de los rayos x provenientes de la muestra una vez que fueron bombardeados con un haz de electrones. Esta energía es única para cada elemento, por lo que se puede determinar facilmente de que elemento se trata. El arreglo prismático puede ser determinado por medio de microscopía electrónica de barrido (MEB). Algunos autores (3.4-5) han reportado que los cristales de hidroxiapatita presentan una forma de cintas alargadas o agujas. Por otra parte la ultraestructura necesita ser examinada con un medio de mayor resolución como es el microscopio electrónico de transmisión (MET). Numerosos autores (6-10) coinciden en que los cristales de hidroxiapatita presentan una forma hexagonal. Algunos otros (11-13) han observado una franja dentro de los cristales de hidroxiapatita a la que han denominado "línea obscura".

De acuerdo con algunos estudios estructurales del esmalte ⁽¹⁴⁾ se llegó a la conclusión de que el esmalte no presenta las mismas características en toda su extensión, ya que se encontró que la composición del esmalte variaba de acuerdo a la zona de donde se hubiera recolectado la muestra (superficie- Unión amelodentinaria). El esmalte dental puede ser diferente química y estructuralmente en la superficie que cerca de su unión con la dentina.

El propósito de este estudio fue comparar las características químicas, así como la estructura y arreglo prismático del esmalte ubicado en la superficie de la corona, con respecto al esmalte ubicado cerca de la unión amelodentinaria (UAD).

Debido a que la dureza de un material depende directamente de su estructura y composición química, las pruebas de microdureza se realizaron en tres zonas distintas correspondientes a una fosa, una cúspide y al tercio medio proximal de tres premolares tomando un promedio de 22 medidas en cada zona, y sumando un total de 53 mediciones en cada diente. Los resultados indicaron que no existe un comportamiento idéntico en las zonas analizadas pero en promedio, la dureza del esmalte disminuye conforme se acerca a la UAD oscilando desde 400 Vickers en la región de la cúspide hasta 200 Vickers en la UAD.

Las observaciones en el MEB, realizadas en forma de mapeo a lo largo del espesor del esmalte revelaron una trayectoria que puede dividirse en cuatro zonas de a cuerdo a su morfología. La primera es la zona de los penachos (150 μ m), la segunda se caracteriza por una trayectoria lineal y perpendicular a la UAD (150 μ m), la tercera es una zona caótica en donde los prismas forman nudos (80 μ m) y la cuarta es una zona ondulatoria(850 μ m).

El análisis químico, realizado en tres diferentes zonas, cúspide, tercio medio, y cuello, reveló que la concentración de los elementos varia de acuerdo con la zona. La concentración de Na es alta en la región cercana a la UAD y la concentración de Cl es alta en la superficie. El comportamiento del Ca y P depende de la zona analizada y del tipo de diente. Por otro lado, la relación Ca/P siempre se encontró por arriba de 2.

Palabras Clave: Estructura del esmalte, Microdureza, Microscopía electrónica, Microanálisis EDS

INTRODUCCIÓN

Los órganos dentarios están compuestos por 4 tejidos: esmalte, dentina, cemento y pulpa, siendo el esmalte el tejido ubicado en la superficie del diente. El odontólogo necesariamente trata día con día con estos tejidos, y en especial con el esmalte, razón por la cual es necesario conocer su estructura y composición química de forma completa. De acuerdo con algunos estudios estructurales del esmalte¹ se llego a la conclusión de que su estructura no es igual en toda su extensión existiendo una diferencia en su superficie con respecto a su unión con la dentina. Esto representa gran interés en la investigación odontológica debido a que una de las labores del odontólogo es la de restaurar órganos dentales deteriorados, y en muchos tratamientos protésicos es necesario desgastar el grosor de esmalte, aproximándonos a su unión con la dentina. Entonces si existe una diferencia entre la estructura y composición del esmalte ubicado en la superficie con respecto al encontrado en la unión con la dentina será útil determinar cuál es esta diferencia y que problemas nos puede ocasionar. Además, de existir esta diferencia, los materiales de restauración que funcionan muy bien para la superficie del esmalte, pudieran no ser adecuados para las zonas cercanas a la unión amelodentinaria.

La composición química del esmalte es variable a lo largo de su espesor⁸. Esta variación es responsable de las propiedades estructurales que se observan. Entre éstas, la dureza de la superficie del esmalte es la más conocida. Hasta el momento, el estudio de la dureza del esmalte en función con la distancia a la superficie no ha sido estudiada en detalle ²⁸ y ese es uno de los objetivos de este trabajo. Se sabe que el esmalte es la estructura más dura del cuerpo humano y que su superficie tiene una dureza por arriba de los 400 Vickers; sin embargo, la dureza del esmalte a la altura de la unión amelodentinaria, así como su comportamiento a lo largo de todo su espesor no ha sido completamente definido²⁹. Considerando que la estructura y la

química de un cuerpo influyen directamente en las propiedades que presenta, en este trabajo de tesis nos enfocamos al estudio de estos aspectos.

Esta tesis representa una continuación de la investigación sobre la estructura, propiedades y composición química del esmalte dental dentro del proyecto de colaboración entre el Instituto de Física y la Facultad de Odontología, de la UNAM. Este proyecto se inicio en 1992 con el estudio de la estructura del esmalte dental, prosiguiendo con el análisis de los nanogranos que conforman los prismas del esmalte y la línea obscura que se presenta en la parte central de estos. En un intento por conocer un mayor numero de elementos que permitan la descripción completa de los nanogranos que conforman los prismas del esmalte se encontró la necesidad de hacer un estudio detallado de la estructura, composición química y propiedades de los nanogranos, tanto cerca de la superficie como cerca de la unión amelodentinaria, siendo el objetivo de este trabajo el análisis de la composición química y estructura de la unión amelodentinaria.

Antes de iniciar la presentación de este trabajo describiremos los motivos principales que le dieron origen así como su justificación, objetivos a alcanzar y las hipótesis a comprobar.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Tanto la dentina como el esmalte han sido extensamente descritos en la literatura, y aunque la unión amelodentinaria y el arreglo prismático del esmalte dental en su unión amelodentinaria también ha sido descrita su información no es tan vasta como la de las dos estructuras antes mencionadas.

El análisis estructural del esmalte dental humano requiere de un estudio completo. En estudios anteriores sobre este tema se observó que la estructura del esmalte en el ámbito microscópico dependía en gran medida del lugar exacto del esmalte de donde proviene la muestra. Se observó que la estructura del esmalte cuando este provenía de una región cercana a la superficie se presenta muy compacta, mientras que cuando provenía de una región cercana a la unión amelodentinaria se observan un gran número de huecos. Es decir, la compactación es pobre. Entonces surgen una serie de preguntas como ¿Qué tan pobre es esta compactación?, ¿Tiene que ver con la estructura esmalte - dentina? ¿La estructura de la dentina modifica en forma importante la estructura de esta región del esmalte?. Al referirnos a la estructura queremos decir la estructura granular de los prismas del esmalte y la estructura a nivel nanométrico.

Con este trabajo intentaremos responder algunas de estas preguntas y los resultados obtenidos permitirán lograr en un futuro cercano la descripción completa de la estructura, composición química y propiedades mecánicas de la unión amelodentinaria así como del mismo esmalte dental.

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar las características estructurales y químicas del esmalte en su unión amelodentinaria por medio de la microscopía electrónica de barrido y transmisión, técnicas de difracción de electrones de rayos X y técnicas de microdureza.

Objetivos específicos

- Determinar el arreglo prismático y granular del esmalte dental en la unión amelodentinaria por medio de microscopía electrónica de barrido y microscopía electrónica de transmisión.
- Determinar tanto estructural como químicamente a nivel micrométrico y nanométrico el esmalte en la unión amelodentinaria, y el esmalte de la superficie dental.
- Determinar la microdureza del esmalte en todo su espesor así como el de la dentina en la región cercana a la unión amelodentinaria.
- Caracterizar las propiedades mecánicas de la unión amelodentinaria dentro del esmalte y de la dentina para definir el comportamiento mecánico de la primera.

HIPÓTESIS

• Hipótesis 1

Las características ultraestructurales y químicas del esmalte ubicado en la superficie del diente son diferentes a las encontradas en la unión amelodentinaria.

• Hipótesis Nula 1

Las características ultraestructurales y químicas del esmalte ubicado en la superficie del diente No son diferentes a las encontradas en la unión amelodentinaria.

• Hipótesis 2

En el esmalte de la superficie dental y en el esmalte de la unión amelodentinaria se presentan los mismos defectos estructurales.

• Hipótesis Nula 2

En el esmalte de la superficie dental y en el esmalte de la unión amelodentinaria No se presentan los mismos defectos estructurales.

• Hipótesis 3

El esmalte de la superficie dental y el esmalte de la unión amelodentinaria presentan la misma microdureza.

• Hipótesis nula 3

El esmalte de la superficie dental y el esmalte de la unión amelodentinaria presentan microdurezas diferentes.

• Hipótesis 4

Las propiedades mecánicas del esmalte dental y las correspondientes a la dentina en la región de la unión amelodentinaria son iguales para darle una alta eficiencia a esta en el papel que desarrolla dentro de la constitución estructural del diente.

• Hipótesis nula 4

Las propiedades mecánicas del esmalte dental y las correspondientes a la dentina en la región de la unión amelodentinaria son diferentes para darle una alta eficiencia a esta en el papel que desarrolla dentro de la constitución estructural del diente

JUSTIFICACIÓN

El esmalte es la estructura dental más superficial y que esta expuesta al medio ambiente oral. Los odontólogos de cualquier especialidad tratamos necesariamente con esta estructura día tras día, por lo que es necesario lograr un conocimiento exhaustivo de su estructura para así poder comprender su funcionamiento y poder determinar cual puede ser su comportamiento ante los diferentes factores de riesgo ante los que se expone diariamente. La unión amelodentinaria representa una frontera entre dos materiales que, aunque están compuestos por los mismos elementos, representan propiedades diferentes. El esmalte es el tejido más duro del cuerpo humano y la dentina es la zona de conexión entre el esmalte, el sistema de irrigación (o alimentación) y su inervación. Por lo tanto, el estudio de la unión amelodentinaria es de crucial importancia ya que representa la forma natural en que dos materiales con diferentes propiedades se unen para dar consistencia y funcionalidad al diente. De aquí que cualquier tipo de análisis sobre la unión amelodentinaria, y cualquier otro componente del diente, se justifique por sí solo.

CAPITULO I

Microscopía electrónica, análisis por rayos X y conceptos básicos

En este Capítulo se describirán brevemente los conceptos básicos necesarios para la comprensión de los resultados obtenidos en esta tesis, con las técnicas utilizadas, tales como microscopía electrónica, análisis por rayos X y microdureza.

1.1 Microscopía Electrónica

El concepto físico del microscopio electrónico es idéntico al del microscopio óptico; pero en vez de utilizar luz, el microscopio electrónico utiliza electrones. En el primero, la luz puede ser enfocada a través de lentes de vidrio, mientras que en el segundo, los electrones son enfocados por medio de lentes electromagnéticas. Un lente electromagnético es básicamente una bobina. La corriente que pasa a de las bobinas es relativamente baja, pero el campo magnético que se través produce se concentra debido al hierro dulce que forma el cuerpo de éstas. En un microscopio óptico la fuente de iluminación es la luz, mientras que la fuente de iluminación en un microscopio electrónico la conforma el cañón de electrones. Un cañón de electrones típico consiste de un filamento en forma de V. A través de este filamento fluye una corriente eléctrica que lo calienta y por efecto de la emisión termoiónica se provoca un desprendimiento de electrones. De la forma y material de este filamento depende la resolución del microscopio, de esta manera tenemos filamentos de Tungsteno, los cuales son los más usuales y requieren un vacío de 10⁻⁶ Torr; filamentos de hexaboruro de lantano (LaB₆) el cual es un compuesto en el que los átomos de La se colocan en la red de B, y cuando el material se calienta los átomos de La se difunden hacia la superficie, este filamento trabaja con un vacío de 10⁻⁷ Torr; filamentos de emisión de campo que aunque son de tungsteno, presentan una forma piramidal, en éstos el campo eléctrico en la punta es muy intenso y genera un haz altamente coherente, este requiere de un vacío de 10⁻¹² Torr. Entonces, si se aplica un voltaje elevado entre el filamento, su campo catódico y el ánodo los electrones son atraídos y acelerados hacia el ánodo cargado positivamente. Algunos de los electrones que viajan a gran velocidad, pasan a través del orificio del ánodo y entran dentro de la columna del microscopio electrónico.² La figura 1.1 muestra una comparación de los componentes del microscopio óptico y el electrónico.

1.2 Microscopio Electrónico de Transmisión

El microscopio electrónico de transmisión (MET) esta formado fundamentalmente por un cañón de electrones (el cual conforma la fuente de iluminación), lentes condensadoras, lente objetiva, lentes intermedias y lente proyectora. El cañón electrónico es la única lente electrostática que tiene el microscopio electrónico; las demás son lentes electromagnéticas.

Cuando el haz de electrones interacciona con la muestra se producen varios tipos de señales, las cuales nos permiten llevar a cabo la caracterización estructural y química de ésta. Las señales producidas son: Electrones retrodispersados, secundarios, absorbidos, Auger, transmitidos y rayos X. Las figuras 1.2 y 1.3 muestran esquemáticamente la interacción haz electrónico - muestra y las señales que se originan. Los electrones retrodispersados y secundarios nos dan información sobre la superficie de la muestra, permitiéndonos obtener una imagen topográfica de ellas. Estos electrones son la fuente de información para la microscopía electrónica de barrido (MEB). Los electrones absorbidos, analizados con el detector adecuado en el MEB nos dan información sobre la resistividad de la muestra. Los electrones

9



Imagen de un Microscopio Óptico Imagen de un Microscopio Electrónico Patrón de difracción de electrones.

Figura 1.1 Comparación del proceso de formación de la imagen entre un microscopio óptico y un microscopio electrónico de transmision. También se muestra la trayectoria seguida por los rayos para formar un patrón de difracción, así como los componentes del microscopio electrónico.



Figura 1.2. Tipos de señales que se producen durante la interacción del haz electrónico con la muestra.



Figura 1.3. Los electrones secundarios son aquellos que colisionan con la primera capa interna de la muestra y son rebotados; los transmitidos son aquellos que pasan libremente a través de la muestra; los electrones difractados son aquellos que pasan a través de la muestra pero son desviados debido a una colisión; los retrodispersados son aquellos electrones que rebotan en las primeras capas atómicas de la muestra.

Auger y los rayos X característicos dependen de la composición química de la muestra, permitiéndonos hacer por lo tanto un análisis químico de ella. Los electrones que atraviesan la muestra pueden ser clasificados en dos tipos: Transmitidos (aquellos que pasan la muestra sin ser desviados de su dirección incidente), y Difractados (aquellos que sí son desviados de su dirección de incidencia). Los haces transmitidos y difractados son los que usa la lente objetiva para formar la imagen de la muestra en un microscopio electrónico de transmisión. Como estos pasan a través de la muestra, portan información sobre las características estructurales de ésta. Si en lugar de enfocar el plano - imagen de la lente objetiva para observar la imagen de la muestra, enfocamos el plano focal de ésta, lo que se observa es un arreglo de puntos luminosos que no son más que el arreglo de los haces difractados y transmitidos. Este arreglo recibe el nombre de patrón de difracción. Los patrones de difracción presentan un punto muy intenso en el centro rodeado de varios puntos (los haces difractados), presentando un arreglo geométrico, el cual es característico de la muestra. Por lo tanto, el análisis del patrón de difracción nos permitirá hacer el estudio de la estructura atómica de la muestra. De hecho, los patrones de difracción son la huella digital de ésta.

El análisis de cada una de las señales producidas durante la interacción haz-muestra nos permite hacer una caracterización completa de la muestra, lo cual convierte al microscopio electrónico en un poderoso instrumento de análisis. Al microscopio electrónico equipado con los detectores necesarios para obtener todas las señales descritas se le conoce como microscopio electrónico analítico.

El microscopio electrónico cuenta con tres aperturas, las cuales realizan distintas funciones. La apertura condensadora nos permite obtener un haz electrónico más homogéneo, puesto que al no permitir el paso de los electrones que se han desviado bastante del eje óptico, reduce en gran medida la aberración cromática. La apertura colocada después de la lente objetiva es utilizada para

10

permitir el paso de un solo haz del conjunto de haces difractados, y el haz transmitido. Si la imagen es producida dejando pasar solo el haz transmitido, se dice que se observa una imagen de campo claro (fig.1.4). El contraste de este tipo de imágenes es producido por diferencias de intensidades, ya que se han excluido los haces difractados: las regiones en las cuales se producen los haces difractados se observaran obscuras en una imagen de campo claro. Por otro lado, si la imagen es formada dejando pasar uno de los haces difractados se produce una imagen de campo obscuro (fig.1.5). En este tipo de imágenes solo la región de donde proviene el haz difractado seleccionado se mostrara brillante; el resto de la imagen será obscura y de ahí su nombre. Considerando que la intensidad que incide sobre la muestra debe ser igual a la suma de las intensidades de los haces transmitidos y difractados entre otros, es de esperar que la intensidad de la imagen de campo obscuro disminuya considerablemente. La apertura localizada en el plano- imagen de la lente objetiva se conoce como apertura de área selecta. Como su nombre lo indica, nos permite seleccionar con alta precisión el área de donde proviene el patrón de difracción.²



Figura 1.4. Imagen de campo claro de los cristales de hidroxiapatita del esmalte dental tomada en un MET



Figura 1.5. Imagen de campo obscuro de los cristales de hidroxiapatita del esmalte dental tomada en un MET.

1.3 Rayos X Característicos

Los rayos X son un tipo de radiación electromagnética, cuya región en el espectro electromagnético está entre 0.05 y 125 KeV y se producen, al bombardear la muestra con electrones. El átomo está formado de electrones que se mueven en diferentes niveles de energía alrededor del núcleo. Estos niveles pueden aceptar una cantidad determinada de electrones y se denominan con las literales K (acepta 2e⁻), L (acepta 8e⁻), M (acepta 18 e⁻), N y O que estarán también ocupados en los átomos de los elementos más pesados. La energía de estos niveles decrece conforme aumenta la distancia al núcleo.

Se dice que un átomo esta en su estado base cuando su energía total es mínima. Cuando los electrones son movidos a niveles de energía inferiores o son sacados del átomo, dejando vacancias, se dice que el átomo estará "excitado". Para excitar un átomo el haz de electrones debe tener una energía más alta que la energía critica para sacar un electrón de un nivel dado. A esta energía critica se le conoce también como borde de absorción. De esta manera, si el haz electrónico tiene la energía suficiente para excitar los electrones K de un átomo es también capaz de excitar los electrones L y M. Por lo tanto, las energías de los rayos X característicos son clasificadas de acuerdo con el tipo de transición que las provoca. Es decir, los rayos X "K" resultan de una transición de un electrón de otro nivel hacia el nivel K. Los X "L" resultan de la transición de electrones de otros niveles al nivel L y así sucesivamente. (figura 1.6)

También sabemos que existen subniveles de energía dentro de los niveles energéticos, debido a ligeras diferencias de energía entre los electrones de estos: el nivel L tiene 3 subniveles, el M tiene 5 subniveles, el N tiene 7 subniveles. Ya que cada subnivel tiene diferente energía, los rayos X relacionados con electrones de estos subniveles varían ligeramente. Estas variaciones son clasificadas en K α , K β , y K γ .; L α ,L β ,L γ ,L λ y así sucesivamente.

Así pues, los rayos X emitidos de esta forma dependen de cada elemento, por lo cual podemos identificar la composición química de una muestra dada, a partir de la energía de dispersión de rayos X del mismo.²

1.4 Análisis Cuantitativo con Rayos X característicos

El procedimiento normal para hacer el microanálisis de una muestra es comparar la razón de conteo de un elemento dado, primero a partir de un área de la muestra y luego de un espectro estándar del elemento puro o de una aleación de composición conocida. La razón de las intensidades, K, de los elementos de la concentración desconocida con las del estándar es la media experimental básica.



Figura 1.6 Emisión de rayos X característicos A) átomo de fosforo en un estado de mínima energía B) el átomo es bombardeado con un haz de electrones provocandose una colisión de electrones C) Un electrón e 2 del nivel K del fósforo es expulsado fuera del átomo, creando una vacancia y dejando excitado al átomo. D) Un electrón del nivel L ocupa la vacancia, y genera radiación X.

1.5 Sistemas Cristalinos

Prácticamente todos los metales, una fracción importante de las cerámicas, y ciertos polímeros cristalizan cuando se solidifican. Con ello, queremos decir que los átomos se arreglan en un patrón tridimensional ordenado, repetitivo. Tales estructuras se llaman cristales.

Este patrón ordenado que se repite a lo largo de muchas distancias atómicas se debe a la coordinación atómica que existe dentro del material; además, el patrón controla algunas veces la forma externa del cristal.

En el momento en que los átomos y las moléculas se coordinan con sus vecinos para formar un sólido, encontramos que se forman patrones específicos. De esta manera tenemos que existen 7 sistemas cristalinos que se diferencian entre si de acuerdo a las características de sus ejes (X,Y,Z) y a las longitudes de los ejes en cada una de las tres dimensiones.

Sistema	Ejes	Angulos axiales
Cúbico	$a_1 = a_2 = a_3$	Todos los ángulos = 90°
Tetragonal	$a_1 = a_2 \neq c$	Todos los ángulos = 90°
Ortorrómbico	a ≠b ≠c	Todos los ángulos = 90°
Monoclínico	a ≠b ≠c	2 ángulos 90° 1 ángulo 90°
Triclínico	a≠ b≠c	Todos los ángulos diferentes; ninguno igual a 90°
Hexagonal	$\mathbf{a}_1 = \mathbf{a}_2 = \mathbf{a}_3 \neq \mathbf{c}$	$Angulos = 90^{\circ} y \ 120^{\circ}$
Romboédrico	$\mathbf{a}_1 = \mathbf{a}_2 = \mathbf{a}_3$	Todos los ángulos iguales, pero no 90°

Geometría de los sistemas cristalinos.

Cuando se usan tres dimensiones hay 14 redes o retículos espaciales. No existen otras redes cubicas posibles. Estas redes, llamadas redes de Bravais, son simples arreglos de puntos equivalentes. Esto es, cada punto en una red tridimensional infinita tiene (1) el mismo número de puntos vecinos (2) en las mismas direcciones, y (3) a las mismas distancias. (Figura 1.7). Cada una de las redes de Bravais es única y produce patrones de difracción completamente distintivos del sistema. Por lo tanto, si se realiza un estudio completo de patrones de difracción electrónica se puede obtener el sistema cristalino del que se trata y de ahí sus propiedades y características físicas, químicas, ópticas, eléctricas, mecánicas, etc. Por lo tanto este paso es crucial en el análisis de materiales.

1.6 Microdureza.

La capacidad de un material para resistir la deformación plástica se llama resistencia a la cedencia (RC), y se calcula dividiendo la fuerza que inicia la cedencia entre el valor del área transversal.

La dureza esta definida como la resistencia de una material a la penetración de su superficie. Como podría esperarse, la dureza y la resistencia de un material están íntimamente relacionadas. El número de Brinell (BHN) es un índice de dureza calculado a partir del área de penetración de un penetrador grande. La muesca se hace con una esfera de acero muy duro o de carburo de tungsteno bajo una carga estándar. La dureza Rockwell, otro de los índices comúnmente usados, esta relacionada con el BHN, pero se mide por la profundidad de penetración de un pequeño penetrador estándar. Otra escala Utilizada es la de Vickers, esta utiliza una pequeña pirámide de diamante y una carga muy ligera. El tamaño de la penetración se mide en un microscopio.³

Redes Espaciales de Bravais



La dureza Vickers se puede definir como el valor calculado de la formula obtenida a partir de la prueba de una carga en el tiempo, cuando la superficie de la prueba es indentada y en el área de la superficie obtenida se marcan dos diagonales al usar un indentador de diamante en forma de pirámide cuadrangular, con una base cuadrada en donde el ángulo entre las caras opuestas es de 136°.

La escala de Vickers se obtiene a partir de la medición de las diagonales y para obtenerla se requiere del uso de la siguiente formula:

HV=
$$0.102 \frac{F}{S} = 0.102 \frac{2Fsin\frac{\theta}{2}}{d^2} = 0.1891 \frac{F}{d^2}$$

Donde:

HV: Dureza Vickers

- F : Carga de la prueba (N)
- S : Área de la superficie de indentación (mm^2)
- d : Valor promedio de las diagonales de la indentación (mm)
- θ : Ángulo entre las caras opuestas al vértice del indentador de diamante

CAPITULO II

Características químicas y estructurales del esmalte, la dentina y la unión amelodentinaria.

En este capítulo se describirán las características estructurales y químicas del esmalte dental, la dentina y la unión amelodentinaria, de tal forma en que se muestren los parámetros y el vocabulario necesario para hacer más fácil la comprensión de los resultados con las técnicas presentadas en el capítulo anterior.

2.1 Esmalte

El esmalte forma una cubierta protectora en la superficie de la corona. En las cúspides de los molares y premolares humanos, alcanza un espesor máximo de 2 a 2.5 mm. aproximadamente, adelgazándose a nivel del cuello del diente. Debido a su elevado contenido en sales minerales y a su disposición cristalina, el esmalte es el tejido calcificado mas duro del cuerpo humano. La función especifica del esmalte es formar una cubierta resistente para los dientes, haciéndolos adecuados para la masticación⁴. Otra propiedad física del esmalte es su permeabilidad. Se ha descubierto, con trazadores radiactivos, que el esmalte puede actuar en cierta forma como una membrana semipermeable, permitiendo el paso completo o parcial de ciertas moléculas: C¹⁴, I¹³¹, etc.^{(5-6).} Lo mismo sucede con sustancias colorantes.

El color de la corona cubierta de esmalte varia desde blanco amarillento hasta blanco grisáceo. El color esta determinado por las diferencias en la translucidez del esmalte: los dientes amarillentos tienen un esmalte translucido y delgado a través del cual se ve el color amarillo de la dentina, los dientes grisáceos poseen esmalte mas opaco. La translucidez puede deberse a variaciones en el grado de la calcificación,

17

homogeneidad y edad del esmalte. Las zonas incisivas pueden tener un tono azulado, donde el borde delgado esta formado únicamente por una capa doble de esmalte⁴.

Composición Química

El esmalte esta compuesto principalmente de material inorgánico (96 %) y solo una pequeña cantidad de sustancia orgánica y agua (4 por ciento). El material inorgánico es una apatita, la hidroxiapatita⁴. Cristalográficamente, la Hidroxiapatita pertenece al sistema hexagonal (grupo espacial P6₃/m) con un parámetro de red de a=0.942nm, c=0.688nm y su composición química es Ca₁₀(Po₄)₆(OH)₁₀ (Fig. 2.0).¹

La Figura 2.1 muestra el sistema hexagonal de la estructura de la hidroxiapatita. La zona remarcada con una línea obscura muestra una celda unitaria. La celda unitaria de la hidroxiapatita constituye la unidad estructural más pequeña de su forma paralelepipeda en la que se incluyen 10 átomos de calcio, seis grupos fosfato (PO_4) y 2 grupos oxhidrilos (OH). La celda unitaria puede generar un cristal por medio de una repetición indefinida en la dirección de los tres ejes del cristal. Los grupos oxhidrilos están ubicados en las esquinas de la celda unitaria. Los diez átomos de calcio están definidos como calcios columnares (Ca I) o calcios en eje de tornillo (Ca II) dependiendo de su medio ambiente. Cuatro de los átomos de calcio ocupan la posición de eje de tornillo (Ca II) formando los triángulos de calcio alrededor del grupo OH central ubicado a lo largo del eje c. Los 6 grupos PO₄ están ordenados alrededor de los grupos OH ubicados en las esquinas de la celda unitaria (fig. 2.1)⁷.



Figura 2.0 Celda unitaria de la hidroxiapatita en el plano 101



Figura 2.1. Estructura hexagonal de la hidroxiapatita.

Lagarde y col. llevaron a cabo un estudio en el que analizaron el esmalte de dientes ubicados cercanos a un paladar hendido, correlacionando la microscopía de luz, la microradiografía, microscopía electrónica de transmisión, microscopía electrónica microanálisis. Ellos de barrido. Y encontraron anomalías estructurales, ultraestructurales y químicas en este tipo de esmalte. El microanálisis mostró que la relación Ca-P medida en la superficie del esmalte era mayor en los dientes asociados con el paladar hendido que en los dientes de control. Los valores de Ca-P se debían principalmente a un incremento en el Ca y una disminución en el P del esmalte de la superficie. El incremento de calcio se correlaciono con la disminución de Mg, apoyando la hipótesis de que hubo una substitución Mg-Ca en las estructuras de apatita⁸.

Shibahara y col. analizaron algunas imágenes de la estructura del esmalte con un microscopio electrónico de alta resolución con una resolución de 0.18 nm. Dichas imágenes revelaron que el arreglo atómico en la hidroxiapatita (HA) del esmalte humano correspondía con las imagen calculada usando información cristalográfica del mineral HA ($Ca_{10}(PO_4)_6$ (OH)₂) (fig.2.1.2). Se obtuvo información directa acerca de los grupos Ca y OH- en los cristales de HA a través de la proyección [001]. La correspondencia establecida entre el contraste de la imagen observada y los arreglos del Ca columnar, Ca en eje de tornillo, y grupos OH- sugiere que las observaciones con el microscopio electrónico de alta resolución (METAR), son útiles para identificar defectos en los cristales de HA⁹

Bres y col estudiaron la estructura de los cristales del esmalte obtenido de 4 premolares humanos y los estudiaron por medio de microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (METAR). En todos los casos, fue posible compaginar las imágenes experimentales con las imágenes calculadas utilizando las posiciones atómicas del mineral de la hidroxiapatita. Sin embargo, se observo una desviación de la simetría hexagonal caracterizada por los planos (1010) de intensidad diferente a los del plano (3030) y $\{1010\}^{10}$.

Estructura

1. Prismas

El esmalte esta formado por bastones o prismas, vainas del esmalte, y sustancia interprismática de unión. A partir de la unión amelodentinaria los prismas siguen una dirección hacia la superficie del diente. La longitud de la mayor parte de los prismas es mayor que el espesor del esmalte, debido a su dirección oblicua y su curso ondulado. Generalmente se afirma que el diámetro de los prismas mide 4 micras en promedio, pero esta medida varia necesariamente puesto que la superficie
externa del esmalte es mayor que la superficie de la dentina donde se originan. Se ha dicho que su diámetro aumenta, a partir de la unión amelodentinaria hacia la superficie, en una proporción de l:2 aproximadamente.

Orban menciona que los prismas del esmalte fueron descritos por primera vez por Retzius en 1837. Normalmente tienen aspecto cristalino claro, lo que permite a la luz pasar a través de ellos. En corte transversal aparecen ocasionalmente hexagonales y algunas veces se ven redondos u ovales. Muchos prismas de esmalte humano parecen escama de pescado en cortes transversales⁴. (fig. 2.2)



Fig. 2.2 Esmalte dental. Aquí se observa como los prismas presentan una forma que asemeja las escamas de pescado.

2. Penachos

Amizuka y col. Estudiaron los penachos del esmalte después de descalcificar la matriz del esmalte, examinando sus características histoquímicas y estructuras finas. Encontraron que bajo el microscopio de barrido los penachos del esmalte aparecían como estructuras corrugadas en forma de cinta ubicadas en la dentina paralelas al eje del diente. La observación en el MET mostró los penachos del esmalte como paquetes de estructuras tubulares bien extendidas con estriaciones transversales atribuibles a las bandas del esmalte hipocalcificado. Se observaron estructuras en

forma de lamina ubicadas en el centro de los penachos, de donde corrían paralelos al penacho. Las laminas de los penachos revelaron su origen en la capa superficial de la dentina, penetrando la zona hipercalcificada adyacente a la unión dentina-esmalte, para alcanzar la región del penacho¹¹. (fig.2.3)



Fig 2.3 Corte transversal de esmalte, se observa como entran los penachos en el esmalte

Palamara y col. estudiaron los husos y penachos del esmalte por medio de microscopía electrónica de transmisión a partir de muestras preparadas por medio de adelgazamiento iónico con un haz de argón. Encontraron que los husos del esmalte dental humano se continuaban con los túbulos dentinarios a lo largo de la unión amelodentinaria (UAD) y por lo general aparecían en la UAD como electrolúcidos¹².

3. Microestrucrura

Los elementos estructurales que forman los prismas del esmalte se llaman granos y son tan pequeños que no se pueden observar con el microscopio óptico. Con el advenimiento del microscopio electrónico, que ha sido aplicado al estudio de la estructura dentaria durante más de 20 años, se ha obtenido nueva información tanto acerca de la matriz orgánica del esmalte, como de su componente cristalino. Bajo el microscopio electrónico los cristales de apatita aparecen algo aplanados y como cintas y se orientan en sus ejes longitudinales en sentido aproximadamente paralelo al eje longitudinal del prisma. Las medidas de los cristales básicos del esmalte no se han definido aún, y las longitudes más usadas varían desde 0.05 y 1 micra. Con frecuencia sus diámetros oscilan entre 0.02 y 0.2 micras⁴. (Figura 2.4)

Arends y col. analizaron el diámetro promedio de los cristales de esmalte maduro en esmalte de dientes deciduos, y en esmalte fluorado, así como en esmalte bovino. Esta investigación se llevó acabo sobre superficies fracturadas de diferentes tipos de esmalte, analizándolos con un microscopio electrónico de barrido. Encontraron así que el diámetro promedio para los cristales del esmalte de dientes sanos, deciduos y fluorados era 36 nm,46nm,81nm, respectivamente. Los valores del esmalte sano, y remineralizado in vitro y esmalte bovino remineralizado in vivo fue de 57 nm,97nm, y 63nm respectivamente. La diferencia entre el esmalte bovino remineralizado in vivo puede deberse a las diferencias en la velocidad de remineralización y/o presencia de saliva¹³.



Figura 2.4 Cristales de hidroxiapatita observados bajo MEB, los cristales aparecen aplanados y se orientan en forma longitudinal.

2.4.1 Esquema de un bloque de esmalte en vista longitudinal.

4. Vainas

Una capa periférica delgada de cada prisma muestra un índice de refracción diferente, se tiñe más profundamente que el resto y es relativamente resistente a los ácidos. Se puede concluir que esta menos calcificada y contiene más sustancia orgánica que el prisma mismo. Esta capa es interpretada por algunos como la vaina del prisma. Investigaciones recientes con el microscopio electrónico han demostrado que a menudo esta estructura es incompleta⁴. (Figura 2.5)



Sustancia Interprismatica

5. Estriaciones

Cada prisma de esmalte esta construido de segmentos separados por líneas obscuras que le dan aspecto estriado. Las estriaciones transversales separan segmentos de prismas, se hacen más visibles mediante la acción de ácidos poco concentrados y están más marcadas en el esmalte insuficientemente calcificado. Los prismas están segmentados porque la matriz del esmalte se forma rítmicamente. En el hombre, estos segmentos parecen ser de longitud uniforme de 4 micras aproximadamente⁴. (Figura 2.6)



Figura 2.6 Los prismas están cortados longitudinalmente y se observan las estriaciones. Imagen de MEB.

6. Sustancia Interprismática.

Los prismas del esmalte no están en contacto directo, sino pegados por la sustancia interprismática, cuyo índice de refracción es ligeramente mayor que el de los prismas. Aún persiste discusión activa respecto a la estructura de la sustancia interprismática. (Figura 2.7). Bajo el microscopio electrónico las estructuras observadas en esta región tienen idéntico aspecto a las observadas en el interior de los prismas, excepto su orientación en el espacio⁴.



Fig. 2.7 Prismas de esmalte, la letra A señala la región que ocupa la sustancia interprismática. Imagen MET.

7. Dirección de los Prismas.

Los prismas están orientados generalmente en ángulos rectos respecto a la superficie de la dentina. En las partes cervical y central de la corona de un diente deciduo son más o menos horizontales. Cerca del borde incisivo o de las puntas de las cúspides cambian gradualmente hacia una dirección cada vez más oblicua, hasta ser casi verticales en la región del borde o de la punta de las cúspides. La disposición de los prismas en los dientes permanentes es similar en los dos tercios oclusales de la corona. Sin embargo, en la región cervical se desvían de la posición horizontal para tomar una dirección apical.



Figura 2.8. Patrón de los prismas en función de toda la corona

Los prismas siguen un curso ondulado desde la dentina hasta la superficie del esmalte. Las variaciones más importantes a partir del curso radial recto pueden describirse de la siguiente manera. Si la parte media de una corona se divide en discos horizontales delgados, los prismas en los discos adyacentes se doblan en direcciones opuestas. En el tercio externo del esmalte cambian frecuentemente hacia una dirección radial casi recta. En el disco adyacente los prismas se dirigen hacia la derecha. En esta desviación alterna de los prismas en sentido de las manecillas del reloj, y en dirección inversa a partir de la dirección radial, se pueden observar en todos los niveles de la corona. Si los discos se cortan en los planos de la dirección general de los prismas. (fig.2.9 y 2.10)



Fig.2.9 Imagen obtenida en un MEB a 500 x. Orientación general de los prismas del esmalte en una zona cercana a la superficie del diente. Se puede observar que los prismas mantienen una dirección rectilínea. A) Parte interna del diente B) Superficie del diente



Fig. 2.10. Imagen obtenida en un MEB a 500 x. Orientación general de los prismas del esmalte en una zona cercana a la unión amelodentinaria. En esta zona los prismas adquieren una forma ondulada. A) Esmalte B) Dentina

Si los discos se cortan en un plano oblicuo, especialmente cerca de la dentina, en la región de las cúspides, o de los bordes incisivos, su disposición parece ser más complicada, las bandas de prismas parecen entrelazarse más irregularmente. Este

aspecto óptico del esmalte se llama esmalte nudoso. Los prismas del esmalte que forman las fisuras y las fositas del desarrollo, como las de la superficie oclusal de molares y premolares convergen hacia afuera⁴.

Ultraestructura

El esmalte dental esta compuesto por cristales individuales que son más largos y más orientados que otros tejidos mineralizados. Este se encuentra formado por una matriz mediada por una biomineralización. Los cristales del esmalte se precipitan a partir de una solución supersaturada dentro de un compartimento biológico bien Los primeros cristales aparecen suavemente en la unión delimitado. amelodentinaria (UAD) y crecen rápidamente en forma de cintas. La forma y el patrón de crecimiento de estos cristales puede ser interpretado como la evidencia de una fase precursora de fosfato octacálcico (POC). Un POC presenta en su plano (100) una superficie que puede actuar como una plantilla para la precipitación de la hidroxiapatita. Durante este proceso, una celda unitaria de fosfato octacálcico se convierte en dos celdas unitarias de hidroxiapatita. Durante la precipitación de la fase mineral se regula el grado de saturación del fluido del esmalte. Las proteínas de la matriz del esmalte pueden amortiguar las concentraciones de calcio e hidrógeno como una estrategia para evitar la precipitación de las fases sólidas de fosfato cálcico contra las que compiten. Otras proteínas del esmalte pueden regular el patrón de los cristales uniéndose a caras especificas del mineral e inhibiendo su crecimiento. Los análisis estructurales de la amelogenina recombinante concuerdan con el papel funcional ya que establecen y mantienen el espacio entre los cristales de esmalte¹⁴.

Ichijo y col.⁷ examinaron la ultraestructura de los cristales de esmalte, dentina y hueso humanos en una resolución cercana a la atómica y mostraron la

C

configuración de la estructura de la hidroxiapatita a través de cortes transversales y longitudinales de los cristales (Fig. 2.11) y fueron capaces de examinar directamente las imágenes de las imperfecciones de la red en los cristales del esmalte y hueso humano, tales como los defectos puntuales, vacancias, segregación de la estructura, y los defectos lineares, fallas de apilamiento y fronteras de grano.



Figura 2.11 Imagen de alta resolución de los granos del esmalte. Las flechas indican la posición de la línea obscura.

Johansen¹⁵ y otros investigadores¹⁶⁻¹⁷⁻¹⁹ mencionan que los cristales del esmalte presentan una forma irregular conforme crecen, para llenar los espacios intercristalinos. Daculsi y Kerebel¹⁸ notaron que en la etapa final, después de la erupción dental, los cristales se encontraban muy unidos. En particular, Selving y Halse¹⁷ observaron un cambio en el tamaño y la forma de los cristales así como un cambio en el número de cristales durante el curso de la formación del esmalte y encontraron que la densidad disminuía conforme la formación del esmalte proseguía, y el tamaño de los cristales aumentaba. A partir de esto, ellos sugieren la posibilidad de que exista una fusión de los cristales, coalescencia que ya sea que se presente una fusión de los cristales, o el esmalte expanda su volumen, se creara un mayor espacio para cada cristal.

Aunque es indudable el hecho de que durante las primeras etapas de la mineralización y maduración los pequeños cristales están bañados en un complejo orgánico, durante las etapas tardías también se ha establecido que el desplazamiento de la matriz orgánica debe de presentarse para dar lugar al crecimiento de los cristales y que este proceso se da por la perdida tanto del material orgánico como del agua. También se sabe que no todo el material orgánico y agua se pierden y que existe un sistema de microporos, aún en el esmalte adulto. Esto nos ha llevado a considerar que el esmalte esta rodeado por el material orgánico y que forma una finísima red. La distribución de los materiales orgánicos en el esmalte no es uniforme sino que se aglomera en regiones tales como los penachos, y lamina del esmalte.

Christoffersen y col reportaron información experimental acerca del crecimiento de los cristales hidroxiapatita (HA). De acuerdo con sus estudios el grado de crecimiento esta controlado por un proceso de superficie. Ellos sugieren dos modelos de crecimiento, el modelo de crecimiento espiral y el modelo polinuclear. Encontraron que la tensión superficial para la teoría polinuclear es de 80mJ/m2. La desviación de este valor con respecto al valor teórico esperado de 240 mJ/m2, al parecer se debe a las imperfecciones de la superficie de la HA. Si todos los grados dependen de la actividad y no de las concentraciones, la frecuencia de integración iónica seria de 9x104 s-1 para el modelo polinuclear, cercano al valor 1.6x105 s-1 esperado si un paso determinante es la deshidratación parcial de los iones de calcio. Si el grado de crecimiento lateral del núcleo depende de la concentración, el calor de la frecuencia de integración de iones depende de las suposiciones realizadas para los valores del coeficiente de actividad de un monómero en la capa absorbida, o la constante de absorción. Para el mecanismo de espiral, la frecuencia de integración

iónica también depende del valor supuesto para la tensión superficial. Christoffersen llega a la conclusión de que si las suposiciones aplicadas a la teoría polinuclear son aplicadas a la teoría espiral, se obtienen valores similares para la integración iónica, dificultando así la distinción del mecanismo que controla el grado de crecimiento²⁰.

También se han realizado estudios microestructurales del esmalte tratando de caracterizar la maduración de éste. Ekstrand y col. Realizaron una investigación en la que estudiaron las características de maduración del esmalte humano en terceros molares incluidos, por medio de microscopía óptica (MO) y microscopía de transmisión (MET). Ellos determinaron el grado de mineralización del esmalte por medio de estudios cuantitativos en luz polarizada. De esta manera fue posible distinguir entre tres etapas progresivas de mineralización del esmalte. La etapa más avanzada estaba caracterizada por porosidades externas. En las etapas menos avanzadas, las porosidades del esmalte parecían ser más extensas por debajo de una pequeña capa que era un poco menos porosa. Identificaron ameloblastos con terminaciones lisas y volares, las cuales correspondían al esmalte en maduración. Los ameloblastos que observaron, frecuentemente se mostraban con terminaciones lisas. También encontraron que las células del esmalte dental humano en maduración ampliamente revelaron las misma características en cuanto a su organización celular, características morfológicas, y complejos de unión que los descritos en la zona de maduración del órgano del esmalte de las ratas. Así mismo, concluyen que el patrón básico de la amelogénesis es idéntico en el esmalte humano y en el de las ratas²¹.

También se han llevado a cabo estudios ultraestructurales en esmalte no humano como es el caso de Kattie y col. quienes realizaron un estudio utilizando microscopía clásica, microscopía de barrido, microscopía de transmisión, difracción de rayos X y espectometría infrarroja, utilizando como muestra, los colmillos de la Viperidae (serpiente venenosa con hábitos terrestres o semi acuáticos). Ellos

32

encontraron que el esmalte estaba constituido de una capa externa calcificada, con un grosor de 0.4 micras, compuesto por cristales muy pequeños en forma de aguja y distribuidos aleatoriamente. La capa calcificada externa contenía invaginaciones que inducían poros en la superficie y se encontraron muchas fibras de colágena mineralizadas parcialmente, lo que puede sugerir un enameloide. La capa calcificada interna, con un grosor de 0.6 micras, estaba constituida por cristales muy pequeños, los cuales son paralelos unos con otros y perpendiculares a la capa calcificada externa²².

Línea Obscura

En el trabajo titulado "Caracterización del esmalte dental humano^{"23} se demostró que el esmalte esta formado por pequeños cristales de hidroxiapatita, y también que en cada uno de estos cristales se observa una línea que los cruza a lo largo de sus porciones centrales. Esta línea tiene un espesor de aproximadamente 1nm y su contraste es dependiente del foco: se presenta obscura cuando la imagen esta sobreenfocada, es blanca bajo foco y desaparece cuando la imagen esta exactamente en foco. La geometría de este defecto es tal que se puede extender completamente a través del cristal o terminar en cualquier punto dentro de este. Algunos autores ²⁴ opinan que este defecto es especialmente susceptible a caries puesto que todo hace suponer que sufre disolución preferencial durante los estadios tempranos del proceso carioso. Vogel y col.²⁴ realizaron un estudio para conocer la estructura, propiedades y el verdadero papel que juega esta línea en la estructura del esmalte. Sin embargo, hasta la fecha muchas preguntas acerca de su naturaleza y propiedades todavía se encuentran sin responder.

Otra hipótesis sobre la existencia de la línea obscura central ubicada en los prismas del esmalte, esta en relación con el proceso inicial de crecimiento¹. Cuisinier y

colaboradores estudiaron unos cristales en forma de cinta del esmalte en desarrollo de fetos humanos y los describieron como el primer mineral organizado formado durante la amelogénesis. En las imágenes de la red notaron la presencia de la línea obscura central (Loc) (Fig.2.13) la cual pareció estar asociada con un proceso inicial de crecimiento. Pero no pudieron determinar exactamente su estructura así como su función. En este estudio, aproximadamente el 50% de los cristales mostraron defectos estructurales. Los defectos estructurales notados con mayor frecuencia fueron las dislocaciones de tornillo, y se observaron en los cristales alineados a lo largo de 5 diferentes ejes. También encontraron fronteras con ángulos abiertos y cerrados. Las fronteras con ángulos cerrados encontradas en el centro del cristal pueden estar relacionadas con la Loc y sugieren que pueden estar implicadas en el paso de nucleación de la formación cristalina, mientras que las fronteras de ángulos abiertos pudieran resultar de la fusión de los cristales en forma Así mismo sugieren que tales mecanismos pudieran inducir una de cinta. aceleración del crecimiento en el grosor del cristal observado durante la etapa de maduración de la amelogenésis²⁵.



Fig. 2.13. Cristales de hidroxiapatita observados por medio de MET, en el centro de los cristales se observa la línea obscura

El trabajo titulado "Análisis Estructural y Químico del Esmalte Dental Humano Por Técnicas de microscopía Electrónica" ²⁵ se realizó para satisfacer la necesidad de reconocer y analizar los rasgos estructurales del esmalte como un camino a seguir para lograr una interpretación de la línea obscura. En este trabajo se incluyó el estudio comparativo de las estructuras anatómicas del esmalte, su composición química y la observación de la línea obscura en esmaltes de distinta edad. La línea obscura estuvo siempre presente en los cristales de esmalte de niño, adulto y anciano, dando como conclusión que esta no representa el inicio del proceso carioso. De hecho, la línea obscura es un punto vulnerable del esmalte y con una alta probabilidad de ser el núcleo de diferentes procesos que lo dañen. Alternamente se mostró en este trabajo que la línea obscura es en realidad un plano que cruza la estructura tridimensional del esmalte. Este fue un resultado de la observación del esmalte en dirección transversal y longitudinal de los prismas que lo componen.

2.2 Dentina

La dentina es un tejido conectivo mineralizado. Similar a los demás tejidos mineralizados, se origina como una matriz orgánica que subsecuentemente se mineraliza. La matriz orgánica esta formada por odontoblastos. La mineralización inicial y principal se presenta durante la dentinogénesis. También se presenta una mineralización gradual conforme avanza la edad. El componente inorgánico de la dentina esta formado principalmente por hidroxiapatita, mientras que la matriz orgánica esta formada principalmente por colágena, priteinas no colagenas tales como los proteoglicanos, glicosaminoglicanos, lípidos y citratos.

Estructura

Los odontoblastos son las células de la dentina. El cuerpo se encuentra ubicado en la pulpa (Fig.2.13) y presenta una larga extensión celular que se adentra en la dentina, a la cual se conoce con el nombre de proceso odontoblástico. Los túbulos dentinarios contienen, ya sea los procesos odontoblásticos o sus remenentes y tejido fluido (también llamado licor dentinario). La capa odontoblástica es una parte integral de la pulpa dental. La relación entre las células de la dentina y la pulpa representa una de las múltiples razones por las que la dentina y la pulpa (fig. 2.14) deberían de considerarse como una entidad funcional. La parte pulpar de la dentina esta rodeada por una matriz no mineralizada, la predentina. Esta se encuentra presente durante la dentinogénesis y a través de la vida del diente. La dentina conorania esta rodeada periféricamente por esmalte, y la dentina radicular por cemento. Las entidades mineralizadas comprenden la dentina intertubular y peritubular.



Figura 2.13. Corte de un incisivo. a) Dentina (D) Las lineas punteadas indican la direccion de los túbulos b) Dentina (D) Esmalte (E) Las lineas punteadas indican la direccion de los túbulos.



Figura 2.14. Cortes histológicos de un diente humano. a) Odontoblastos (O) Predentina (PD) Zona rica en celulas (CR) fibroblastos (F). b) Mayor aumento del corte. Odontoblastos (O) Fibroblastos (F)

Odontoblastos

Los odontoblastos son células columnares largas o algunas veces presentan formas cubicas, en especial en la raíz Su núcleo es ovalado, puede presentar uno o dos núcleos, y se ubica en la parte proximal de la célula (fig. 2.14).

Los procesos odontoblásticos se extienden desde el cuerpo celular hasta la dentina y se localiza en los túbulos dentinarios. Existe mucha controversia acerca de que tanto se extienden periféricamente los procesos citoplásmicos. Los estudios ultraestructurales indican que se pueden encontrar en la mitad interna o el tercio interno de la dentina. La estructura de su terminal periférica o su continuación como remanentes de un proceso es algo que aun no se entiende completamente. En ocasiones se observa que los odontoblastos presentan ramificaciones (fig. 2.15), y esto es más común en la unión amelodentinaria o en la unión cementodentinaria ²⁸.



Figura 2.15 Túbulos dentinarios. a) magnificacion de un túbulo dentinario (DT) en donde se observan sus ramificaciones (B). b) Tubulos dentinarios con ramificaciones (B) Esmalte (E) Dentina (D)

Túbulos dentinarios

La característica más relevante de la dentina la conforman sin lugar a dudas los túbulos dentinarios. (fig.2.17) Estos albergan a los procesos odontoblásticos. El tamaño de su luz depende de su ubicación dentro de la dentina así como de la edad del diente.

En dientes viejos los túbulos pueden estas completamente obturados por un alto nivel de mineralización. El numero de túbulos por unidad de área varia dependiendo de su ubicación dentro de la dentina. Lo túbulos dentinarios corren desde la unión amelodentinaria y cementodentinaria en una forma curvada y en ocasiones presentan una forma de «S».²⁸



Figura 2.16 a) Túbulos dentinarios de una muestra atacada quimicamente, observados con MEB b) amplificación del túbulo dentinario remarcado en la figura a.

Dentina peritubular.

La estructura altamente mineralizada que delinea los túbulos dentinarios en casi toda su longitud se conoce como dentina peritubular (fig. 2.18). La dentina peritubular tiene una escasa matriz orgánica, y sus pocas fibras de colágena son continuas con aquellas de la matriz intertubular. Se ha descrito una estructura membranosa e hipomineralizada que aparentemente delinea la parte interna de la dentina peritubular. Esta corresponde a un tubo en secciones desmineralizadas y puede corresponder a la vaina de Neumann.



Figura 2.17. Dentina peritubular observada con MEB a) Dentina peritubular observada a 300x b) dentina peritubular cercana a la pulpa observada a 2000x. Dentina peritubular (P) Túbulo dentinario (DT) c) Dentina peritubular cercana a la UAD. Túbulo dentinario (DT) Dentina peritubular (P)

Dentina Intertubular

Las áreas intertubulares constituyen la parte principal de la dentina. La colágena, que es su mayor componente orgánico, se considera orientado paralelo al patrón incrementario. La cantidad de dentina intertubular disminuye conforme se acerca a la pulpa. Se encuentra igualmente mineralizada, con excepción de un área de la dentina coronal ubicada cerca de la dentina, donde se encuentra un poco menos mineralizada que en el resto de la dentina (fig.2.18). Esta área se encuentra pulpar a la extensión de la dentina peritubular en los dientes recién erupcionados.





Predentina

La matriz de dentina no mineralizada, de aproximadamente 15 mm de ancho y que delinea toda la zona pulpar de la dentina se conoce como predentina. Morfologicamente puede diferenciarse en dos capas (fig. 2.19): predentina nueva y vieja. La vieja se encuentra cercana a la dentina. La interpase dentina/predentina esta caracterizada por calcosferitas (fig. 2.19). Estas estructuras globulares representan los focos de mineralización que se fusionan durante la mineralización. Ocasionalmente se encuentra una falta generalizada de predentina, y esta refleja una condición patológica.



Figura 2.19 Corte histológico de un diente humano a) Predentina (PD) Calcosferitas (C) Odontoblastos (O).b) Dentina (d) Pulpa (P) c) Predentina Nueva (N) Predentina vieja (V).

2.3 Unión amelodentinaria

La estructura y propiedades físicas de la unión amelodentinaria (UAD) son parámetros críticos para el diseño racional biomimético de los tejidos duros del diente. La UAD es la unión en donde interactuan física, química y mecánicamente la dentina y el esmalte. La UAD (Figs 2.8 y 2.9) es el sitio en donde se da el entrelazado estructural , y a su vez provee un acoplamiento mecánico entre la dentina y el esmalte, formando un gradiente funcional "herramienta biogénica" Es esencial contar con un conocimiento detallado de la arquitectura tanto del esmalte como de la dentina, así como de sus propiedades locales en vecindad de la UAD, incluyendo la estructura tridimensional (anisotrópica) y un mapa de propiedades a escala nanométrica y micrométrica.



Figura 2.8. Unión amelodentinaria vista a través de un microscopio óptico con una resolucion de 20x. Muestra pulida al alto brillo.



Figura 2.6 Corte de esmalte visto por medio de un microscopio óptico con una resolucion de 20x. La muestra fue pulida al alto brillo con una lija 4000, y atacada con un grabado ácido (ácido fosfórico al 5%) durante 3 minutos

La superficie de la dentina en la unión amelodentinaria presenta invaginaciones. Dentro de las depresiones poco profundas de la dentina se ajusta rodeando las prolongaciones del esmalte. Esta relación asegura la firme retención del esmalte sobre la dentina. Por lo tanto en los cortes aparece la unión amelodentinaria no como una línea recta, sino como festoneada (Fig. 2.8). Las convexidades de las ondas están dirigidas hacia la dentina. La unión amelodentinaria festoneada esta formada aún antes del desarrollo de los tejidos duros y es evidente en la organización de los ameloblastos y la membrana basal de la papila dentaria⁴. En microradiografías de cortes por desgaste de la unión amelodentinaria

CAPITULO III Metodología

En este capítulo se describirá la forma de preparar las muestras según la técnica utilizada, tal como son la microscopía electrónica de barrido y transmisión, el análisis químico por rayos X, y las pruebas de microdureza. Los métodos descritos son los más usados comúnmente en metalurgia y que han demostrado su utilidad en el estudio del esmalte dental; su descripción se realizara en forma detallada. Los equipos aquí utilizados se encuentran en el laboratorio de microscopía electrónica del Instituto de Física de la UNAM, lugar donde se desarrollo el trabajo experimental.

3.1 Material Y Método

Para la realización de este estudio se analizaron las muestras en un microscopio óptico, electrónico de barrido y en uno de transmisión. Las preparaciones para estos tres microscopios son muy diferentes, aunque en general, los pasos de corte y pulido son iguales en la preparación de estas muestras. Por lo que a continuación se describe el método de corte y pulido.

,0

Corte y Pulido de la Muestra

1. El diente se corta sagitalmente en el microtomo(Fig.3.1); En este paso, la muestra se embebe en un material termoplástico y se coloca en un portamuestra. Una navaja de diamante es pasada a través de la muestra, produciendo rebanadas de espesores iguales a la distancia que se mueve el portamuestra en cada corte.

2. Una vez cortado el diente y una vez que se obtuvo una rebanada, se identifica la unión amelodentinaria y se realizaran 4 cortes adicionales para obtener un rectángulo de 2mm por 3 mm (Fig.3.2).

3. Ya obtenida la muestra se procede a desgastarla en una pulidora con una lija 320, hasta que la superficie de la muestra se encuentre plana.

4. Ya con la muestra plana se procede a pulir la muestra con una lija 4000 hasta lograr un brillo de espejo.



Figura 3.1 Microtomo Disco de diamante (D) Diente (M) Tornillo micrométrico (T)

Muestras para microscopía electrónica de barrido(MEB):

Como ya se comentó, el MEB nos permite estudiar la morfología de las muestras, así como obtener su análisis químico, por lo tanto la muestra se prepara de la siguiente manera.

1. Una vez obtenido el rectángulo (2x3mm) este se atacara con ácido ortofosfórico para revelar la estructura.

2. Una vez atacado con ácido la mitad de la muestra se introducirá en la evaporadora para que sea rociado con un vapor de oro que formara una pequeña película sobre la muestra la muestra obtenida de esta manera servirá para ser observada en el MEB.

5. La otra mitad de la muestra será rociada con vapor de carbón esta muestra obtenida de esta manera servirá para realizar el análisis químico en el MEB.



Fig. 3.2. Corte transversal de la corona de un diente a partir del cual se obtiene la muestra de la unión amelodentinaria de 3x2mm.

Muestras para microscopía electrónica de transmisión (MET)

Las muestras que pueden ser observadas en un microscopio electrónico de transmisión deben ser lo suficientemente delgadas en la dirección de movimiento del haz electrónico para ser "transparentes" a los electrones. Las muestras son transparentes a los electrones cuando tienen un espesor del orden de 50 a 100 nm. Existen varios métodos para le preparación de estas muestras, y difieren entre si solo en algunos detalles. A continuación mencionaremos la forma de obtener una muestra dental:

1. El diente se corta sagitalmente en el microtomo; En este paso, la muestra se embebe en un material plástico y se colocara en un portamuestra. Una navaja de diamante es pasada a través de la muestra, produciendo rebanadas de espesores iguales a la distancia que se mueve el portamuestra en cada corte.

2. Una vez obtenido el segmento de esmalte de 3mm por 3 mm y 1mm de grosor (Fig.3.2), este se colocara en el portamuestras de la pulidora y se procederá a devastar su superficie hasta obtener un grosor de 100 micras.

3. Una vez que la muestra tenga 100 micras de espesor, se procederá a realizar una concavidad en su centro para obtener un grosor aproximado de 8micras (Fig.3.3).

4. Una vez que la muestra tiene un grosor de 8 micras se procederá a colocarla dentro del pulidor iónico (aparato para lograr un adelgazamiento de la muestra por medio de un haz iónico) para reducir el grosor a 1nm. Este método involucra el desprendimiento de átomos de la superfície por el bombardeo de iones de alta energía. Se realiza en el vacío y los iones que generalmente se usan son Ar+ con energías de 5 a 10 KeV. En este proceso el haz iónico es enfocado al área de ataque. la desventaja que presenta este método es que el tiempo para producir muestras es muy largo



Fig.3.23 a) Dimpler b) movimiento del soporte y disco del dimpler c) Muestra con un grosor de 8 micras.

Muestras para espectroscopía de dispersión de energía de los rayos X característicos (EDS)

Se obtuvieron 3 órganos dentales (Premolar, Primer molar superior derecho, Primer molar superior izquierdo) de pacientes adultos. De cada órgano dental se obtuvo una muestra para su observación en el microscopio electrónico de barrido. Dichas muestras se obtuvieron seccionando los órganos dentales en forma transversal con la ayuda de una recortadora y un disco de diamante, utilizando la técnica de corte y pulido antes mencionada, hasta lograr un brillo de espejo. Dicha muestra abarcaba toda la corona clínica del diente. A continuación se fijaron las muestras en barriles de cobre (fig. 3.4) por medio de una pintura de plata, para ser recubiertas después con una película de carbón.



Figura 3.4 Molares y premolares fijados en los barriles y zonas en donde se realizo en análisis químico. A) UAD B) Zona intermedia C) Superficie. 1) Cuello 2) Tercio medio 3) Cuspide

3.2 Universo de trabajo

• Molares y Premolares de pacientes entre 15 y 30 años, extraídos en la clínica de exodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México

3.3 Tipo y tamaño de la muestra

3.3.1 Tipo de muestra

Esmalte dental humano de pacientes entre 15 y 30 años obtenido de premolares y molares.

3.3.2 Tamaño de la muestra

30 Cortes de la Unión amelodentinaria

- 15 cortes de esmalte con Dentina
 - 5 Cortes obtenidos del cuello del diente
 - 5 Cortes obtenidos del tercio medio
 - 5 cortes obtenidos del tercio oclusal
- 15 Cortes de Esmalte sin dentina
 - 5 Cortes obtenidos del cuello del diente
 - 5 Cortes obtenidos del tercio medio
 - 5 cortes obtenidos del tercio oclusal

• 15 Cortes de Esmalte obtenido de la

superficie de la corona

- 5 Cortes obtenidos del cuello del diente
- 5 Cortes obtenidos del tercio medio
- 5 cortes obtenidos del tercio oclusal

3.4 Criterios de inclusión de la muestra

- Dientes sanos
- Dientes obtenidos de pacientes entre 13 y 28 años
- Dientes cuya raíz esté completamente erupcionada
- Dientes extraídos por indicación ortodóncica o periodontal.
- Dientes sin manipulación o alteración de la unión amelodentinaria.

3.5 Criterios de exclusión de la muestra

- Dientes cariados
- Dientes obturados
- Dientes con Malformaciones
- Dientes Fracturados
- Dientes Contaminados

3.6 Variable independiente

• Esmalte de la unión amelodentinara

(Aquella región del esmalte que esta en intimo contacto con la dentina)

• Esmalte de la superficie del diente

(Aquella zona del esmalte que se encuentra en

3.7 Variable dependiente

• Estructura molecular

Se medira la disposición atómica a nivel nominal

- Estructura química
- Se medirá la proporción de sus componentes y la relación Ca/P.

3.8 Análisis estadístico

• El Análisis de la información se realizará con el paquete estadístico SPSS. Aplicando a cada variable las medidas de Promedio, Varianza y Desviación estándar, además de un análisis de Anova.

CAPÍTULO IV Resultados

Los resultados que se presentan a continuación provienen de diferentes técnicas abarcando la microscopía óptica, la microscopía electrónica de barrido y la microscopía electrónica de transmisión. De igual manera se obtuvieron resultados de microdureza y microanálisis. Es decir, se realizó el análisis de la unión amelodentinaria a partir la información de las propiedades estructurales y mecánicas de los dientes analizados.

4.1 Microscopía óptica.

Con la ayuda de la microscopía óptica se llevo a cabo un análisis del esmalte, dentina y unión amelodentinaria. En la figura 4.1 se muestra una imagen de la unión amelodentinaria vista por medio de esta técnica.



Figura 4.1 Unión amelodentinaria vista por MO. Dentina (A) Esmalte (B). La muestra fue pulida al alto brillo con una lija 4000, sin embargo, no presenta estructura alguna, solo rayones producidos por la lija.

La muestra presentada en la figura 4.1 fue pulida al alto brillo con una lija 4000 seguida de un pulido con paño y polvo de alumina. Nótese que cuando la muestra únicamente se pule, no es posible diferenciar los detalles estructurales, en esta imagen podemos observar claramente la unión amelodentinaria ubicada en el centro de la muestra corriendo del extremo inferior izquierdo hacia el extremo superior derecho del cuadro. Sin embargo, no se pueden observar a detalle las estructuras de la dentina y esmalte, sino que únicamente se observa un rayado producido por la lija, y solo diferenciamos la dentina del esmalte porque la primera presenta una superfície con pequeños orificios.



Figura 4.2. Unión amelodentinaria observada con MO. La muestra fue pulida al alto brillo y atacada con ácido fosfórico al 20% por 60 segundos. Zona correspondiente a una cúspide. Dentina (A) Esmalte (B)

A partir de esta observación se decidió que era pertinente, además del pulido a espejo, realizar un ataque ácido del diente. Los resultados así obtenidos se pueden observar en la figura 4.2 En esta imagen nuevamente observamos la dentina, esmalte y unión amelodentinaria, pero a diferencia de la figura 4.1 aquí si se observan detalles estructurales de ambas estructuras, esbozándose en el esmalte las bandas de Hunter Schreger, producto del cambio de dirección de los prismas. En la figura 4.3 se presenta un mayor acercamiento y la unión amelodentinaria es claramente observada. En las tres figuras anteriores se puede observar que la unión amelodentinaria no es una línea recta sino que presenta un trayecto irregular con innumerables protuberancias. En la figura 4.3 se observa un rayado característico de la dentina, pero en esta amplificación no se observa ningún rayado en el esmalte dental; Este se observa casi liso con unas protuberancias que se internan en él. Estas protuberancias no presentan periodicidad, sino que son completamente aperiódicas. Esta imagen corresponde al tercio medio interproximal, sin embargo, las características comentadas son observadas en cualquier región de la muestra.



Figura 4.3 Unión amelodentinaria vista con MO. Esmalte (A) Dentina (B). La muestra fue pulida al alto brillo y grabada con ácido fosfórico. La muestra corresponde a la región del tercio medio interproximal.

En la figura 4.4 se observa la unión amelodentinaria con mayor definición. En esta imagen se observan los penachos del esmalte (Prismas mineralizados incompletamente) y las bandas de Hunter Schreger, pero no es posible identificar los prismas del esmalte en esta amplificación. A pesar de todo esto, los detalles son mejores que en las figuras anteriores.



Figura 4.4 Unión amelodentinaria observada con MO a 20x. Zona correspondiente al tercio medio interproximal. Esmalte (A) Esmalte (B)

En la figura 4.5 se observan más claramente los penachos del esmalte y las estructuras del esmalte, dentina y unión amelodentinaria. Si queremos obtener una mayor resolución de la unión amelodentinaria se tiene que provocar un ataque más severo. Este tipo de ataque revela con una mayor amplificación los prismas del esmalte, y esto es claramente observable en la imagen de la figura 4.6.


Figura 4.5. Unión amelodentinaria observada por MO. La muestra fue pulida al alto brillo y atacado con ácido fosfórico al 20% por 60 segundos. En esta imagen sse pueden obsrvar claramente los penachos del esmalte. Dentina (D) Esmalte (B) Penacho (1).

En la figura 4.6 podemos observar los prismas en una región cercana a la unión amelodentinaria, nótese que los prismas siguen un trayecto ondulado. Esta es una de las primeras imágenes que nos dieron información del trayecto que siguen los prismas del esmalte, desde su unión amelodentinaria hacia la superficie del esmalte. Los resultados obtenidos por medio de microscopía óptica son excelentes, sin embargo, todavía había detalles que se requería conocer con mayor detenimiento. Así pues con estas imágenes llegamos a la conclusión de que la unión entre la dentina y el esmalte no es completamente recta: A bajas amplificaciones, como sería el caso de la figura 4.2, se puede observar como una línea recta, pero a mayores amplificaciones se observa que esta unión esta completamente deformada o se podría decir que casi presenta una forma ondulada o festoneada, en donde las convexidades se encuentran orientadas hacia la dentina. Esto permite una mayor adherencia del esmalte sobre la dentina. Otro de los resultados importantes de esta sección es que cerca de la unión amelodentinaria los prismas siguen una dirección ondulada existiendo regiones en donde esta ondulación es extrema, formando lo que se ha denominado penachos. Otras de las características importantes que se observan en este tipo de figuras es que a bajas amplificaciones la única región que se muestra con estrias o «rayado» es la dentina, y el esmalte se presenta completamente liso; Solo por medio de un ataque químico y a altas amplificación es que se pueden observar los prismas que lo componen.



Figura 4.6 Esmalte cercano a la Unión amelodentinaria observado con MO a 50X. En esta imagen se observa la ondulación presentada por la orientación de los prismas que conforman el esmalte. La muestra fue pulida al alto brillo y atacada con ácido fosfórico al 20% durante 60 segundos.

4.2 Microscopía electrónica de barrido

A partir de los resultados obtenidos en la sección anterior se llego a la conclusión de que se necesitaba una mayor resolución para el estudio de la unión amelodentinaria. El siguiente paso en resolución, corresponde al microscopio electrónico de barrido. La observación de los prismas, que es algo difícil de obtener por medio de microscopía óptica, se observan fácilmente con esta ultima técnica si es que se realiza un ataque adecuado de la superfície.

En la figura 4.7 se observa el esmalte dental en forma transversal, es decir corresponde a la superficie del esmalte. Aquí los prismas asemejan escamas o esferas que no presentan un ordenamiento periódico sino que aparentemente es completamente al azar. En esta imagen el contraste obtenido nos permite diferenciar claramente las líneas incrementales de Retzius. Si observamos el esmalte en sección longitudinal se puede apreciar un rayado que no es otra cosa que los prismas viajando desde la superficie del esmalte hacia la unión amelodentinaria. Esto se muestra en la figura 4.8, en esta figura el esmalte fue cortado en forma longitudinal y atacado de tal manera que revela la dirección de los prismas.



Figura 4.7 Prismas del esmalte observados por MEB. En esta imagen se observan los prismas de la superficie del esmalte (vista transversal), la muestra fue grabada con ácido fosfórico al 20%. Lineas de Retzius (R)



En la figura 4.9 se muestra un mapa del espesor completo del esmalte dental humano, aquí podemos apreciar que la trayectoria que siguen los desde unión prismas 1a amelodentinaria hacia la superficie no es una línea recta sino que más bien es una trayectoria ondulada, la cual puede ser fácilmente calcada en un papel, reflejando así un tipo de función «senoidal» en las regiones próximas a la superficie, pero completamente caóticas en las regiones cercanas a la unión amelodentinaria.

Figura 4.8. Vista panorámica del espesor completo del esmalte dental humano en una vertiente de la cúspide de un molar superior. Observese la trayectoria ondulada que siguen los prismas desde la uníon amelodentinaria hasta la superficie.

Figura 4.9 Representación esquematica de la trayectoria que siguen los prismas de la figura 4.8 dentro de la 2a,3a, y 4a zonas. A partir de esta figura podemos dividir el espesor del esmalte en 4 zonas: la primera zona, con un espesor de aproximadamente 150 μ m, se caracteriza por presentar las protuberancias conocidas como penachos; la segunda zona de aproximadamente 150 μ m de espesor, se caracteriza por la trayectoria casi paralela (perpendicular a la unión amelodentinaria) que siguen los prismas; la tercera zona, con un espesor aproximado de 80 μ m, se carateriza por ser la región en donde se localizan los prismas siguiendo una trayectoria caótica formando nudos; la cuarta zona siendo la mas grande con un espesor de aproximadamente 850 mm, se caracteriza porque en ella los prismas siguen una trayectoria ondulatoria suavizada. Se podria decir que en esta cuarta zona, la trayectoria es senoidal pero con una longitud de onda mucho mayor a 1 milímetro.

De esta manera la primera zona es la que se inicia a partir de la unión amelodentinaria y la cuarta zona finaliza en la superficie del esmalte. Claramente, los espesores de cada una de las zonas son aproximados, y de cierta manera un poco arbitrarios. Sin embargo es definitivo que la trayectoria de los prismas a lo largo del espesor del esmalte se puede dividir en estas cuatro zonas. Haciendo un acercamiento de los dos extremos, es decir, de la superficie (4ta zona) y de la unión amelodentinaria (1era zona), observamos imágenes como las mostradas en la figura 4.10 y 4.11. La figura 4.10 muestra los prismas cercanos a la superficie, en este caso los prismas muestran una trayectoria rectilínea y son paralelos unos con otros, formando un ángulo diferente de 90° con respecto a la superficie del diente. Por otro lado, en la figura 4.11 los prismas muestran una dirección ondulada, y no es paralela, incluso se pueden observar trayectorias encontradas y formando ciertos ángulos con la unión amelodentinaria. Se puede decir que este tipo de trayectoria se puede representar con una funcion senoidal pero de periodo corto (con una longitud de onda de aproximadamente 150µm)



Figura 4.10 Prismas del esmalte observados por medio de MEB. Esta imagen muestra los prismas de la superficie observados en un corte longitudinal Superficie (B) Interior (A) Observese que todos los prismas son paralelos aunque formen un ángulo diferente de 90° con la superficie del esmalte.

Figura 4.11 Prismas del esmalte observados por medio de MEB. Esta imagen muestra los prismas cercanos a la unión amelodentinaria observados en un corte longitudinal Dentina (B) Esmalte (A) observese que los prismas siguen una trayectoria ondulatoria con una longitud de onda de aproximadamente 150µm.



Otra de las características que podemos observar en la figura 4.11 es la ondulación que presenta la unión amelodentinaria, para poder observar con mayor detalle esta región se presenta la figura 4.12. En ésta se observan ciertas protuberancias que van del esmalte dental a la dentina. Nótese la curvatura y las protuberancias. Estas protuberancias se observan aun mejor en la figura 4.13 en donde se presenta una mayor amplificación de la figura 4.12.



Figura 4.12 Detalle de la Unión amelodentinaria 500 x. Dentina (D) Esmalte (E). Nótese la curvatura que presenta la interfase hacia la dentina y las protuberancias que se presentan.



Figura 4.13 Amplificación de la zona de la unión amelodentinaria 2000x. Dentina (D) Esmalte (E). Esta es una magnificación de la imagen anterior, y aqui se observan con mayor detalle las protuberancias hacia la dentina.

La figura 4.14 presenta una imagen de la unión amelodentinara en donde se observa el nacimiento del esmalte dental y la terminación del material dentinario. Esta es la zona que produce las protuberancias observadas en las figuras 4.12 y 4.13. Recapitulando se puede decir que el esmalte presenta una gran curvatura en su unión amelodentinaria y es casi recta en la superfície del diente. Por su parte, la unión amelodentinaria no es una linea recta, sino que presenta ciertas protuberancias del tipo de la funcion seno cuadrado (Sen² θ)



Figura 4.14 Mayor amplificación de la unión amelodentinaria 2000x. Esmalte (E) Dentina (D)

Las figura 4.17, 4.18 y 4.19 muestran un corte de diente en una vertiente cuspidea a diferentes amplificaciones. Al igual que en imagenes anteriores podemos observar que los prismas presentan una dirección rectilinea, pero como observamos en la imagen 4.18 los prismas presentan una curvatura general que desarrollan para poder mantener una posición casi perpendicular con la superficie. sin embargo al observar la figura 4.19 podemos que cerca de la superficie los prismas adquieren un trayecto curvado.



Figura 4.17. Imagen de la vertiente de una cúspide observada por MEB a 100x



Figura 4.18. Imagen de la vertiente de una cuspide observada a 500x Aqui se observa la curvatura que adquieren los prismas en esta región. Esta fotografía es una ampliación de la fig 4.17.



Figura 4.19 Imagen de la vertiente de una cuspide a 2000x. A esta magnificación observamos como los prismas presentan un patron rectilineo. Esta fotografia es una ampliación de la figura 4.18.

4.3 Microscopía electrónica de transmisión.

Para obtener aun mayor detalle se produjeron muestras para microscopía electrónica de transmisión. Las imágenes de microscopía electrónica de transmisión manejan dimensiones nanométricas. Las muestras obtenidas a partir de la superficie del esmalte y las obtenidas cerca de la unión presentaron muy pocas variaciones en el arreglo y dimensiones de los granos que conforman los prismas del esmalte dental humano. En sección transversal los cambios fueron insignificantes.

La figura 4.15 muestran los cristales de hidroxiapatita, mismos que conforman a los prismas del esmalte. En este caso es un corte en sección transversal; Nótese que no son circulares ni hexagonales sino que presentan una forma irregular, también se puede decir que no siguen un patrón regular, sino que están orientados al azar.



Figura 4.15. Cristales de hidroxiapatita del esmalte dental humano observados en dirección transversal. Nótese como estos cristales presentan un arreglo equiaxial.

En la figura 4.16 se muestra una imagen del esmalte dental preparada en sección longitudinal. Aquí se observa que los cristales que conforman el esmalte son alargados. Por lo tanto estamos hablando de cristales alargados en sección longitudinal y equiaxiales en dirección transversal. Las diferencias entre los cristales en la región amelodentinaria y en la superficie no fueron significativas. Cabe mencionar que la preparación de muestras para microscopía de transmisión es muy complicada y se requiere de mucho tiempo para su producción. Sin embargo hasta el momento no se determino alguna diferencia importante



Figura 4.16. Cristales de hidroxiapatita del esmalte dental humano en direccion longitudinal. Nótese el arreglo texturizado que los cristales del esmalte presentan en esta dirección.

4.4 Estudio de la microdureza.

Con la idea de obtener resultados que nos permitieran lograr una mejor caracterización de la unión amelodentinaria se llevaron a cabo análisis de microdureza (Fig. 4.20). En esta parte se realizo nuevamente un mapeo en el espesor del esmalte, desde su superficie hasta la unión amelodentinaria, y adentrandonos algunos milímetros dentro de la dentina. Este mapeo se llevo a cabo en tres zonas diferentes, correspondiendo a una fosa, una cúspide y al tercio medio del diente (fig.4.21d). Este mapeo se practicó en tres dientes diferentes tomando un promedio de 22 medidas en cada zona, sumando un total de 53 mediciones en cada diente.



Figura 4.20 Imagen de microdureza. El indentador es un diamante en forma de piramide cuadrangular. Para conocer la dureza, se miden las diagonales de la pramide y se utiliza la ecuacion comentada en el capítulo I En la gráfica de la figura 4.21 observamos que el esmalte es más duro que la dentina y que la unión amelodentinaria no es más que una zona de transición en lo que respecta a la dureza. Podemos ver que el esmalte dental presenta una dureza Vickers por arriba de las 300 unidades mientras que la dentina presenta una dureza aproximada de 50 unidades. Es decir, en promedio, el esmalte es seis veces mas duro que la dentina.

Como se puede observar en las tres gráficas, no existe un comportamiento idéntico entre éstas, lo que si se repite es que la superficie del esmalte dental presenta una mayor dureza, y conforme nos acercamos a la unión amelodentinaria la dureza disminuye notablemente, hasta llegar a la dureza que presenta la dentina. En las tres zonas analizadas las gráficas presentan esta misma característica (gráficas 4.21,4.22,4.23).

Como se observa en la figura 4.24, la dureza del esmalte disminuye conforme se acerca a la unión amelodentinaria. Esta disminución tiene un comportamiento que no es fácil de interpretar matemáticamente. Sin embargo, a primera aporximación se puede decir que los tipos de funciones, posibles candidatas a interpretar este comportamiento, son de tres tipos:

$$D = -ax + b$$
$$D = ae^{-x}$$
$$D = -\sqrt{x} b + a$$

Donde las dos primeras son las mas indicadas para ejemplificar el tipo de comportamiento, aunque como se aprecia en las figuras 4.21,4.22 y 4.23, algunas veces la dureza puede ser mejor descrita por la tercera ecuacion (fig.4.21)

Figura 4.21 Análisis de microdureza del diente 1 a) fosa b)cuspide c)tercio medio

No.	Diag.Hor	Diag.Vert	Promedio	Dureza
Medición			15	Vikers
1	11	10	10.5	420
2	12	11	11.5	350
3	10	11	10.5	420
4	10.5	11	10.7	405
5	12	13	12.5	297
6	12	14	13	274
7	13	14	13.5	254
8	13.5	14	13.75	247
9	16	15.5	15.75	188
10	16.5	16	16.25	177
11	17	14.5	15.75	188
12	14.5	16.5	15.5	193
13	13.25	14.55	13.9	240
14	15.7	18.7	17.2	157
15*	32.25	29.25	26.25	67.5
16*	29.5	28.5	29	55.1
17*	27.5	26	26.75	65.0
18*	26.0	26	26	68.6
19*	27.0	27	27	63.6





Figura 4.21 continuación b) corte del diente Mediciones del cuello (Cu) tercio medio (TM) cuspide (C). En cada zona se realizaron de 17 a 21 medidas según la zona, mapeando: Superficie (S), Zona intermedia y Unión amelodentinaria(UAD).

С



Figura 4.22 Análisis de microdureza del diente 2 a) fosa b)cuspide c)Tercio medio

No. Medición	Diag.Hor	Diag Vert	Promedio	Dureza Vickers
1	11	10.5	10.75	404.9
2	11.5	13	12.25	311.5
3	16	14	15	206
4	12.5	14	13.75	247
5	13	11	12	321.9
6	12	14	13	274.3
7	14	13	13.5	254.4
8	16	15	15.5	193.0
9	16	17	16.5	170.3
10	15	13	14	236.5
11	15	14	14.5	220.5
12	16	18	17	163.4
13*	31.5	32	31.75	46.13
14*	28.5	29	28.75	56.28
15*	30	32	31	48.28
16*	33	32	32.5	43.89
17*	35	33	33.5	41.31



С

٠

Figura 4.22 continuación

.

No. Medición	DI	D2	Promedio	Dureza Vickers
1	9.5	9.7	9.6	503.6
2	9.2	9.5	9.35	536
3	10	9.5	9.75	492
4	11	11.5	11.25	369
5	11.5	9.5	10.5	360
6	12	12.5	12.25	311.5
7	11	12	11.5	293
8	14	12	13	274.3
9	12	10	11	327
10	11.2	11.8	11.5	350
11	15	14	14.5	293
12	12.5	13.5	13	274.3
13	13	14	13.5	254
14	14.5	14.5	14.5	220
15	14	13.5	13.75	247
16	32	34	33	42.57
17	33	35	34	40.1
18	31.5	34	32.75	43.36
19	34	21	32.5	43.89
20	32.5	34	32.25	44.71
21	34	36	35	37.84







÷





Figura 4.23 Análisis de microdureza del diente 2 a) fosa b)cuspide c)Tercio medio

No. medición	D1	d2	Promedio	Dureza Vickers
1	10	11	10.5	420
2	12	10.5	11.75	338
3	11	9.5	10.25	445.6
4	12	11	11.5	350.5
5	12	10	11	383.1
6	14	13	12	321.9
7	13	12.5	12.75	287.4
8	14	15	14.5	220.5
9	13.5	14	13.75	247
10	14.5	13.5	14	236.5
11	15	15	15	206
12	15	16	15.5	193
13	35	34.5	34.75	38.6
14	33	35	34	40.1
15	35	34	34.5	38.95
16	33	31	32	45.27
17	29	27	28	59.13





Figura 4.23 continuación



4.5 Análisis químico

También se realizó el análisis químico por espectroscopía de dispersión de energía de los rayos X característicos (EDS). Los resultados mostraron los componentes principales del esmalte dental. En la figura 4.25 observamos los picos característicos de rayos X de éste material y que corresponden al fósforo, calcio, y oxigeno. Esta técnica no detecta hidrogeno por lo que este no aparece en la gráfica. Podemos ver que la estadística de la gráfica es fácil de interpretar.

Los elementos mayoritarios que se observan en las gráficas corresponden al calcio y al fósforo. Podemos ver que el fósforo conforma alrededor del 30% el calcio alrededor del 60 o 65%. Los elementos minoritarios que se encontraron fueron el sodio, cloro, y en algunos casos magnesio. Nótese que siempre la relación Ca/P se encuentra por arriba de 2 (es decir más Ca) mayor a la relación que presenta la hidroxiapatita sintetica, es decir de 1.67.Para representar la distribución de estos elementos se graficaron sus diferentes concentraciones de acuerdo a sus porcentajes y ubicación dentro del esmalte (figuras 4.26, 4.27 y 4.28)

De esta forma tenemos que el comportamiento del sodio es alto en la unión amelodentinaria y comienza a disminuir a medida que se acerca a la superficie. El comportamiento del fósforo continuo con una concentración alta en la unión amelodentinaria y disminuye a medida que nos acercamos a la superficie. En el caso del cuello del diente el calcio es alto en la unión amelodentinaria y disminuye hacia la superficie, mientras que en el tercio medio es más alto en la zona intermedia que en la unión o en la superficie. Por lo tanto el comportamiento del calcio depende de la zona analizada.

78

Analizando el cloro, podemos decir que la unión amelodentinaria presenta muy poco cloro mientras que la superficie presenta una mayor concentración. Por lo tanto el cloro aumenta en la superficie y disminuye en la unión amelodentinaria. El magnesio se detecto en algunos casos pero no en todas las regiones, por lo tanto habría que determinar cual es su comportamiento.

En el otro molar analizado tenemos que el sodio se vuelve a comportar de igual manera, es decir, es mayoritario en la unión amelodentinaria y disminuye en la superficie. Mientras que el fósforo se comporta diferente, este depende de la posición, es decir, el cuello presenta mayor concentración en la unión amelodentinaria que en la superficie, el tercio medio presenta mayor fósforo en la unión amelodentinaria que en la superficie. En la cúspide la zona intermedia presenta menos fósforo que las otras dos zona.

El calcio presenta nuevamente el mismo comportamiento, el cuello presenta mayor concentración en la unión amelodentinaria que en la superfície y el tercio medio presenta más calcio en la zona intermedia. En la cúspide la unión amelodentinaria presenta menor concentración que la superfície.

El cloro se comporta de la misma manera presentando mayor concentración en la superficie que en la unión amelodentinaria, de hecho existen zonas de la unión como el tercio medio en donde no se observa nada de cloro.

Para lograr un mayor detalle de la composición se llevó a cabo un mapeo químico, y no se observa mucha diferencia en la concentración de los elementos de la dentina y el esmalte. Cuando mucho se podría decir que el calcio presenta mayores concentraciones en el esmalte que en la dentina.

79

TA TESIS NO DEBE

DE LA BIBLIOTECA



Figura 4.25 Espectro característico de EDS proveniente del esmalte dental humano y en el cual se detectaron sus principales componentes químicos.

	P	St. Calles Ca	Ca/Pº
Cuello UAD	31.41	66.99	2.13
Cuello Z.I.	32.66	65.23	1.99
Cuello Sup.	31.65	66.02	2.08
T.M. UAD	33.38	64.72	1.93
T.M.Z.(31.92	66.6	2.08
T.M. Sup	31.67	65.1	2.05
Cuspide UAD	31.28	67.84	2.16
Cuspide Z.I.	30.81	67.84	2.20
Cuspide Sup	28.3	70.75	2.5

Figura 4.26 a)	Elementos	mayoritarios	y la	relación	Ca/P	obtenidos	en el
		molar	l.				





	Na	Cl	Mg
Cuello UAD	1.6	0	0
Cuello Z.I.	1.46	0.64	0
Cuello Sup	1.02	1.31	0
T.M. UAD	1.9	0	0
T.M.ZI	1.48	0	0
T.M.Sup	1.53	1.69	0
Cuspide UAD	1.37	0	0
Cuspide Z.I.	0.74	0.6	0
Cuspide Sup	0	0.93	0



Figura 4.26.b) Elementos minoritarios obtenidos en el molar 1

Cuello	Na
UAD	1.6
Z.I.	1.46
Sup.	1.02
Tercio Medio	Na
UAD	1.9
Z.I.	1.48
Sup.	1.53
Cuspide	Na
UAD	1.37
Z.I.	0.74
Sup.	0





Figrura 4.26 c) Comportamiento de la concentración del sodio del molar 1

Cuello	
UAD	31.41
Z.I.	32.66
Sup.	31.65
Tercio Medio	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
UAD	33.38
Z.1.	31.92
Sup.	31.67
Cuspide	<u> </u>
UAD	31.28
Z.I.	30.81
Sup.	28.3



.



Figrura 4.26 d) Comportamiento de la concentración del fosforo del molar 1

Cuello	Ca
UAD	66.99
Z.I.	65.23
Sup.	66.02
Tercio Medio	
UAD	64.72
Z.I.	66.6
Sup.	65.1
Cuspide	
UAD	67.84
Z.I.	67.84
Sup.	70.75

~





Figrura 4.26 e) Comportamiento de la concentración del calcio

Cuello UAD	0
Cuello Z.I.	0.64
Cuello Sup.	1.31
T.M. UAD	0
T.M. Z.I	0
T.M. Sup.	1.69
Cuspide	0
UAD	
Cuspide Z.I.	0.6
Cuspide Sup	0.93







Figrura 4.26 f) Comportamiento de la concentración del cloro del molar 1

	P NORM	Ca	Ca/P
Cuello UAD	31.05	67.6	2.17
Cuello Z.I.	30.58	66.81	2.18
Cuello Sup.	31.09	66.72	2.14
T.M. UAD	30.38	66.81	2.19
T.M. 2.1	30.9	67.45	2.18
T.M. Sup.	31.33	66.3	2.11
Cuspide UAD	30.89	66.82	2.16
Cuspide Z.I.	30.15	68.04	2.25
Cuspide Sup	30,89	68	2.20

Fig.4.7 a) Elementos mayoritarios y la relación Ca/P obtenidos en el molar 2





· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	Na		Mg
Cuello UAD	1.36	0	0
Cuello Z.I.	1.35	0.89	0.37
Cuello Sup.	0.95	1.24	0
T.M. UAD	2.13	0	0.67
T.M. Z.1	1.65	0	0
T.M. Sup	0.6	1.76	0
Cuspide UAD	1.64	0	0.66
Cuspide Z.I.	1.09	0.72	0
Cuspide Sup	0	1.1	0

.



Figura 4.27. b) Elementos minoritarios obtenidos del molar 2

Cuello	Na
UAD	1.36
Z.I.	1.35
Sup.	0.95
Tercio Medio	Na
UAD	2.13
Z.I.	1.65
Sup.	0.6
Cuspide	Na
UAD	1.64
Z.1.	1.09
Sup.	0





Figrura 4.27 c) Comportamiento de la concentración del sodio del molar 2

Cuello	P
UAD	31.05
Z.1.	30.58
Sup.	31.09
Tercio Medio	
UAD	30.38
Z.I.	30.9
Sup.	31.33
Cuspide	
UAD	30.89
Z.I.	30.15
Sup.	30.89





Figrura 4.27 d) Comportamiento de la concentración del fosforo del molar 2

Cuello	Ca
UAD	67.6
Z.I.	66.81
Sup.	66.72
Tercio Medio	Ca
UAD	66.81
Z.I.	67.45
Sup.	66.3
Cuspide	Ca
UAD	· 66.82
Z.I.	68.04
Sup.	68





Figrura 4.27 e) Comportamiento de la concentración del calcio del molar 2

Cuello	
UAD	0
Z.I.	0.89
Sup.	1.24
Tercio Medio	CI
UAD	0
Z.I.	0
Sup.	1.76
Cuspide	CI
UAD	0
Z.I.	0.72
Sup.	1.1





Figrura 4.27 f) Comportamiento de la concentración del cloro del molar 2
Relación Ca/P

	P :	Ca	Ca/P
Cuello UAD	31.16	67.34	2.16
Cuello Z.I.	30.22	68.95	2.27
Cuello Sup.	31.14	68.86	2.21
T.M. UAD	30.17	68.25	2.26
T.M. Z.I	30.58	68.55	2.24
T.M. Sup.	30.74	68.53	2.22
Cuspide UAD	30.73	67.65	2.20
Cuspide Z.I.	30.88	66.92	2.16
Cuspide Sup	31.08	67.76	2.18

Figura 4.28 a) Elementos mayoritarios y relación Ca/P obtenidos en un premolar





	Na	Cl . 35.85	Mg
Cuello UAD	1.5	0	0
Cuello Z.I.	0.83	0	0
Cuello Sup	0	0	0
T.M. UAD	1.58	0	0
T.M Z.I	0.87	0	0
T.M. Sup	0	0.74	0
Cuspide UAD	1.11	0	0.51
Cuspide Z.I.	1.48	0	0.72
Cuspide Sup	0	1.17	0



Figura 4.28 b) Elementos minoritarios obtenidos en un premolar

	Na
Cuello UAD	1.5
Cuello Z.I.	0.83
Cuello Sup.	0
T.M. UAD	1.58
T.M. Z.I	0.87
T.M. Sup.	0
Cuspide UAD	1.11
Cuspide Z.I.	1.48
Cuspide Sup	0







Figrura 4.28 c) Comportamiento de la concentración del cloro del premolar

the second se	
	CI
Cuello UAD	0
Cuello Z.I.	0
Cuello Sup.	0
T.M. UAD	0
T.M. Z.I	0
T.M. Sup.	0.74
Cuspide UAD	0
Cuspide Z.I.	0
Cuspide Sup	1.17







Figrura 4.28 d) Comportamiento de la concentración del cloro del pre molar

and the second sec	and the second sec
	P
Cuello UAD	31.16
Cuello Z.I.	30.22
Cuello Sup.	31.14
T.M. UAD	30.17
T.M. Z.I	30.58
T.M. Sup.	30.74
Cuspide UAD	30.73
Cuspide Z.I.	30.88
Cuspide Sup	31.08







Figrura 4.28 e) Comportamiento de la concentración del cloro del premolar

	-
	Ca
Cuello UAD	67.34
Cuello Z.I.	68.95
Cuello Sup.	68.86
T.M. UAD	68.25
T.M. Z.I	68.55
T.M. Sup.	68.53
Cuspide UAD	67.65
Cuspide Z.I.	66.92
Cuspide Sup	67.76





Figrura 4.28 f) Comportamiento de la concentración del cloro del premolar

	Mg
Cuello UAD	0
Cuello Z.I.	0
Cuello Sup.	0
T.M. UAD	0
T.M. Z.I	0
T.M. Sup.	0
Cuspide UAD	0.51
Cuspide Z.I.	0.72
Cuspide Sup	0







Figrura 4.28 g) Comportamiento de la concentración del cloro del premolar



Figura 4.29. Mapeo químico del esmalte dental en la unión amelodentinaria. a) Imagen de electrones secundarios de la unión amelodentinaria, b) imagen del carbón c) imagen del oxígeno, d) imagen del sodio, e) imagen del magnesio, f) imagen del fosforo, g) imagen del cloro, h) imagen del calcio.

CAPITULO V

Discusión

La unión amelodentinaria es realmente una zona muy importante ya que representa una frontera entre 2 materiales con distintas propiedades estructurales y mecánicas. El esmalte, que es el tejido más duro del cuerpo humano esta compuesto de prismas que a su vez están formados a nivel nanométrico por cristales de hidroxiapatita. Mientras que la dentina esta constituida por canales cuya finalidad es llevar los nutrientes hacia el esmalte. La discusión se presentará de acuerdo a cada técnica utilizada, tal y como se ha hecho a lo largo de los capítulos anteriores.

5.1 Microscopía óptica y electrónica

Aunque parezca irrelevante no debemos pasar por alto que para la mejor observación de las estructuras del esmalte y dentina, ya sea por microscopía óptica o por microscopía electrónica de transmisión, la muestra dental debe ser atacada con una solución de ácido fosfórico al 20 %, después de ser pulida al alto brillo. De no hacer esto corremos el riesgo de no detectar más que superficies completamente lisas. Por lo tanto, se debe adquirir una habilidad considerable en el ataque a las muestras dentales ya que dependiendo de la estructura a analizar se requiere un tipo especifico de ataque.

Con microscopía óptica se observa un contraste interesante aun después del ataque arriba mencionado. La dentina presenta una serie de líneas paralelas (túbulos) mientras que el esmalte se observa completamente liso. Solo después de un ataque más severo, los prismas del esmalte comenzaron a revelarse, además de utilizar otro tipo de contraste en el microscopio; en lugar de observación normal fue necesario la utilización de filtros y contrastes de polarización de la luz.

101

Las líneas paralelas que presenta la dentina en las imágenes de microscopía óptica son los túbulos dentinarios.

La unión amelodentinaria no es una línea recta sino que se presenta completamente irregular con innumerables protuberancias que siguen una secuencia aperiódica. La trayectoria de los prismas a lo largo del espesor del esmalte se puede dividir en cuatro zonas:

- La zona de los penachos. Esta zona tiene un espesor aproximado de 150 μm y es la zona que se inicia a partir de la unión amelodentinaria.
- La zona de trayectoria paralela. Esta zona tiene un espesor de aproximadamente 150 μm y en la cual los prismas del esmalte son líneas paralelas y perpendiculares a la unión amelodentinaria.
- La zona caótica. Esta zona tiene un espesor menor que las anteriores, de aproximadamente 80 μm. Aquí las trayectorias de los prismas son altamente caóticas encontrándose en un punto formando un contraste del tipo de "remolinos" o nudos.
- La zona suavizada. Esta zona es la mayor de todas y tiene un espesor de aproximadamente 850 μm. En esta zona la trayectoria de los prismas se presenta como líneas curvas pero muy suavizadas.

A partir de las imágenes tomadas de las diferentes zonas mencionadas se resalta el hecho de que en la cuata zona (la zona suavizada) la trayectoria de los prismas sigue una función senoidal con una periodicidad, o longitud de onda mayor a 1mm. Estas trayectorias son paralelas al encontrar la superficie del esmalte aunque haciendo un ángulo diferente a 90° con respecto a ésta. Por otra parte, en la primera zona (la

102

zona de los penachos) la trayectoria también sigue una función senoidal pero con una longitud de onda menor, de aproximadamente 150µm (el espesor de esta zona).

Los resultados obtenidos en esta sección no son completamente concluyentes, ya que creemos que los hallazgos de microscopía electrónica de transmisión no son suficientes y requieren de un estudio más detallado ya que aunque las diferencias entre la unión y la superficie aparentemente fueron mínimas puede haber detalles que hayamos pasado por alto. No es posible que la trayectoria de los prismas sea ondulada en la unión amelodentinaria y rectilínea en la superficie y que los cristales que los conforman sean iguales en ambas zonas, por lo tanto esta parte no es concluyente, sino que amerita un análisis más detallado, en el que se realizará un análisis químico de dimensiones nanométricas, o incluso atómicas.

5.2 Análisis químico

La composición química del esmalte varia a lo largo de su espesor. Por ejemplo el Na presenta un alto contenido en la superficie y en la unión amelodentinaria es minoritario, brindando las propiedades mecánicas observadas. La concentración del Na es, por lo tanto, alta en la región cercana a la unión amelodentinaria, mientras que la del Cl es alta en la superficie del esmalte. Por otra parte el comportamiento del Ca y P es tal que sus concentraciones dependen de la zona analizada y del tipo de diente bajo estudio.

Un punto que es importante recalcar es el hecho de que en todos los microanálisis químicos realizados por EDS, la razón Ca/P siempre se presentó por arriba de 2, mientras que en la hidroxiapatita sintética esta relación es de 1.67. Es decir, existe un mayor numero de átomos de Ca en el esmalte dental que en la hidroxiapatita sintética. Seguramente este excedente de calcio es el que permite al esmalte

103

presentar las propiedades que son ya bien conocidas y lo que hace que se pueda diferenciar de la hidroxiapatita que forma la dentina y los huesos.

5.3 Microdureza

La superficie del esmalte presenta una dureza en promedio seis veces mayor que la que presenta el esmalte en la región de la unión amelodentinaria, en donde se observa una dureza que asemeja a la presentada por la dentina. Además, la dureza que presenta el esmalte es variable en forma decreciente con respecto a la profundidad mientras que en la dentina la dureza observada es más o menos constante.

Resumiendo, la dentina presentó una dureza aparentemente constante mientras que el esmalte presentó una dureza que decae de la superficie a la unión amelodentinaria. Por lo tanto la unión amelodentinaria une dos materiales de diferente dureza y de los cuales una presenta dureza variable. De tal manera en la unión amelodentinaria la dureza del esmalte y la dentina no divergen tanto. Entonces no podemos ver a esta unión como la unión de dos materiales con durezas diferentes sino que más bien tienden a ser semejantes en el área de contacto. Siendo este un sistema en donde la naturaleza ha generado un complejo completamente operante y altamente eficiente. Por lo tanto la unión amelodentinaria es la unión de dos materiales altamente compatibles.

De acuerdo con las gráficas obtenidas de dureza con respecto a la posición dentro del esmalte se encontró que, aunque estas no son idénticas en su totalidad, la dureza en el esmalte dental puede ser representada en forma aproximada por una función matemática del tipo:

$$F(x) = -ax + b$$

FALTA PAGINA

No. 125

Conclusiones

- La unión amelodentinaria representa un papel importante en la estructura del diente ya que es la unión de dos materiales diferentes, pero a diferencia de los materiales compuestos, en esta unión los materiales tienen características químicas y estructurales semejantes. Y es una clara muestra de cómo la naturaleza une materiales con diferentes consistencias de tal manera que su funcionamiento y efectividad sean máximos. Las propiedades mecánicas de la dentina y el esmalte se igualan en esta región.
- La unión amelodentinaria no es una línea recta sino que es irregular con innumerables protuberancias que siguen una secuencia aperiódica y que se adentran en la dentina.
- 3. La trayectoria de los prismas a lo largo del espesor del esmalte se puede dividir en cuatro zonas: la zona de los penachos (150 μm), la zona de trayectoria paralela (perpendicular a la unión amelodentinaria) de los prismas (150μm), la zona caótica, donde los prismas forman nudos (80 μm) y la zona de trayectoria ondulatoria pero suavizada (850 μm)
- 4. En la cuarta zona, la trayectoria de los prismas sigue una función aproximadamente senoidal pero con una longitud de onda mayor a 1mm. Sin embargo, estas trayectorias son paralelas al encontrar la superficie del esmalte y haciendo un ángulo diferente a 90° con respecto a esta superficie. En la primera zona, la zona de los penachos, la trayectoria sigue una función senoidal pero con una longitud de onda de aproximadamente 150 μm.
- La concentración de Na es alta en la región cercana a la unión amelodentinaria y la del Cl es alta en la superficie del esmalte. El comportamiento del Ca y P depende de la zona analizada y del tipo de diente.

- 6. La relación Ca/P en los análisis químicos siempre se encontró por arriba de 2, siendo esta relación para la hidroxiapatita sintética de 1.67.
- 7. La superficie del esmalte presenta una dureza 6 veces mayor que el esmalte en la unión amelodentinaria, donde este presenta una dureza semejante a la dentina.
- 8. La dureza que presenta el esmalte es variable en forma decreciente con respecto a la profundidad, mientras que en la dentina es más o menos constante.
- 9. La dureza en el esmalte puede ser representada en forma aproximada por una función del tipo:

$$F(x) = -ax + b$$

Ó
$$F(x) = ae^{-x}$$

BIBLIOGRAFIA

- 1. Bigeard-L., Hemmerle-J.: Clinical and ultrastructural study of the natal tooth: enamel and dentin assessments. JIASDC-J.Dent.Child. 1996;63(1): 2233-3
- 2. Reyes Gasga.: Microscopía electrónica, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Fondo de Cultura Económica. México 1989
- 3. Lawrence H. Van Vlack .: Materiales para Ingenieria. C.E.C.S.A. México 1988
- Orban Balint J., Bhaskar S.N.:Histología y Embriología bucal. Prado, S.A. de C.V., México 1991:70-100
- 5. Bartelstone, H.J., Mandel I,D., Oshry E. y Seidlin, S.M. Use of radioactive Iodine as a tracer in the study of the physiology of the teeth. Science 1947;106:132
- 6. Wainwrigth W.W.: Rapid difusse penetration of intact enamel and dentin by carbon 14 labled urea. J.A.D.A. 1950; 41:135
- Ichijo, T., Yamashita Y., and Terashima T.: Observations on structural features and characteristics of biological apatite crystals. 7 Observation on lattice imperfection of human tooth and bone crystals II. Bull. Tokyo Med. Dent. Univ.; 1993; 40:193-205
- 8. Lagarde A., Kerebel B., Ajacques Jc.: Structure, ultrastructure and microanalysis of the enamel of teeth near maxillary clefts. Ann. Pathol. 1987;7(2):113-21
- 9. Shibahara H., Tohda H. Yanagizawa T.: High resolution electron microscopic observation of hidroxyapatite in tooth crystals. J.Electron Microsc. 1994;43:89-94
- 10.Bres E.F., Voegel J.C.: High resolution electron microscopy of human enamel crystals. Journal of Microscopy. 1994; 160-2:183-201
- 11. Amizuka N., Uchida T., Fukae M., Yamada M., Ozawa H.: Ultraestructural and immunocytochemical studies of enamel tufts in human permanent teeth. Arch. Histol. Cytol.1992; 55(2): 179-90
- 12.Palamara J., Phakey P., Rachinger WA.: Ultrastructure of spindles and tufts in human dental enamel. Orams HJ. Adv. Dent. Res. 1989;3(2):249-5

- 13. Arends J., Jongebloed WL: Crystallities dimensions of enamel. J.Biol.Buccale. 1978;6(3):161-71
- 14.Simer J.P.,Fincham A.G.: Molecular mechanisms of dental enamel formation. Crit Rev.Oral Biol.Med. 1995; 6(2):84-108
- 15. Johansen E., Comparison of the ultraestructure and chemical composition of sound and carious enamel from human permanente teeth. In tooth enamel, edited by Stack, R.W., and Fearhead, R.W., John Wright & sons Ltd., Bristol, 1965; 177-181
- 16.Frazier, P.D.: Adult human enamel. An electron microscopic study of crystallite size an morphology. J.Ultrastruc.Res., 1985; 22:1-11,196
- 17.Selving, K.A. and Halse A.: Mineral content and crystal size in mature rat incisor enamel. A correlated electron microprobe and electron microscope study. J.Ultrastruc. Res., 1972;40:527-531.
- 18.Daculsi, G., and Kerebel, B.: High resolution electron microscopic study of somo biological apatites. J.Ultrastruc.Res. 1976; 57: 266-275
- 19.Phakey-P., Palmara-J., Hall-RK., McCredie DA.: Ultrastructural study of tooth enamel with amelogenesis imperfecta in AI-nephrocalcinosis syndrome.Connect. Tissue. Res. 1995; 32 (1-4):253-9
- 20. Cristoffersen M., Cristoffersen J.: Possible mechanisms for the growth of the biomaterial, calcium hydroxyapatite microcrystals. Journal of Crystal Growth 1992, 1211:617-630.
- 21.Ekstrand KR., Bjornland T., Thylstrup A.: Light and transmission electron microscopy sstudy of enamel organ cells in germectomized human third mandibular molars. Scand.J.Dent.Res. 1991;99(6):445-56
- 22.Kattie AL., Cottrel M.: The Structure, ultrastructure and physicochemical analysis of the hard dental tissues of the Viperidae. Bull Group int.Rech.Sci.Stomatol.Odontol.1989;32(4): 217-25

- 23.Alcantara Rodriguez.: Caracterización del Esmalte Dental Humano por Microscopía Electrónica de Transmisión. Tesis de Licenciatura. Odontología UNAM, 1993
- 24. Vogel J.C y Frank RM Stager in the Dissolution of Human Enamel Crystals in Dental Caries. Calcified Tissue Research. 1977; 24,19-27
- 25.Gonzalez Trejo A., Madrigal colin. Análisis Estructural y Químico del Esmalte Dental Humano por Técnicas de Microscopia Electrónica. Tesis de licenciatura. Odontología UNAM, 1994
- 26.Cuisinier F., Steuer P., Senger B., Voegel J., Frank R.: Human Amelogenesis I: High Resolution Electron Microscopy Study of Ribbon like Crystals. Calcikf.Tissue Int 1992; 51: 259-268
- 27.Nishikawa Sumio. Correlation of the arrangement pattern of enamel rods an secretory ameloblasts in pig and monkey teeth: a possible role of the terminal webs in ameloblast movement during secretion. The anatomical record. 1992 232:466-478
- N.Meredith, M.Sherriff., Measurements of the microhardness and young's modulus of human enamel and dentine using an indentation technique. Arch Oral Biol 1996; 41,6
- 29.Braden M. Biophysics of the tooth. In Frontiers of Oral Physiology 1976: 2, 1-37

México D.F. 1998

CURRICULUM VITAE

NOMBRE:	Carlos Eduardo Zamora Montes de Oca
EDAD:	29 años
SEXO:	Masculino
ESTADO CIVIL:	Casado
LUGAR Y FECHA DE NACIMIENTO:	México D.F. 27 de febrero de 1969
DOMICILIO:	Calle 15#100 San Pedro de los Pinos
C.P.:	03800
R.F.C.:	ZAMC690227 7-M8
ESCUELA PROFESIONAL:	1987 a 1991
	Facultad de Odontología, Universidad Nacional
	Autónoma de México
TEMA DE TESIS:	Técnica oclusal de 65°
TITULO EXPEDIDO CON	
MENCION HONORIFICA	Universidad Nacional Autónoma de México
POR:	Expedido el 2 de julio de 1992 anotado a fojas
	182 del libro respectivo 71
CEDULA PROFESIONAL:	1723233
DIPLOMA DE ESPECIALIDAD EN	Universidad Tecnológica de México
ORTODONCIA	Expedido el 23 de Junio de 1998 registrado en
	el libro No.1 foja 20.
INVESTIGACIÓN:	Estabilidad Postratamiento de la mordida abierta
	en pacientes tratados en la UNITEC
MAESTRIA EN ORTODONCIA	1993-1995 UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA
	DE MEXICO