

01461

7



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION

ESTUDIOS DE LAS CARACTERISTICAS ESTRUCTURALES Y
DE COMPOSICION DE LA DENTINA HUMANA.

2008052

**TESIS DE INVESTIGACION
QUE PRESENTA
C. D. HUMBERTO ARENAS ALATORRE
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN ODONTOLOGIA**

DIRECTOR: MIGUEL A. ARAIZA TELLEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

TESIS DE INVESTIGACIÓN

**ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES Y DE
COMPOSICIÓN DE LA DENTINA HUMANA.**

Que presenta el C.D. Humberto Arenas Alatorre

Como requisito para obtener el grado académico de
Maestro en Odontología.

Noviembre del 2001

Trabajo financiado por los proyectos PAPIIT IN-503397 y IN-111100 de la DGAPA
UNAM y el proyecto 32605-U del CONACYT.

Estudio de las características estructurales y de composición de la dentina humana.

Presentada como requisito para obtener el grado académico de Maestro en Odontología

Dr. en C. Víctor M. Castaño Meneses

Asesor

Dr. en C. Rogelio Rodríguez Talavera

Asesor

Dr. Federico H. Barceló Santana

Asesor

Dr. en C. Jesús Angel Arenas Alatorre

Asesor

Dr. Miguel A. Araiza Téllez

Director de Tesis

AGRADECIMIENTOS

Al Laboratorio de Materiales Dentales, FOUNAM, y al Dr Federico H. Barcelo Santana por su apoyo.

Al Departamento de Materia Condensada del Instituto de Física de la UNAM, en especial al Dr. en C. José Reyes Gasga jefe del Departamento por su enseñanza y apoyo.

Al Laboratorio de Caracterización de Materiales del Centro de Investigación y Estudios Avanzados (CINVESTAV) de IPN, Campus Juriquilla, y al Dr. en C. Sergio Jiménez por el tiempo dedicado a la Caracterización en μ Raman.

A la Gerencia de Materiales del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ) y al Dr. en C. Ventura Rodríguez Lugo por el apoyo en la utilización de los microscopios.

Al Laboratorio de Biomateriales, FOUNAM en conjunto con el Departamento de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (DFATA) del IFUNAM Campus Juriquilla cedo del presente trabajo mi más sincero agradecimiento en especial al Dr. en C. Víctor M. Castaño Meneses por sus atinadas observaciones.

Agradezco a DGAPA UNAM por el apoyo otorgado a través de los proyectos PAPIIT IN-503397 y IN-111100 y al CONACYT a través del proyecto 32605-U.

Al técnico en Microscopia Electrónica Pedro Mexía quien me enseñó a dar mis primeros pasos en Microscopia Electrónica, gracias Pedro.

A mi hermano el Dr. en C. Jesús Angel Arenas Alatorre Jefe del Departamento de Síntesis y Caracterización de Materiales del ININ por el tiempo brindado en el

perfeccionamiento en Microscopia Electrónica y por el ejemplo de tenacidad en alcanzar los objetivos propuestos, muchas gracias hermano viviré eternamente agradecido.

A mi director de tesis y amigo el Dr. en C. Miguel Angel Araiza Téllez por la guía tan acertada en la dirección del presente trabajo, reflejado en este documento, esperando continuar contando en el futuro con sus conocimientos, amistad y guía, mil gracias Miguel.

A mis padres la Sra. Ma. Gracia Alatorre Vda. de Arenas y al CD. Aquilino Arenas Alfaro⁺ por su ejemplo en alcanzar los objetivos propuestos, en base a un dicho que desde niños nos mencionaban “ el que trabaja come el que no se muere de hambre” gracias papas.

Muy en especial con todo mi cariño y amor a mi familia a mi esposa Ma. Leticia y a mis hijos Humberto y Mónica a quienes les dedico el presente trabajo por su apoyo en tiempos difíciles y sobre todo por el tiempo robado para la realización de este estudio, gracias los quiero mucho.

Índice de Contenido

Contenido	Página
RESÚMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Dentinogénesis	5
Estructura de la Dentina	7
Odontoblastos	7
Tubulos Dentinarios	9
Dentina Peritubular	10
Espacio Periodontoblastico	10
Dentina intertubular	11
Dentina Interglobular	11
Predentina	11
Composición	11
Contenido Inorgánico	12
Contenido Orgánico	13
Técnicas empleadas en la caracterización	14
Espectroscopía de micro-raman	14
Instrumentación	19
Espectrómetro de RAMAN	19
Espectro de Micro- RAMAN	22
Aplicaciones de la espectroscopia de μ -raman	25
Microscopio electrónico	28
Microscopía electrónica de barrido (MEB)	31
Microanálisis de rayos X	32
Espectroscopía infrarroja	33
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	37
JUSTIFICACIÓN	38
OBJETIVOS	39

General	39
Específicos	39
TIPO DE ESTUDIO	39
METODOLOGÍA	40
Materiales:	40
Químicos	40
Biológicos	40
Varios	40
Recursos	41
Físicos	41
Instalaciones Físicas	41
Método	42
Grosor de Dentina	43
Técnicas de Caracterización	46
Espectroscopia de Efecto Micro-Raman	46
Microscopia Electrónica de Barrido y Microanálisis	49
Espectroscopía Infrarroja	52
RESULTADOS	53
Grosor	53
Estructura	69
Estructura de la pared tubular	87
Densidad tubular	106
Diámetro tubular	114
Microanálisis	117
Estequiometría	135
Análisis de Infrarrojo	137
Espectroscopía de Micro-Raman	146
DISCUSIÓN	157
Grosor	157
Estructura	159
Densidad	159

Diámetro	160
Composición	162
Espectroscopía de Micro-Raman	164
CONCLUSIONES	165
Grosor	165
Estructural	166
Composición	167
RECOMENDACIONES FUTURAS DE INVESTIGACIÓN	168
BIBLIOGRAFÍA	169

Índice de Figuras

Fig. 1 Estructura de la dentina	7
Fig. 2 Corte del espécimen	43
Fig 3 Cortadora	44
Fig 4 Zonas de medición	45
Fig 5 Espectrómetro de Micro-Raman	47
Fig 6 Preparación de muestras para Micro-Raman	47
Fig 7 Análisis de Micro-Raman	48
Fig 8 Obtención de tercios	50

Índice de Diagramas

Diagrama 1 Espectrómetro de Raman	22
Diagrama 2 Espectrómetro de Infrarrojo	36

Índice de Esquemas

Esquema 1 Dispersión de la luz monocromática	15
Esquema 2 Niveles de energía	16
Esquema 3 Modos de obtención (Raman)	25
Esquema 4 Tipos de señales (Microscopia Electrónica)	30
Esquema 5 Modos fundamentales de vibración	34

Índice de Tablas

Tabla 1 Valores de grosor grupo I.	54
Tabla 2 Valores de grosor grupo II.	55
Tabla 3 Valores de grosor grupo III.	56
Tabla 4 Grosor vestibular.	57
Tabla 5 Grosor palatino.	59
Tabla 6 Grosor oclusal.	60
Tabla 7 Análisis Varianza de los tercios de los grupos.	62
Tabla 8 Análisis de Varianza vestibular entre tercios por grupo.	63
Tabla 9 Análisis de Varianza palatina entre tercios por grupo.	64
Tabla 10 Análisis de Varianza oclusal entre tercio por grupo	65
Tabla 11 Análisis de Varianza vestibular entre grupos por tercios	66
Tabla 12 Análisis de Varianza palatina entre grupos por tercios	67
Tabla 13 Análisis de Varianza oclusal entre grupos por tercios	68
Tabla 14 Densidad grupo I	107
Tabla 15 Densidad grupo II	108
Tabla 16 Densidad grupo III	110
Tabla 17 Análisis de Varianza tercio externo/medio por grupos	112
Tabla 18 Análisis de Varianza tercio externo/pulpar por grupos	112
Tabla 19 Análisis de Varianza tercio medio/pulpar por grupos	112
Tabla 20 Análisis de Varianza grupo I/II por tercios	114
Tabla 21 Análisis de Varianza grupo I/III por tercios	114
Tabla 22 Análisis de Varianza grupo II/III por tercios	114
Tabla 23 Diámetro tubular	116
Tabla 24 Elementos tercio pulpar grupo I	128
Tabla 25 Elementos tercio medio grupo I	128
Tabla 26 Elementos tercio externo grupo I	129
Tabla 27 Elementos tercio pulpar grupo II	130
Tabla 28 Elementos tercio medio grupo II	130
Tabla 29 Elementos tercio externo grupo II	130

Tabla 30 Elementos tercio pulpar grupo III	131
Tabla 31 Elementos tercio medio grupo III	132
Tabla 32 Elementos tercio externo grupo III	132
Tabla 33 Promedio elemental grupo I	133
Tabla 34 Promedio elemental grupo II	133
Tabla 35 Promedio elemental grupo III	133
Tabla 36 Promedio elemental tercio pulpar por grupo	134
Tabla 37 Promedio elemental tercio medio por grupo	134
Tabla 38 Promedio elemental tercio externo por grupo	135
Tabla 39 Estequiometría	136
Tabla 40 Intensidades Micro-Raman	150
Tabla 41 Intensidades tercio pulpar micro-Raman	155
Tabla 42 Intensidades tercio medio micro-Raman	155
Tabla 43 Intensidades tercio externo micro-Raman	156

Índice de Graficas

Grafica 1	Grosor vestibular por grupos entre tercios	58
Grafica 2	Grosor vestibular por tercios entre grupos	58
Grafica 3	Grosor palatino por grupos entre tercios	59
Grafica 4	Grosor palatino por tercios entre grupos	60
Grafica 5	Grosor oclusal por grupos entre tercios	61
Grafica 6	Grosor oclusal por tercios entre grupos	61
Grafica 7	Densidad tubular grupo I	107
Grafica 8	Densidad tubular grupo II	109
Grafica 9	Densidad tubular grupo III	110
Grafica 10	Distribución tubular de los grupos	111
Grafica 11	Distribución de Bandas Micro-Raman	154

Índice de Fotomicrografías

Fotomicrografía 1 Tercios Grupo I	70
Fotomicrografía 2 Tercios Grupo II	71
Fotomicrografía 3 Tercios Grupo III	74
Fotomicrografía 4 Unión Amelo-dentinaria	75
Fotomicrografía 5 Unión Amelo-dentinaria 2,500 X	76
Fotomicrografía 6 Tercio Externo	77
Fotomicrografía 7 Trayectoria Tubular	78
Fotomicrografía 8 Grupo I, 5,000X	79
Fotomicrografía 9 Grupo II, 8,000X	80
Fotomicrografía 10 Bifurcación tubular	80
Fotomicrografía 11 Grupo III	81
Fotomicrografía 12 Tercio medio trayectoria tubular	82
Fotomicrografía 13 Tercio medio de grupos	83
Fotomicrografía 14 Tercio pulpar de grupos	84
Fotomicrografía 15 Túbulos secundarios	86
Fotomicrografía 16 Crestas intratubulares	87
Fotomicrografía 17 Anillos intratubulares	89
Fotomicrografía 18 Fusión de anillos	90
Fotomicrografía 19 Obliteración tubular	91
Fotomicrografía 20 Obliteración tubular grupo III	93
Fotomicrografía 21 Predentina 500 X	95
Fotomicrografía 22 Predentina 2,000 X	96
Fotomicrografía 23 Pared pulpar 566 X	97
Fotomicrografía 24 Pared pulpar 2,000 y 8,000 X	98
Fotomicrografía 25 Pared pulpar 500 X	99
Fotomicrografía 26 Pared pulpar 2,000 X	100
Fotomicrografía 27 Macrotubulos 500 X	101
Fotomicrografía 28 Macrotubulos 4,000 X	103
Fotomicrografía 29 Macrotubulos 4,000, 8,000 y 16,000 X	103

Fotomicrografia 30 Dentina terciaria

105

Fotomicrografia 31 Diámetro tubular

115

Índice de Espectrografías

Espectrografía 1 EDX	117
Espectrografía 2 EDX grupo I tercio pulpar	119
Espectrografía 3 EDX grupo I tercio medio	120
Espectrografía 4 EDX grupo I tercio externo	121
Espectrografía 5 EDX grupo II tercio pulpar	122
Espectrografía 6 EDX grupo II tercio medio	123
Espectrografía 7 EDX grupo II tercio externo	124
Espectrografía 8 EDX grupo III tercio pulpar	125
Espectrografía 9 EDX grupo III tercio Medio	126
Espectrografía 10 EDX grupo III tercio externo	127
Espectrografía 11 FTIR grupo I tercio pulpar	138
Espectrografía 12 FTIR grupo I tercio medio	139
Espectrografía 13 FTIR grupo I tercio externo	140
Espectrografía 14 FTIR de los tercios grupo I	141
Espectrografía 15 FTIR de los tercios grupo II	142
Espectrografía 16 FTIR de los tercios grupo III	143
Espectrografía 17 FTIR de los grupos tercio pulpar	144
Espectrografía 18 Patrón de hidroxipatita micro-raman	147
Espectrografía 19 Patrón de carbonato de calcio	148
Espectrografía 20 Identificación de $\text{Ca}_5[(\text{PO}_4)_3\text{OH}]$	149
Espectrografía 21 Identificación de bandas en dentina	151
Espectrografía 22 Identificación de bandas tercio externo	152
Espectrografía 23 Bandas de 5 muestras tercio pulpar	153

RESUMEN

El propósito de este estudio fue la determinación de las características estructurales y de composición de la dentina humana. Para conseguirlo se utilizaron las siguientes técnicas de caracterización, Microscopía electrónica de barrido de alto (MEB-AV) y bajo vacío (MEB-BV), microanálisis de rayos-X (MRX), espectroscopía de micro-Raman (μ -RAMAN) y de infrarrojo (FTIR) en premolares humanos preparados según las técnicas empleadas. Fueron agrupados según la edad (18-29, 30-49 y +50 años). Los resultados mostraron que existe una relación directa entre el aumento en la edad y el grosor de la dentina, siendo más notable en el tercio cervical del grupo de +50 años y en las cúspides estampadoras de los grupos. En el MEB se observó que la dentina es más densa en los tercios más externos y los túbulos son más estrechos en las zonas alejadas de la pulpa y en sujetos de +50. En el FTIR se identificaron bandas de absorción características de la hidroxiapatita (605 y 1040 cm^{-1}) y de carbonato (1420 cm^{-1}). En el μ -Raman no pudieron establecerse diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes zonas de la dentina, sin embargo, en el MRX se determinaron pequeñas diferencias cualitativas entre los sitios, encontrándose en todos los casos una relación Ca/P mayor a 1.67.

Palabras Clave: Dentina, dentina humana, densidad, túbulos, estructura, ultraestructura, Dentinogenesis, Composición, Microscopio electrónico de barrido, Espectroscopía de Raman, Espectroscopía de infrarrojo.

SUMMARY

Physico-chemical characterization of human dentine was performed by Scanning Electron Microscopy (high and low vacuum) μ -Raman and Infrared spectroscopy and x-ray Microanalysis (XRM), in human extracted permanent bicuspid from subject ranging 18-29, 30-49 y +50 years old, in order to determine its chemical composition and structural features. Results showed a direct relationship between age of subjects, being the +50 group that where cervical and cuspid dentine has higher measurements. Samples analysed by SEM showed surfaces more dense and narrow lumen tubule in +50 group than others. Analysis by FT-IR and μ -Raman were unable to determine statistically significant differences. However, XRM showed slight differences, perhaps hydroxylapatite was present, in all cases were determined a Ca/P ratio more than 1.67, denoting a presence of other calcium phosphate or carbonate phases.

Key words: Human dentine, Dentinal tubules, Dentine ultrastructure, Dentinogenesis, Composition, Microscopy Electron Scanning, Raman Spectroscopy, Infrared Spectroscopy.

INTRODUCCIÓN

De los tejidos duros del hombre, el hueso y la dentina son los más semejantes entre sí, porque ambos crecen por aposición, aunque a diferencia del hueso la dentina es avascular. Los cristales de hidroxiapatita son casi iguales, presentan un sistema de conductillos que contienen prolongaciones celulares, un líquido extracelular especializado, vesículas de matriz en mineralización y una matriz orgánica formadora de colágena (Davis W, 1988).

La dentina ocupa la porción principal del diente, es una estructura heterogénea sólida que por un lado circunda a la pulpa y por el otro está protegida por el esmalte en la corona y por el cemento en la raíz (Di Renzo M, 1995). Contiene una red circundante de conductillos (túbulos dentinarios) que atraviesan la totalidad de su cuerpo y en forma circunscrita irradian a la pulpa. Estos túbulos contienen en su interior los procesos odontoblásticos. Los odontoblastos que se encuentran en la pared interna de la dentina desempeñan el papel importante de formadores de dentina en la pulpa dental (Forsell-Ahlberg K, et al, 1975; Sigal MJ, 1984; Berkovitz BKB, et al, 1992; U.S. Bureau, 1994).

La densidad de estos túbulos dentinarios es de aproximadamente 30,000 túbulos/mm² y su tamaño aproximado es de 1 a 3 μ m de diámetro (Linden LA, Källsckog O, Wolgast M, 1995).

La permeabilidad de la dentina es consecuencia del número de túbulos, los cuales son formados durante la deposición y mineralización de la matriz de la predentina que ocurre alrededor de los procesos odontoblásticos (Thomas HF, 1985).

Además de los componentes celulares, la dentina esta compuesta por una gran parte inorgánica y otra parte menor orgánica.

La parte inorgánica esta formada principalmente por fosfato de calcio en forma de Hidroxiapatita [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$], en menor cantidad por pirofosfatos (PO_5) y elementos tales como magnesio (Mg^{+2}), sodio (Na^{+1}), potasio (K^{+1}), flúor (F^{-1}) y cloro (Cl^{-1}). Mientras que la mayor parte del componente orgánico corresponde al colágeno.

Se han realizado estudios para identificar el contenido inorgánico (Ca/P) de dientes y hueso utilizando difracción de Rayos X (DRX), esto sirvió como punto de partida para que surgieran estudios más sofisticados utilizando Microanálisis de rayos X (Mrx), Resonancia magnética (RMN), Microscopía electrónica de barrido (MEB) y de transmisión (MET), lo cual llevo a conocer la estructura de la hidroxiapatita en sus aspectos generales y específicos (LeGeros RZ, 1991), sin embargo la generalización de los resultados se han aplicado directamente al campo clínico cuando se utilizan materiales de reconstrucción dental directa (composites), sin tomar en cuenta que existe variabilidad no sólo en los resultados de la textura, densidad y composición reportados del sustrato (dentina), sino también de las interacciones y comportamiento que existe de los nuevos materiales con el sustrato.

En este contexto, el objetivo de este estudio es determinar las características morfológicas y de composición inorgánica de la dentina mediante la aplicación de diferentes técnicas instrumentales de caracterización.

REVISIÓN DE LITERATURA

La dentina al igual que el cemento y el hueso, es un tejido conectivo mineralizado, donde el colágeno juega un papel importante para el mantenimiento de su estructura, en la mineralización, durante el proceso de la dentinogénesis y posteriormente a lo largo de su vida (Thomas HF, Carella P, 1983; Sigal MJ, 1984; Alcántara CM, 1993).

En la mineralización la capa de células forman una matriz de colágeno en donde el fosfato de calcio es depositado en forma de cristales minerales. Sin embargo, la formación de los tejidos duros, es regulada y controlada por factores celulares y extracelulares que hasta la fecha no se han identificado plenamente (Davis WL, 1986; Linde A, 1992).

La estructura de la dentina varía mucho de acuerdo a lo observado al microscopio, y hay reportes de diferencias en cuanto a su composición de acuerdo a la zona de la dentina que se está estudiando.

Hasta el momento se han determinado tres tipos de dentina que pueden estar presentes en un diente: *La dentina primaria*, que es formada durante la etapa de desarrollo del diente, constituye la mayor cantidad de la masa dentaria. A la capa superficial, próxima al esmalte, se le da el nombre de manto dentinario, mide alrededor de 20 μm , y al resto se le conoce como dentina circumpulpar. En cuanto a la estructura y composición, del manto dentinario, esta presenta una matriz más irregular y una composición química que difiere de la dentina circumpulpar.

La dentina secundaria es similar a la dentina primaria, sólo que su formación es mucho más lenta. Ahora bien, entre la dentina y la pulpa se encuentra una capa de 10 a 30 μm aproximadamente, poco mineralizada, constituida básicamente por una matriz colágena acelular llamada predentina, (Foreman PC, Soames JV, 1989; Linde A, 1992).

La *dentina terciaria* también conocida como dentina de reparación o irritativa es la que se forma por la acción de estímulos externos tales como: caries, irritantes químicos, procedimientos restaurativos, bruxismo u otros traumas. La formación de esta dentina esta a cargo de los odontoblastos. Este tejido se encuentra en las áreas de interfase pulpo-dentinarias. Debido a su formación rápida, la estructura y composición es muy irregular, en ella se encuentran inclusiones celulares y la configuración tubular es variada ya que su existencia depende de la intensidad del estímulo (Linde A, 1992).

Dentinogénesis

La dentinogénesis comprende una sofisticada interacción de varios factores tisulares, tanto celulares como extracelulares. La dentina es un tejido conectivo calcificado, en su origen y desarrollo está estrechamente relacionada con la formación del hueso. Así pues, los odontoblastos dentinogénicamente activos transportan concentraciones de iones minerales y los depositan en la matriz orgánica de la dentina (Linde A, 1985; Linde A, Goldberg M, 1993).

En la formación de la dentina ocurren dos procesos simultáneos donde los odontoblastos son el instrumento para (1) la formación de la matriz de colágeno, así como para (2) la deposición de cristales minerales en esa matriz. Es importante entender cómo los iones que constituyen la fase inorgánica son transportados al sitio de formación mineral, así como la manera en que se regula este proceso. Estudios recientes sugieren que la porción mayor del ión Ca^{+2} es transportado por una ruta transcelular, bajo mando celular. Las células mantienen un balance de Ca^{+2} por la acción entre los mecanismos de transporte transmembranoso, incluso Ca-ATPasa, $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{+2}$ extracargados y canales de calcio y de enlaces intracelulares Ca^{+2} a proteínas. El efecto de este balance da un mantenimiento submicromolar intracelular de actividad Ca^{+2} y una acumulación extracelular de iones Ca^{+2} en predentina como frente de mineralización (Linde A, 1995). La predentina

puede ser considerada como zonas de formación y maduración de colágena de la matriz orgánica dentinaria. Además del colágeno, esta contiene pequeños proteoglucanos.

Simultáneamente a la formación mineral, se adhieren macromoléculas a la matriz extracelular de la dentina, estas presumiblemente son transportadas por los procesos de los odontoblastos, entre ellas se encuentran fosfoproteínas altamente fosforiladas (fosfoforina) y proteoglucanos. Se explica la funcionalidad de este por el hecho de haber macromoléculas polianiónicas las cuales son capaces de inducir la formación de hidroxiapatita, pudiendo inhibir el crecimiento mineral y regular el tamaño del cristal (Linde A, 1985; Sabsay B., Stetler-Stevenson W. G, Lechner J.H, Veis A, 1991; Linde A, 1995).

Es importante mencionar que la expresión del factor- β transformante de crecimiento (Transforming growth factor- β , TGF- β), en algunas de sus formas, tienen un papel importante en el desarrollo (Wise G.E., Fan W., 1991; Bengue-Kirn et al., 1992, 1994) y reparación de la dentina (Lesot H., et al., 1994; Smith A.J., et al., 1995).

Así pues, la superfamilia TGF- β es un grupo grande de factores de crecimiento que tienen una función importante en la regulación del crecimiento, diferenciación y función celular (Pelton et al., 1991).

Por otro lado, un estudio realizado en ratas determino que tiene una función muy importante tanto en la dentinogénesis como en la posterior formación de dentina ante los estímulos externos, sobre todo en sus formas TGF- β_1 y TGF- β_3 , los cuales estimularon la secreción de matriz extracelular por los odontoblastos en el tejido dental de roedores maduros, independientemente de que pueden estimular localmente efectos dentinogénicos en los odontoblastos (Sloan A.J., Smith A.J., 1999).

Estructura de la dentina

En la figura 1 se esquematizan los elementos que componen a la dentina humana, ellos son: odontoblastos, túbulos dentinarios, dentina peritubular, espacio periodontoblástico, dentina intertubular, dentina interglobular y predentina (Kraus, Jordan, Abrams, 1972; Sigal MJ, 1984, Grayson W, Marshall Jr, 1993).

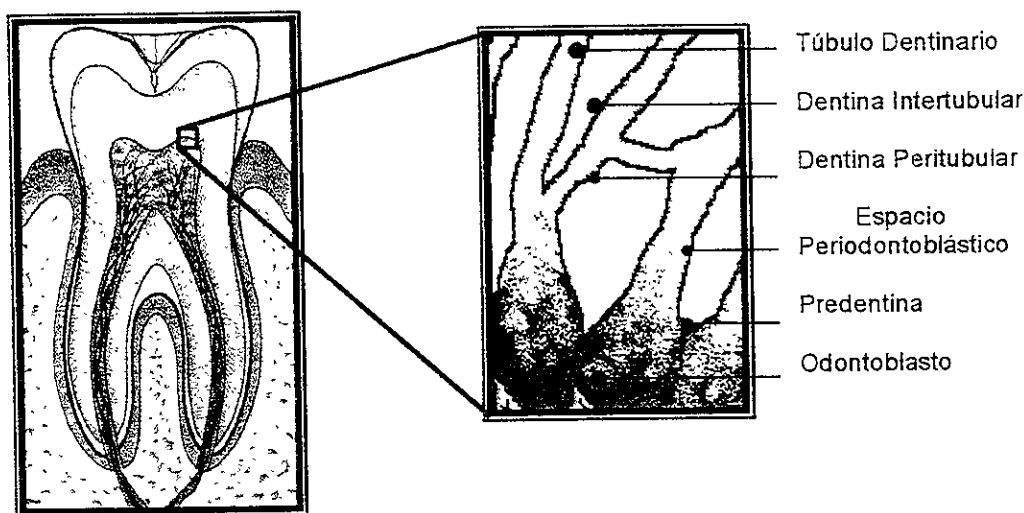


Figura 1. – Representación esquemática de los elementos estructurales que componen a la dentina.

Odontoblastos. Se dice que estas son las células de la dentina, su cuerpo se encuentra en la pulpa, y su extensión en la dentina (*procesos odontoblásticos*), fig. 1. El cuerpo de los odontoblastos se encuentran en la predentina, formando una capa de células, pero durante la formación de los dientes adquieren una apariencia pseudoestratificada debido al desplazamiento en sentido pulpar durante la dentinogénesis (Kraus Jordan, Abrams, 1972; Maniatopoulus C, Smith DC, 1983; Grayson W, Marshall Jr, 1993; BjØrmdal L, et al, 1997)).

Los procesos odontoblásticos, son una extensión de los odontoblastos, estos se encuentran en el tercio medio de la dentina. Muchos estudios indican que

atravesan la totalidad de la dentina, desde la pared pulpar hasta la unión amelo-dentinaria y/o cemento-dentinaria (Kraus, 1972; Thomas HF, 1983; Maniatopoulous C, 1983; Yamada T, 1983; Linden LA, 1995). Sin embargo, hay otros estudios que indican que en ocasiones estas prolongaciones o procesos odontoblásticos sobrepasan el límite amelo-dentinario y se introducen en el esmalte, constituyendo los husos, que facilitan el paso del fluido dentinario hacia el esmalte (Ten Cate AR, 1986; Frank RM, 1968^b).

En 1856 John Thomes, fue el primero en describir la presencia de tejido blando dentro de los túbulos dentinarios, motivo por el cual obtuvieron durante algún tiempo su nombre. Por estas microestructuras es que a la dentina se le considera un tejido vital. Aunque en su primer estudio Thomes no encontró conexión alguna entre estas fibras o tejido con algunas células de la pulpa, otros posteriormente si la encontraron, (Frank RM, 1968^b; Thomas HF y Carella P, 1983).

En 1979, Thomas describió la ultraestructura de los odontoblastos, la cual esta compuesto por citoplasma, conteniendo microtúbulos y microfilamentos que siguen el eje longitudinal de los odontoblastos no encontrándose organelos mayores.

Algunos estudios utilizando el microscopio electrónico de barrido (MEB) mostraron una capa membranosa que separa a la pared del túbulo de las prolongaciones odontoblásticas cubriendo a estas últimas (Isokawa S, 1970; Thomas HF, 1984).

En los odontoblastos existen conexiones especializadas con las fibras nerviosas de 20-40 μm (Frank RM, 1968^b). Las fibras nerviosas en la unión predentina-dentina siguen el curso del proceso, pero ya en dentina, adoptan un seguimiento en forma de espiral alrededor del proceso, de hecho estas terminaciones nerviosas no penetran en dentina (hacia la unión amelodentinaria) más allá de los 100-150 μm (Frank RM, 1968^a). De ahí a la

parte más externa de la dentina hay fluido dentinario compuesto por iones Na^+/K^+ (Coffey CT, 1970), permitiendo el transporte de fluidos y del Ca^{+2} por la vía odontoblástica tanto intra como extracelularmente dentro de la dentina (Nagai N, Frank RM, 1974). Por otro lado, la presencia del fluido permite que haya el efecto hidrodinámico para dar sensibilidad a la dentina hasta su parte más externa (Gysi A, 1900). Así pues, los túbulos están permanentemente bañados en líquido (Seltzer S, Bender JB, 1990), el cual ofrece un flujo bidireccional (Bartelstone HJ, 1951; Pashley DH, et al, 1981); es decir, no hay una microcirculación, pero si un movimiento de fluidos (Jenkins GN, 1983; Pashley DH, et al, 1997) .

Túbulos dentinarios. El primer reporte en la observación de los túbulos dentinarios fue hecho por Leeuwenhoek en 1678 y el primero en postular que había fluido en estos canales fue Anders Retzius en 1836 (Linden LA, 1995).

La dentina es penetrada y atravesada desde su pared pulpar hasta la unión amelo-dentinaria, por microcanales llamados túbulos dentinarios. Estos alojan a los procesos odontoblásticos y en muchas ocasiones se dividen formando bi o trifurcaciones (Kraus B, et al, 1972; Maniatopoulus C, Smith D, 1983; Gisle F, 1992; Us Bureau, 1994; Linden LA, 1995), sobre todo en las cercanías del esmalte (Tagami J, et al, 1992), los odontoblastos emiten ramificaciones laterales a intervalos de 1 a 2 micrones (Ten Cate AR, 1986), que contactan con las prolongaciones de los odontoblastos adyacentes, lo que condiciona una superficie cribiforme del túbulo y una red de túbulos dentinarios secundarios perpendiculares u oblicuos a los principales, que contactan con los túbulos vecinos, a través de los cuales se difunde el fluido dentinario (Jones SJ, Boyde A, 1984; Pashley DH, 1989)

El diámetro de su lumen depende de dos aspectos: 1).- De acuerdo a su localización y 2).- De acuerdo a la edad. Por su localización, Algunos investigadores describen que el diámetro de los túbulos en la predentina, es de 2.5 a 2.8 μm , mientras que en el tercio medio de la dentina es de 1.2 a

1.5 μm ., y por último, cerca de la unión amelo-dentinaria es de aproximadamente 1.0 μm (Garberoglio R, Bränström M, 1976; Maniatopoulos C, Smith D.C., 1983; Grayson W, Marshall Jr, 1993, Mjör I.A., 1996).

Algunos estudios, establecen que el diámetro de los túbulos decrece con el envejecimiento debido al aumento de las paredes tubulares de la dentina peritubular por la precipitación de las sales minerales (Hidroxiapatita)(Mjör I A, 1987; Kvaal SI, 1994, Mjör I.A., 1996).

Estos conductos juegan un papel muy importante en el desarrollo de la dentina y además son de importancia para su fisiología, ya que su contenido, fluido dentinario, sirve como medio de transporte de iones y moléculas (fosfato de calcio) a lo largo de su vida (Gisle F, 1992; Linden LA, 1995). El número de túbulos por unidad de área es de 30,000 a 40,000 túbulos/ mm^2 , radiando desde la pulpa atravesando la dentina hasta la unión amelo o cemento dentinaria (Linden LA, 1995).

Dentina peritubular. Esta estructura está altamente mineralizada, forra a los túbulos y tiene un espesor de 1 a 3 μm . Solamente en la parte pulpar es donde hay ausencia de esta, sin embargo, muestra comunicaciones con los túbulos vecinos (Kraus, 1972; Gisle F, 1992; Maniatopoulos C, 1993; Us Bureau, 1994; Linden LA, 1995).

La formación de dentina peritubular es lenta y continua, pero puede ser acelerada por estímulos externos. El proceso de formación de la dentina peritubular causa una reducción progresiva del lumen del túbulo y puede reducirlo o cerrarlo. Cuando esto ocurre en varios túbulos de la misma área, da una apariencia vítrea que se le conoce dentina esclerótica (Sigal MJ, 1984; Grayson W, Marshall Jr, 1993; Kvaal SI, 1994).

Espacio peri-odontoblástico. Este es un espacio entre las paredes de los túbulos dentinarios y los procesos de los odontoblastos. Está ocupado por un

fluido con pocas fibras colágenas. Es importante este espacio por los cambios intratubulares durante el crecimiento de la dentina peritubular (Kraus B, 1972; Di Renzo M, 1995).

Dentina intertubular. Constituye la mayor parte de la dentina, está localizada entre los túbulos. Es producto de la secreción y función de los odontoblastos y consiste en un tejido hermético de una red de fibras colágenas dentro de las cuales se depositan cristales de apatita, (Kraus B, 1972; Di Renzo M. 1995; Linden LA,1995).

Dentina interglobular. Durante la mineralización de la dentina hay precipitación de sales inorgánicas en la matriz orgánica, donde se formarán racimos globulares pequeños y redondos, llamados calcosforitas las cuales aumentan de tamaño y se fusionan para formar una capa homogénea de dentina calcificada. Cuando los glóbulos no logran la fusión o unión, aparecen áreas irregulares de matriz no calcificada, ésta es la dentina interglobular que se interpreta como un área hipomineralizada que aparece como un defecto irregular en la dentina madura (Kraus B, 1972; Linden LA, 1995). Tienen un diámetro aproximado de entre 10 -50 μm , (Shellis RP., 1983).

Predentina. Es un tejido hipomineralizado de la dentina forma una capa de 15 μm aproximadamente, se encuentra entre la pulpa y la dentina propiamente dicha. Se puede diferenciar en dos capas, una predentina madura y una de nueva formación. La predentina madura está próxima a la dentina. La interfase dentina-predentina esta caracterizada por calcosforitas las cuales se fusionan durante la mineralización, (Kraus B, 1972).

Composición.

La dentina es una estructura heterogénea sólida que esta compuesta de material inorgánico, orgánico y agua, (Di Renzo M, 1995).

Las características de la dentina han sido motivo de estudio desde varios puntos de vista, algunos investigadores han dirigido sus esfuerzos a conocer más a nivel histológico, otros a nivel estructural y de composición química. Algunos se han dado a la tarea de establecer su composición química, pero no llegan a un acuerdo, como es el caso de Linde, que en 1987 mencionó que el volumen básico de la dentina consiste en 50% de material inorgánico, 30% de material orgánico y 20% de agua, donde el 90% del componente orgánico es colágeno y el remanente consta de proteínas no colágenas y glucoproteínas, (Linde A, 1992).

Otros dicen que la dentina esta compuesta de aproximadamente 68% de tejido altamente mineralizado (hidroxiapatita), 20% de colágena como proteína mayor y cantidades pequeñas de glucoproteínas, y el 10% restante corresponde al agua, (US Bureau, 1994). De tal manera que la estructura de la dentina se compone por un depósito de cristales minerales inmersos en una red de fibras proteicas, de los cuales el 90% es colágeno tipo I, y su equilibrio consiste en una funda de fosfoproteínas circundando al colágeno y otras proteínas en pequeñas cantidades, (Di Renzo M, 1995).

Contenido inorgánico. La dentina en su estructura esta formada por un 70% de material inorgánico (47% vol.), que en comparación del esmalte tiene un porcentaje menor (97%) y mayor que la del hueso (65%), (Trautz O, 1967; LeGeros RZ, 1991).

El fosfato de calcio constituye el mayor porcentaje como parte constitutiva del material inorgánico, donde el Calcio (Ca^{+2}) se encuentra en un 35.1%, y el Fósforo (P^{+4}) en un 16.9 %. La relación molar del fosfato de calcio (Ca/P) es 1.61. También se han encontrado otros elementos en menor cantidad como el carbono (C^{+4}) 5.6%, magnesio (Mg^{+2}) 1.23%, sodio (Na^{+1}) 0.6%, potasio (K^{+1}) 0.05%, Fluor (F^{-1}) 0.06%, cloro (Cl^{+1}) 0.01% y Pirofosfatos (PO_5) 0.10%, dando un total de 70%.

Muchos trabajos reportan que la porción molar del Ca/ P es inferior en dentina que en esmalte. En observaciones submicroscópicas, los cristales de hidroxapatita son más grandes en esmalte que en dentina corroborando lo anterior (LeGeros RZ, 1991).

Contenido orgánico. Representan el 20% de la dentina. El 90% de este corresponde a la colágena tipo 1, 10% de proteínas no colágenas, como fosfoproteínas con pequeñas cantidades de carboxiglutámico, proteínas del tipo de la osteocalcina, proteínas GLA, glucoproteínas, suero y proteoglicanos. El agua constituye el 10% del total de la dentina, esta asociado con el componente orgánico (Veis A; Rowless SL, 1967; Pashley DH, 1988).

TÉCNICAS EMPLEADAS EN LA CARACTERIZACIÓN

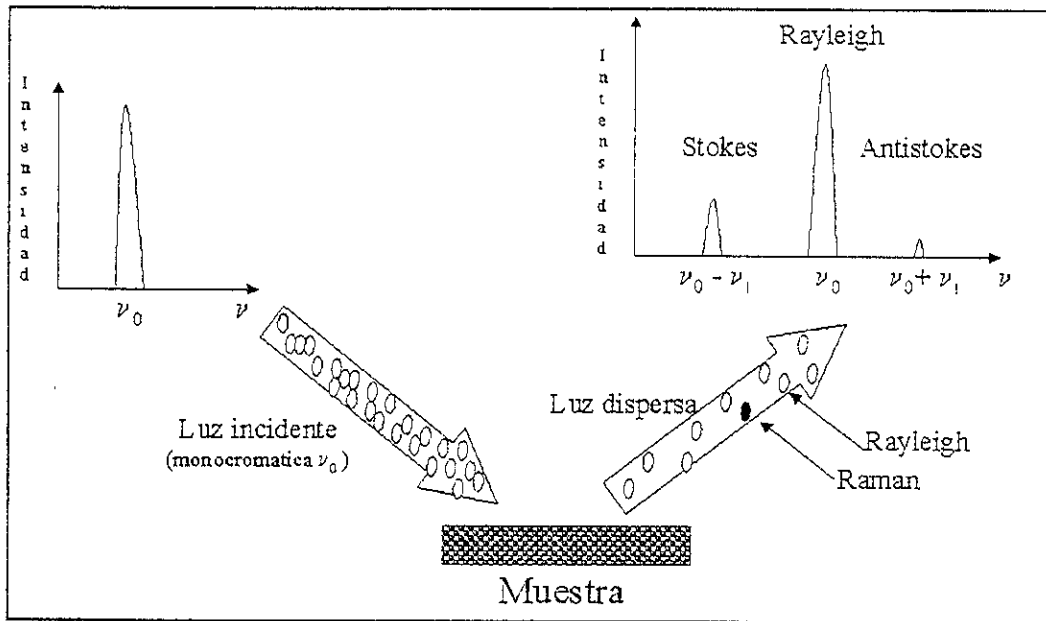
Espectroscopía de Raman

La espectroscopía de Raman recibe el nombre de su descubridor Sir Chandrasekhara Venkata Raman quien fue premio Nobel de Física en 1930, y que concierne transiciones entre niveles de energía vibracional de las moléculas (Aguiló-Rueda F, 1993).

Es un hecho conocido que la luz de un determinado color o frecuencia solo puede ser absorbida por un determinado material o sustancia cuando esa frecuencia se corresponde con alguna frecuencia de vibración interna del material. De esta manera, cada material absorbe luz de frecuencias características que dependen de su estructura interna y que sirve para identificarlo. Así, las bandas de absorción debidas a las vibraciones moleculares y cristalinas aparecen en el infrarrojo y las debidas a las excitaciones de los electrones aparecen en el visible y en el ultravioleta. Por lo tanto, cada rango de luz requiere de una técnica específica, traduciéndose en una espectroscopía de absorción diferente.

La espectroscopía de Raman, por el contrario se basa no en la absorción de la luz, sino en un cambio de frecuencia de un haz incidente sobre el objeto, es decir, cuando un haz de luz monocromático de frecuencia ν_0 incide sobre una muestra, parte de la luz no es absorbida, pero si es dispersada en todas direcciones. De esta luz dispersada la mayor parte tiene la misma frecuencia que la luz incidente a la cual se le da el nombre de dispersión elástica o Rayleigh, pero la extremadamente menor parte tiene frecuencias distintas esquema 1. A este cambio de frecuencia de la luz se denomina efecto Raman y se debe a que algunos fotones de la luz incidente interaccionan con el material, creando o destruyendo vibraciones moleculares. En el primer caso se le da el nombre de efecto Raman Stokes, que es cuando el fotón pierde la

energía necesaria en crear la vibración molecular y su frecuencia queda reducida a $\nu_0 - \nu_i$, donde ν_i es la frecuencia de la vibración.



Esquema 1.- Dispersión de la luz monocromática.

Después del intercambio energético con el fotón (instante 2) la molécula pasa entonces de un estado de reposo (instante 1) a un estado de vibración con frecuencia ν_i (instante 3). En el segundo caso, cuando se destruye energía se da el nombre de efecto Raman antiStokes y ocurre cuando la molécula está ya vibrando en el instante 1, ya que todo material a temperaturas por encima del cero absoluto, produce vibraciones térmicas, entonces el fotón incidente puede ganar energía de la vibración ya existente y su frecuencia aumenta hasta $\nu_0 + \nu_i$. Después de ceder su energía vibratoria en el instante 2 la molécula queda en reposo (instante 3) esquema 2. De tal manera que la espectroscopía Raman se basa en este cambio de frecuencia en la luz dispersada para obtener las frecuencias de vibración moleculares y otras propiedades relacionadas.

constante de proporcionalidad. Puesto que la magnitud del vector eléctrico del campo electromagnético varía con el tiempo, t , en forma senoidal,

$$E = E_0 \cos (2\pi \nu_0 t) \quad \therefore P = \alpha E_0 \cos (2\pi \nu_0 t)$$

La polarizabilidad, α , consta de dos partes: α_0 , la polarizabilidad cuando los átomos de la molécula se encuentran en sus posiciones de equilibrio, y un segundo término que corresponde a la suma de polarizabilidades de la molécula debido a los diversos movimientos rotacionales y vibracionales de la molécula completa, cada término de esta segunda parte varía con la frecuencia asociada a cada rotación o vibración particular, de modo que

$$q = q_0 \cos (2\pi \nu_{\text{vib}} t)$$

Donde q es la polarizabilidad determinada por la expresión del coseno del haz monocromático ($2\pi \nu_{\text{vib}} t$), lo que entonces puede asociarse, el α del efecto Raman es una función del modo de vibración de la molécula, es decir:

$$\alpha = f (q)$$

En el caso de moléculas pequeñas se aplica la función derivada de (q), por lo que la fórmula se expresa de la siguiente manera:

$$\begin{aligned} \alpha &= \alpha_0 + (\partial\alpha / \partial q)_0 q + \dots\dots\dots \\ &= \alpha_0 + (\partial\alpha / \partial q)_0 q_0 \cos (2\pi \nu_{\text{vib}} t) \end{aligned}$$

el término $\partial\alpha$ es la polarizabilidad asociada al n -ésimo modo rotacional o vibracional, y q_0 es el desplazamiento máximo de los átomos involucrados. Entonces, la integración del comportamiento energético para producir el efecto Raman queda como sigue:

$$P = \alpha_0 E_0 \cos (2\pi \nu_0 t) + (\partial\alpha / \partial q)_0 q_0 \cos (2\pi \nu_{\text{vib}} t) \cos (2\pi \nu_0 t)$$

pero si:

$$\cos A \cos B = \frac{1}{2} \{ \cos (A + B) + \cos (A-B) \}$$

finalmente

$$P = \underbrace{\alpha_0 E_0 \cos (2\pi \nu_0 t)}_{\text{Rayleigh}} + \frac{1}{2} \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right)_0 q_0 \left\{ \underbrace{\cos [2\pi (\nu_0 + \nu_{\text{vib}}) t]}_{\text{Anti-Stokes}} + \underbrace{\cos [2\pi (\nu_0 - \nu_{\text{vib}}) t]}_{\text{Stokes}} \right\}$$

El primer término contiene la frecuencia de la radiación incidente y corresponde a la dispersión Rayleigh. El segundo representa las bandas anti-Stokes ($\nu_0 + \nu_{\text{vib}}$) y las Stokes ($\nu_0 - \nu_{\text{vib}}$) de la dispersión Raman. Nótese que la $\partial \alpha / \partial q$ no debe ser cero (Castaño MV, 2001).

Por otro lado, en términos de frecuencia, el espectro de luz dispersada tiene un pico central muy fuerte que es el pico Rayleigh (ν_0), que es similar al espectro de luz incidente y otros mucho más débiles llamados picos Raman, que en número son tantos como vibraciones activas en Raman tenga el material y que no estaban en el espectro de luz incidente, los cuales pueden estar por debajo de esta, a los cuales se les da el nombre de Stokes o por encima de ν_0 que son los AntiStokes, según se haya creado o aniquilado una vibración respectivamente.

El desplazamiento de Raman ν_i se mide como el número de ondas por centímetro o cm^{-1} .

Y en términos de intensidad, un pico Raman, varía de acuerdo a la frecuencia de la luz incidente, es decir es proporcional a ν_0^4 . Sin embargo, cuando ν_0 se aproxima a una banda de absorción del material, la intensidad Raman puede

crecer varios ordenes de magnitud (efecto Raman resonante) (Aguiló-Rueda F, 1993).

El barrido de RAMAN es una técnica muy sensible a través de una sonda atómica local. Ciertamente las propiedades de los modos vibracionales son básicamente determinadas por la masa, el tipo de unión y la simetría atómica que constituyen la unidad elemental (molécula) del sólido, líquido o gas (unidad primitiva celular). De esta manera, la zona circundante o cercana a la partícula atómica, tiene una fuerte influencia en su dinámica; por lo tanto, la aparición de cualquier factor físico afecta el orden de rango corto, semejante a defectos o impurezas, teniendo un impacto directo en las propiedades vibracionales del átomo. Tales, modificaciones en las características vibracionales del movimiento atómico se hacen evidentes en los rasgos del spectrum del RAMAN. Esto es revelado por la instancia, en la notable diferencia entre el spectrum de la muestra cristalina y la de un material amorfo de la misma especie o genero. Para la interpretación del espectro RAMAN, el conocimiento de las propiedades simétricas de la molécula o cristal en un estudio, es de una ayuda relevante. Ciertamente, el empleo de la teoría de grupo a sistemas semejantes, permite determinar la simetría, número y actividad de el modo vibracional atómico en una muestra en particular. (Jiménez SS, 2000)

Instrumentación

Espectrómetro de RAMAN.

En el diagrama 1 se puede observar la instrumentación utilizada en los estudios por dispersión de RAMAN. Actualmente los espectrómetros de RAMAN se han desarrollado bajo dos caminos principales: Los sistemas de dispersión que emplean un procesador monocromático y un sistema transformador Fourier (FT), y los que emplean un interferómetro con un

propósito análogo. Recientemente, excelentes revisiones en instrumentación de sistemas dispersos son dados por Mc Creery (McCreery R.L., 1996) y por los sistemas FT, esto avalado por Hendra (Hendra P.J., 1996); sin embargo, con el propósito de corroborar la sencillez y poder del espectrómetro de μ -RAMAN, la característica general de ambas tecnologías son explicadas más adelante.

Debido al requerimiento de alta intensidad de la fuente monocromática, impuesta por la baja eficiencia del efecto RAMAN (típicamente 1 en 10^7 fotones son dispersados por el proceso de RAMAN), la fuente de excitación de preferencia en todos los sistemas de RAMAN es el láser paso 1 del diagrama 1, usualmente, se utilizan lasers de gas como los de Argón y Kriptón, que pueden dar varios vatios de potencia en ciertas frecuencias discretas del espectro visible. La gran mayoría de lasers emiten también algo de luz a frecuencias no deseadas. Los sistemas FT emplean emisiones láser cercanas al infrarrojo, usualmente Nd:Yag con láser de 1064nm., los sistemas de dispersión de rango corto usualmente emplean emisiones c.w lasers visible tal como láser Ion Ar-He o He-Ne (Jiménez SS, 2000). La luz láser se suele limpiar, de las frecuencias no deseadas mediante filtros interferenciales o pequeños monocromadores de prisma (Agullo-Rueda F, 1993). El enfoque óptico paso II en el diagrama 1, depende en mucho de la geometría particular y consiste regularmente del enfoque y lentes apropiados para la longitud de onda del láser. En los sistemas dispersos, un lente cilíndrico es comúnmente colocado para enfocar el haz del láser en la superficie de la muestra, es decir, que la máxima intensidad de la señal pasa a través de la apertura rectangular monocromática y también como una ayuda para evitar el efecto de calentamiento láser ya que puede producir cambios en la muestra. La colección óptica paso IV del diagrama 1, también esta compuesto por una apropiada configuración de lentes que optimizan la detección de señales. En el caso de un cristal o muestras no isotropicas, las propiedades de polarización de la luz dispersada puede ser estudiada colocando un polarizador sobre el haz láser antes de que alcance a la muestra y otro

polarizador usado como analizador en la trayectoria de la señal óptica antes del procesador de señales (Jiménez SS, 2000). En ambos casos, la luz dispersada por la parte más iluminada de la muestra, se enfoca, con una lente de colección sobre la rendija de entrada del espectrómetro, que es donde se analiza la luz y se obtiene el espectro Raman (Agullo-Rueda F, 1993). El procesador de señales, paso V del diagrama 1, puede ser definido como un arreglo óptico que permite construir una frecuencia, energía o descomposición de señales. En caso de los sistemas FT, el procesador de señales consiste de un interferómetro Michelson y un procesador FT, que en el caso de los sistemas dispersos, el procesador de señales es un monocromador, (Jiménez SS, 2000). De esta manera los monocromadores de Raman, separan la luz dispersa según su frecuencia por medio de redes de difracción que son espejos con un rallado de más de mil rayas por milímetro, que separan la luz en sus colores constituyentes, la resolución de espectrómetro viene dada por el número de redes, el número de rayas en las redes, la distancia focal y de apertura de las rendijas (Agullo-Rueda F, 1993). Tal monocromador en el tradicional espectrómetro de RAMAN necesita ser doble o triple para suprimir la elasticidad del rayo láser dispersado (Jiménez SS, 2000), es decir, que con esto la segunda y tercera red, recombinan los colores separados por la primera dejando pasar sólo una banda de frecuencias Stokes y no la línea Rayleigh. La luz Raman separada espacialmente en frecuencias se transforman en señales eléctricas, en detectores muy sensibles, normalmente enfriados para reducir el ruido (señales espúreas) (Agulló-Rueda F, 1993). Después de este paso, el procesador de señales alcanza al detector, dado en el VI del diagrama 1. El detector de RAMAN además es diferente para el FT y los sistemas de dispersión, debido al diferente rango de longitud de onda en la que trabajan. Actualmente el detector más común para los sistemas FT son hechos de Ge y InGaAs. En el caso de los sistemas dispersos los detectores de preferencia son los tubos fotomultiplicadores (PMT) o el aparato de acoplamiento de carga (Charge coupled devices (CCD)). Los PMT, son menos sensibles pero proveen una útil herramienta cuando el interés está enfocado en los detalles

de la forma lineal de los picos, (Jiménez SS, 2000). El fotomultiplicador permite contar fotones uno a uno, de esta manera el espectro obtenido puede ser tratado digitalmente y almacenado en un ordenador y se representa como número de cuentas (fotones detectados) frente a un desplazamiento Raman. Los detectores CCD representan la tecnología moderna en la detección de multicanales debido a su baja señal de ruidos (dark-noise), y alta eficiencia cuantificadora (high-quantum) (número de fotones requeridos para medición electrónica), que siendo dependiente de la longitud de onda, puede alcanzar más de 80% en los casos de debilitamiento del detector CCD (Mac Creery, 1994).

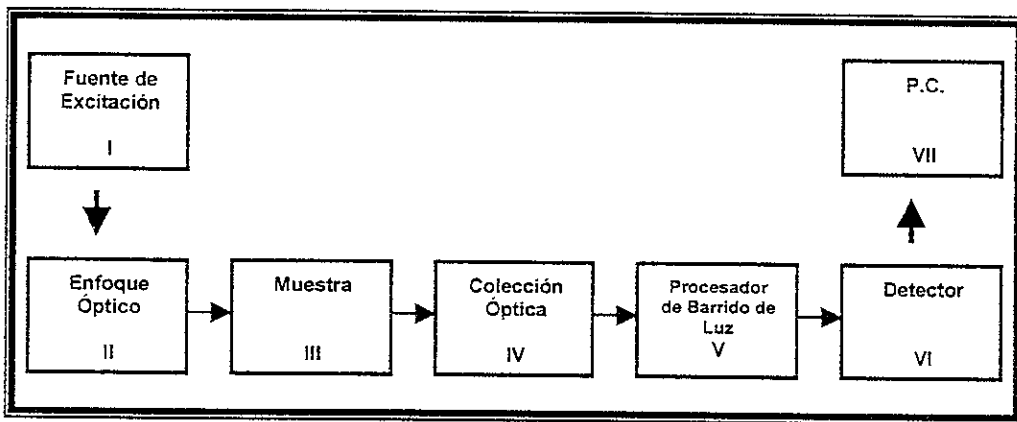


Diagrama 1.- Diagrama general de los componentes del Espectrómetro de Raman.

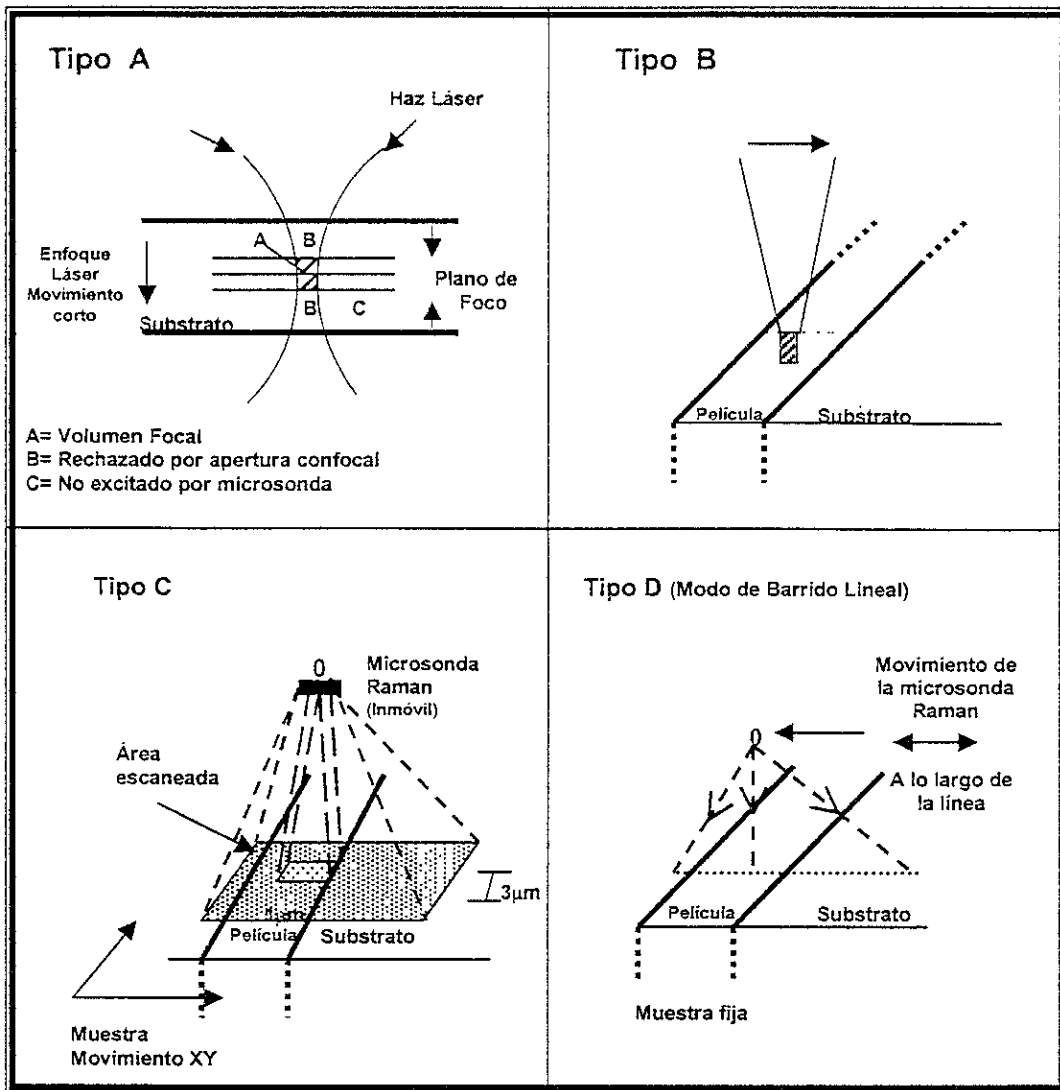
Espectroscopía de Micro-RAMAN.

Es común en la espectroscopía de RAMAN la adaptación de un microscopio a un espectrómetro tradicional, así que la fuente de excitación y emisión de señales son transmitidas y enfocadas a través del microscopio óptico y el rayo disperso entonces es mandado al procesador de señales del sistema, ver secuencia V en diagrama 1.

Durante la pasada década, ocurrió una revolución en la instrumentación de espectroscopía de RAMAN, con el uso de técnicas holográficas para el desarrollo y construcción de elementos ópticos (Jiménez SS, 2000). De hecho tales métodos permitieron, la posibilidad de usar filtros ópticos que selectivamente bloqueaban la transmisión (la densidad óptica para una específica longitud de onda láser puede ser a más de 6.0) de la elásticamente no deseada línea láser esparcida o espurea. Tales filtros, son los llamados filtros holográficos. La función de estos filtros combinan la limitada anchura de banda espectral, la alta reflectividad de la longitud de onda láser y las excesivas bandas limitantes. Estas características permiten adquisiciones simultáneas de ambas luces esparcidas las Stokes y anti-Stokes, y además la grabación del espectro de RAMAN, cambiando el número de señales tan bajo como 50 cm^{-1} . Actualmente el uso de filtros holográficos hacen posible, emplear un solo monocromador, en vez de dos o tres. En el diagrama 1, el enfoque óptico (II) consiste de algunos espejos, usados para llevar al haz láser al microscopio óptico y al objetivo del microscopio. El haz láser sigue la trayectoria óptica hasta el objetivo y además permite que la luz sobre esparcida alcance al filtro holográfico, luego envía la luz esparcida dentro del procesador de señales (secuencia V en diagrama 1) y después al detector. Cada vez, más espectrómetros de Micro-RAMAN usan detectores CCD, teniendo la ventaja de la detección rápida del multi-canal y también de la alta sensibilidad a bajo signo de ruido. Por ejemplo, en este modo, es posible adquirir un espectro de RAMAN de silicón o germanio de varios miles de cuentas por segundo en un material. Modernos Espectrógrafos de Micro-RAMAN pueden incorporar fibras ópticas, tan como buena sea la compatibilidad confocal en el microscopio; de esta manera primeramente se puede utilizar como detector remoto y secundariamente se pueden interpretar medidas con una resolución alta (Jiménez SS, 2000).

La espectroscopía de RAMAN se ha venido empleando para estudiar diferentes tipos de materiales, en el esquema 3 se muestra cuatro diferentes modos de obtención que fueron aplicados para estudiar una película epitaxial

de AlGaP desarrollado en un sustrato de GaP en fase-liquida epitaxi. Con este ejemplo, el modo de adquisición no-tradicional disponible en el sistema fue ilustrado. En el esquema 3 A es mostrada la aplicación de la compatibilidad confocal del microscopio teniendo alta-resolución para el estudio de muestras. La figura muestra un grosor de 3-4 μm en la región cercana al plano confocal que esta determinado por el enfoque de haz láser. Llegando la señal desde arriba y abajo, el plano focal, es bloqueado por un tapón, no mostrado en la figura, situado en la trayectoria óptica del detector, así que, solamente las señales RAMAN originadas en la región A en el esquema 3 A, llegan al CCD. En este modo, si la muestra es transparente a la longitud de onda láser, el haz láser puede ser enfocado a la superficie de la muestra y entonces con puntos intermedios es localizada la interfase sustrato-película. En el esquema 3 B, la película es colocada en una cara de la muestra, así que el haz láser examina el borde de la película. En este caso, una exploración manual con la ayuda representada por la mesa XY. Para películas epitaxiales, esta forma ventajosa de adquisición permite observar a la muestra desde otro plano cristalográfico con respecto a la superficie de la película y entonces, más información es obtenida desde diferentes reglas de aplicación de RAMAN. Esta ultima observación se aplica también a modos conocidos de aplicación como en los esquema 3 C y D. En el primer caso, un área es definida en la muestra y el haz láser sobre explora a la muestra con movimientos a través de la mesa XY controlada por computadora; en la figura una división del área total esta representada por células de 1X3 μm^2 , aunque esto es posible definir como rejillas finas. En el segundo caso esta representado el modo línea- barrido, en el cual el haz láser barre a lo largo de una línea recta por movimientos inestables por un espejo a una frecuencia de 10Hz. Este ultimo modo de adquisición tiene la ventaja de proveer una considerable rapidez para la obtención del perfil de RAMAN, sin embargo, la densidad de la muestra es reducida por el bombardeo láser, esta aplicación es más apropiada para muestras que proveen una alta intensidad para las señales RAMAN, (Jiménez SS, 2000). Los mencionados modos de adquisición vienen siendo aplicados a estudios con una amplia variedad de muestras.



Esquema 3.- Algunos modos de obtención en espectrografía de Raman.

Aplicaciones de la espectroscopía de μ -raman.

De esta manera la espectroscopía Raman es una técnica muy importante en el estudio de materiales aunque su efecto sea muy débil, ya que por la utilización de la dispersión de la luz se pueden estudiar tanto a sólidos, líquidos y gases. Entre las ventajas, es una técnica no destructiva y que no requiere una preparación especial de las muestras, esta técnica puede

aplicarse a muestras tanto transparentes como opacas (Agullo-Rueda F, 1993), monocomponentes o multicomponentes, tanto de origen orgánico e inorgánico (Jiménez SS, 2000). Entre las desventajas, es que se requiere mucho cuidado en el ajuste para evitar la luz del pico Rayleigh y la luminiscencia de la muestra, que puedan enmascarar el espectro Raman por ser fenómenos mucho más intensos (Agullo-Rueda F, 1993; Jiménez SS, 2000). Y en el caso de los metales puros viene siendo un problema en materia experimental para los espectroscopistas de barrido de RAMAN debido a la extremadamente corta penetración de la radiación electromagnética en un metal, limitado por su superficie impenetrable y también por la baja eficiencia del RAMAN debido a los bajos valores de los componentes tensionales del RAMAN, cuyos valores o datos no han sido determinados (Jiménez SS, 2000).

En el espectro Raman se obtienen las frecuencias de vibración y las intensidades de los picos. El número de los picos esta relacionado con el número de átomos en la molécula y su simetría, de esta manera cuanto más átomos haya o menor sea la simetría mayor será el número de picos. Por otro lado, la frecuencia de vibración es mayor cuanto mayor sea la rigidez de los enlaces o menor sea la masa de los átomos involucrados. Sin embargo, las intensidades Raman dependen de la naturaleza de los enlaces, aumentando con la covalencia de éstos y de su simetría.

De hecho la espectroscopía Raman da información sobre la naturaleza y estructura de las moléculas. La cual es similar a la que se obtiene por espectroscopía de absorción infrarroja, en esta se mide la absorción de luz infrarroja incidente en función de su frecuencia. Es decir que cuando los fotones incidentes tienen la misma frecuencia que una de las vibraciones moleculares estos son absorbidos y su energía se gasta en excitar una vibración. Como las frecuencias vibracionales tienen valores por debajo de los $4,000\text{ cm}^{-1}$, el rango de frecuencias necesario para ser vibraciones moleculares por absorción es el infrarrojo, Sin embargo, en espectroscopía

de Raman si la luz incidente esta en el visible, por ejemplo a una frecuencia de $19,430\text{ cm}^{-1}$ para un láser de argón, después de un desplazamiento Stokes de $4,000\text{ cm}^{-1}$ la luz Raman resultante está todavía en el visible (recordar que los Stokes son mucho más inferiores que ν_0). Ambas espectroscopías son complementarias una con otra, ya que determinan que excitaciones son visibles en un espectro o son distintas y no todas las vibraciones se pueden medir sólo en Raman o sólo en infrarrojo (Agullo-Rueda F,1993).

Actualmente el poder y la simplicidad del moderno μ -Raman dedicado a la espectrometría dispersiva, permite una mayor eficiencia y rapidez que sus predecesores de hace 10 años. Dos puntos han jugado un papel importante en el desarrollo de la tecnología: a) Los filtros holográficos y b) los detectores CCD-based. Los filtros contribuyen a resolver viejas interferencias en la espectroscopía de Raman tales como: la supresión de la no deseada radioluminiscencia, y los detectores CCD dan la confianza y estabilidad del sistema de detección multicanal durante su uso. Anteriormente, con la espectroscopía tradicional no era posible obtener los resultados que se buscaban, así que se empleaban técnicas más sofisticadas pero costosas y algunas destructivas, que ahora con el μ -Raman es posible obtener información similar. Esto ha resultado ser una importante herramienta en el área de la investigación de materiales. Se prevé un futuro muy prometedor de la espectroscopía de μ -Raman especialmente en las áreas semejantes a la microelectrónica, biología y medicina, (Jiménez SS, 2000).

Tal es caso del primer trabajo de Odontología realizado en esmalte humano bajo esta técnica, después de haber sido tratado con láser de CO_2 , comparándolo con el esmalte sin tratar y con hidroxiapatita (HA) pura y Fosfato tricalcico (FTC), donde denotan que el esmalte tratado con láser de CO_2 , muestra una conversión parcial de la HA y FTC, (Aminzadeh A, Shahabi S, Walsh LJ, 1999).

La información existente respecto a las características y composición de la dentina deja claro es ella quien da soporte y estructura al diente, y que ultraestructural y químicamente el tejido esta compuesto por los mismos elementos, pero un aspecto importante es que existen diferencias en cantidad, posición, grosor y dirección de acuerdo a la zona o sitio anatómico donde se encuentre, dando como consecuencia que en el mismo tejido existen diferentes reacciones en cuanto a las interacciones químicas y fenómenos de superficie que tienen relación con la adhesión de los materiales de restauración directa. En este contexto se realizó el presente trabajo con la finalidad de establecer las diferencias o similitudes de la región en la que se encuentre.

Microscopio electrónico:

El microscopio electrónico ha sido una fuente inagotable de conocimientos y se ha convertido en una herramienta fundamental de la Física Moderna, la Ciencia de los Materiales y la Biología en los últimos 50 años.

La historia del microscopio electrónico se inicio cuando surgió la inquietud de explicar la acción del tubo de Rayos Catódicos en términos de óptica geométrica.

Una vez inventado el microscopio electrónico se vio la similitud que había con el microscopio óptico en cuanto a la formación de la imagen, por lo cual el microscopio tuvo un desarrollo rápido. La dualidad onda-partícula en el concepto cuántico, fue uno de los principios fundamentales en el diseño del microscopio electrónico, dado en los años 20's. Louis Broglie en 1924 dedujo una ecuación que permitió calcular la longitud de onda esperada para una partícula de una cierta masa. Esto lleva a la posibilidad de lograr, que las ondas asociadas a las partículas, por ejemplo los electrones, se difractarán, puesto que la difracción es característica del movimiento ondulatorio. Esto

fue comprobado por Thomson y posteriormente por Davisson y Germer (Yacamán MJ, 1995).

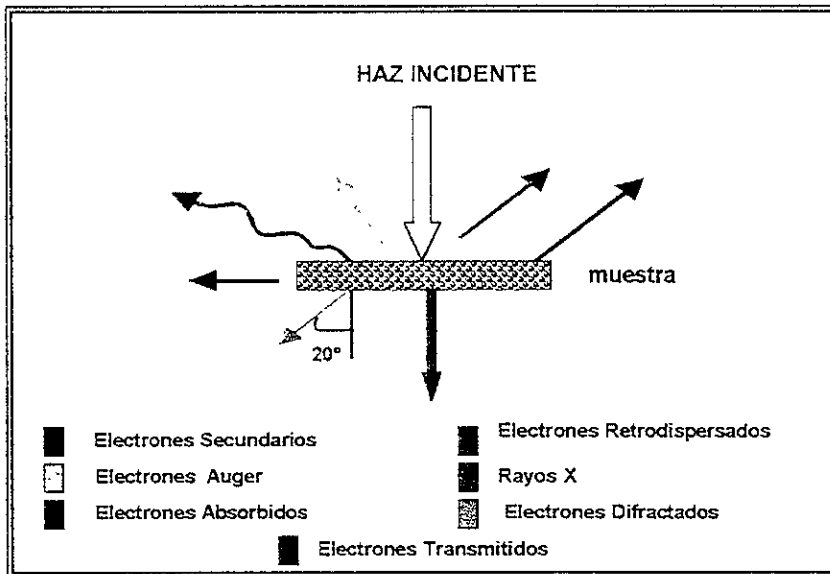
Una vez establecido el carácter ondulatorio, el alemán Ernest Ruska, logro el desarrollo de microscopios basados en electrones, en lugar de luz. Donde en lugar de utilizar lentes de vidrio para enfocar la luz como sucede en el microscopio óptico, se utilizaron bobinas que tienen la acción de campos magnéticos, y estos a su vez de lentes magnéticas. Se les llaman lentes porque obedecen a las leyes de la óptica desarrollada para lentes de vidrio las cuales hay de dos tipos: electrostáticas y electromagnéticas:

a) *La lente electrostática*, es el casco del cañón de electrones del microscopio electrónico, se compone de diferentes placas mantenidas a diferente potencial, por lo cual, la partícula que pase, se acelera por la diferencia en potencial dependiendo de la carga eléctrica. Estas placas tienen un orificio en el centro permitiendo el paso de estas y la curvatura del campo eléctrico provoca la acción de enfoque, o sea que cuando una partícula cargada pasa a través de una lente electrostática experimenta una fuerza dirigida hacia el campo eléctrico, la cual tiene un componente hacia el eje óptico y gana impulso en esa dirección, de tal modo que es enfocada en algún punto.

b) *La lente electromagnética* depende de las partículas cargadas que viajan dentro de un campo magnético experimentando una fuerza perpendicular al plano formado por la dirección de movimiento y la dirección del campo magnético, de tal manera que cuando el electrón llega al campo sufre un impulso hacia el eje óptico más una rotación alrededor del mismo. Así pues, esto es captado con las lentes de vidrio (Yacamán MJ, 1995).

Cuando el haz de electrones alcanza la muestra se producen varios tipos de señales que permiten establecer la estructura y composición química del material examinado. Estas señales son: Electrones retrodispersados, secundarios, absorbidos, Auger, transmitidos y Rayos X (RX) (Jenkins R,

1976: Heimendhal MV, 1980: Barno-Paredes RA, 1982: Yacamán MJ, 1995).
En el esquema 2 se detallan estas señales.



Esquema 4. Una vez que el rayo principal alcanza al objeto, este se disipa en varias direcciones con cualidades específicas.

La función atribuida a cada uno de los electrones generados al chocar el haz emitido con la muestra se explica a continuación.

a) Los electrones retrodispersados y secundarios informan sobre la topografía de la muestra.

b). - Los absorbidos dan información sobre la resistividad de la muestra.

c). - Los Auger y Rayos X, permiten realizar el análisis químico de la muestra (Microanálisis).

d). - Los transmitidos y difractados que son los que atraviesan a la muestra y son los que utiliza la lente objetiva para formar la imagen en el microscopio electrónico de transmisión. Ya que atraviesan a la muestra, y por lo tanto leen

las características estructurales de esta (Oatley CW, 1972; Goldstein JI, 1981; Yacamán MJ, 1995).

Si en lugar de enfocar el plano-imagen de la lente objetiva, se enfoca el plano focal, lo que se observa es un arreglo de puntos luminosos que no son más que el arreglo de los haces difractados y transmitidos, el cual recibe el nombre de Patrón de Difracción, donde es característico observar un punto muy intenso que es el haz transmitido rodeado de varios puntos más pequeños que son los haces difractados presentando un arreglo geométrico diferente que depende del tipo y composición de la muestra observada (Yacamán MJ, 1995; Reyes J, 1996).

Microscopía electrónica de barrido (MEB)

En la década de los setenta apareció el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB), inicialmente fue diseñado para estudiar, en alta resolución, la superficie de los sólidos, con esto se podría decir que el resultado es similar al óptico, pero el MEB posee una resolución y profundidad de foco mayores (Jenkins R, 1976; Goldstein JI, 1981; Yacamán MJ, 1995).

Además, debido a que posee un mayor número de señales que provienen de la interacción de los electrones con los sólidos, nos permite obtener mayor información sobre la orientación cristalina, la composición química, la estructura magnética o el potencial eléctrico de la muestra (Yacamán MJ, 1995).

El MEB barre la muestra que deberá tener un procesado específico para materiales compuestos que no son conductores de electricidad, este procedimiento consta de un recubrimiento delgado al alto vacío de oro (Au) o carbono (C) para hacerlas conductoras. Los electrones generados barren a la

muestra con un haz de sección transversal pequeño y de alta energía para generar una imagen punto a punto de ella.

Los electrones emitidos en un punto son recolectados por medio de detectores apropiados y utilizados para modular la polarización de la rejilla de un tubo de rayos catódicos (monitor). Si se repite varias veces este barrido la imagen punto a punto representa las características topográficas de la superficie de la muestra. Así la imagen que aparece en el monitor, es un mapa de las intensidades de los electrones emitidos por la superficie de la muestra (Yacamán MJ, 1995).

Cuando se requiere estudiar la superficie de la muestra, los electrones secundarios son utilizados para formar la imagen con una adecuada resolución, ya que por ejemplo, los electrones retrodispersados provienen de una región que se encuentra a 0.5 μm por debajo de la superficie; sin embargo, los electrones secundarios penetran de 5 a 10 μm por debajo de la superficie de la muestra (Oatley CW, 1972; Goldstein JI, 1981; Yacamán MJ, 1995).

A diferencia del microscopio electrónico de transmisión, en el de barrido no disminuye la brillantez de la imagen con la amplificación. Las fotografías se toman en forma externa al sistema de vacío del microscopio y por último se le puede conectar varios sistemas de análisis o de detección muestra (Yacamán MJ, 1995).

Microanálisis de rayos X

Los rayos X constituyen una señal de tipo compositivo, así también como de imagen (mapeo de los elementos), cada rayo X es característico de cada elemento en particular (Valdré G, 1995).

El microanálisis de rayos-X, se basa en la determinación de flujo de rayos-X desconocido relativo a otro de estándar adecuado, para determinar la composición química de la muestra en ordenes de micras. Esto es realizado por un espectrómetro de energía-dispersa (Energy-Dispersive Spectrometer, EDS) adaptado al MEB o al MET, el cual reconoce los pulsos del voltaje producidos por el detector en un promedio proporcional en tamaño para atraer la energía del fotón de rayos X (Goldstein JI, 1981; Valdré G, 1995).

Espectroscopía Infrarroja.

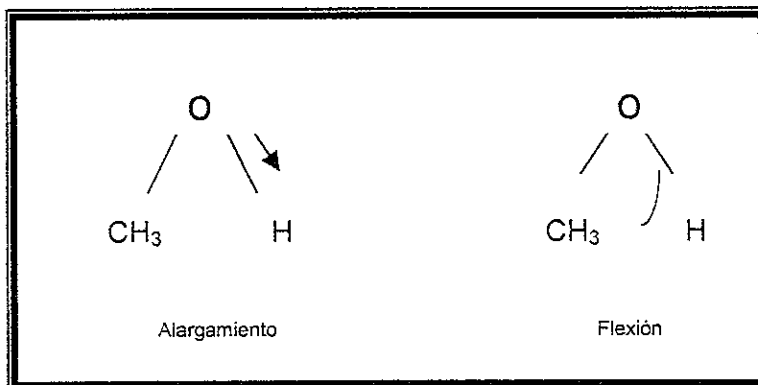
La espectroscopía es el estudio de las interacciones entre la energía radiante y la materia. Se usa para determinar las estructuras de compuestos, dicho de otra manera, de acuerdo al hecho de que las longitudes de onda (γ) a las cuales un compuesto orgánico absorbe energía (ν) radiante dependen de la estructura del compuesto. El principio por el cual reconoce la composición de la materia es que las moléculas solo absorben longitudes de onda específicas (Fessenden RJ, 1984).

Por otro lado la radiación infrarroja (IR) no contiene suficiente energía, como la luz ultravioleta que produce remoción de un electrón a una órbita de mayor energía. Con la infrarroja no sucede esto, solo se absorbe y provoca un aumento en las amplitudes de las vibraciones de los átomos enlazados. Cuando una muestra es sometida a rayos IR absorbe radiación, disminuyendo la cantidad de *fotones* o *cuantos* que se transmiten a través de ésta provocando un descenso de la intensidad con la que venía la radiación y por tanto es lo que se mide en un análisis espectrográfico (Fessenden RJ, 1984).

Como se vio anteriormente, cuando las moléculas absorben radiación infrarroja la energía que se adquiere causa un aumento en la amplitud de las vibraciones de los átomos enlazados, de tal manera que la molécula entra en

lo que se conoce como estado vibratorio excitado, posteriormente, la energía absorbida se elimina o decae en forma de calor al regresar la molécula a su estado normal (Parker FS, 1983; Fessenden RJ, 1984). Lo interesante es que de acuerdo al tipo de vibración da una longitud de onda específica que representa a determinado tipo de enlace; en donde en un espectro, las posiciones de las bandas, ν , están expresadas en centímetros recíprocos (cm^{-1}) y son proporcionales a la fuerza constante, f , entre los átomos o grupos de átomos habiendo reducido la masa, μ (LeGeros RZ, 1991).

Por lo tanto en un estudio de este tipo se presentan diferentes longitudes de onda de acuerdo a los diferentes tipos de enlaces que existan en la muestra (C-H, C-C, O-H, etc.). Aunque también un mismo tipo de enlace puede absorber energía a más de una longitud de onda, si su absorción es mayor ($3330 \text{ cm}^{-1} = 3.0 \mu\text{m}$) hay un aumento en las vibraciones de alargamiento, y si este mismo enlace absorbe una cantidad menor de energía ($1250 \text{ cm}^{-1} = 8.0 \mu\text{m}$) se produce el fenómeno que se conoce como vibraciones de flexión (Esq. 3), a los dos tipos de vibraciones se les llama modos fundamentales de vibración. (Fessenden RJ, 1984).



Esquema 5.- Modos fundamentales de vibración se puede observar mediante las flechas que los enlaces a mayor absorción de la energía hay un alargamiento en el enlace y si es menor únicamente hay flexión.

La energía absorbida varía de enlace a enlace. Así pues, los enlaces no polares presentan una absorción débil y los polares una absorción mucho más intensa (Fessenden RJ, 1984)

Existen factores que determinan la frecuencia de absorción, como la elasticidad de unión (fuerza constante, f) y las masas relativas de los átomos unidos, estos son los principales pero también hay otros que pueden causar desplazamientos en la frecuencia de las bandas de absorción, como los efectos eléctricos, naturaleza, tamaño y carga de átomos vecinos, cambios de fase y nitrógeno unido (LeGeros RZ, 1991). De tal modo que los principios generales útiles en la correlación del espectro con la estructura molecular son:

a).- Frecuencia vibracional o banda espectral la cual se relaciona a un movimiento definido ya sea de alargamiento o flexión.

b).- Configuración específica de los átomos que formaran un radical específico que producirá un espectro vibracional característico.

c).- La frecuencia vibracional es dependiente de las masas de los átomos así como también de las fuerzas internas que mantienen la configuración de la molécula (distancias interatómicas), esto por un lado y por el otro los cambios en el ambiente de los grupos moleculares alterarán el parámetro de equilibrio del grupo molecular (simetría) (LeGeros RZ, 1991).

El análisis IR en los compuestos fosfatados identifica; las fases y pureza de los compuestos, por la presencia de grupos funcionales tales como: HPO, CO, PO, los componentes orgánicos y medio ambiente de los grupos funcionales (Colthup NB, 1990).

El Espectrofotómetro de Infrarrojo, es el instrumento que se utiliza para medir la absorción de la radiación infrarroja. Está constituido, por una fuente

luminosa que emite todo rango de longitudes de onda de radiación infrarroja; dicha luz se descompone en dos haces iguales, mediante un sistema de espejos, donde uno de estos es el haz de referencia y el otro es el haz de la muestra, estos atraviesan las respectivas celdas. En la celda de referencia se encuentra un disolvente (bromuro de potasio), si la muestra esta disuelta, o bien en la celda de la muestra, si esta no esta disuelta; después de atravesar estas celdas los haces nuevamente se vuelven a combinar en otro sistema de espejos para dar un haz con las características de los dos haces anteriores. Este llega a una red de difracción (diagrama 2), la cual descompone el haz en diferentes longitudes de onda, para que finalmente estas longitudes de onda sean captadas por un detector midiendo su intensidad y pasando la información a un registrador de espectro (Colthup N.B., Daly L.H., Wiberley S.E., 1990; Fessenden RJ, 1984).

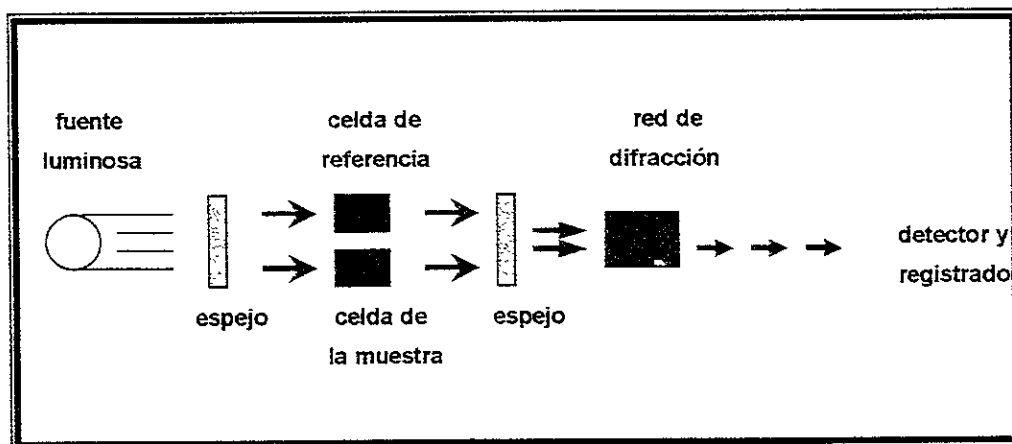


Diagrama 2. Diagrama del Espectrofotómetro de Infrarrojo.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El trabajo clínico para la corrección de las lesiones cariosas implica tanto el manejo y conocimiento de los materiales dentales como de la manipulación de los tejidos remanentes en el diente. Es bien conocido que el tejido que brinda soporte y estructura al diente es la dentina, y que es en este donde se dan las interacciones químicas y los fenómenos de superficie que tienen que ver con la adhesión y retención de los materiales en los dientes. Pese a los adelantos que experimentan los materiales dentales, el conocimiento de la estructura dentinaria no es muy abundante, y como en todo sistema biológico es de esperar que ocurran procesos de adaptación y modificación de sus características.

Este desconocimiento ha provocado que la manipulación y adecuación de los materiales no sea del todo correcta, la explicación a este evento podría circunscribirse al hecho de que la dentina puede tener diferencias en la composición según la ubicación en la que se encuentra, o también puede ser debido a que la experiencia o exposición al proceso carioso desarrolle modificaciones en la composición básica y/o superficial de la dentina. La respuesta a estas preguntas no es posible hallarlas ya sea porque la información es escasa o porque los investigadores han aplicado los criterios de estudio en tejidos animales, además de humanos, o porque el estudio ha empleado parámetros y acercamientos de manera diferente. Cualquiera que sea la causa, el efecto clínico tiene un gran impacto en los fenómenos de adhesión, retención, microfiltración, recidiva de caries y degradación de los materiales empleados en los tejidos dentinarios. A la fecha, la información existente con respecto a la composición y estructura de la dentina es la que se encuentra en los textos, y la que se llega a desarrollar en los estudios de adhesión, nosotros creemos que la dentina tiene una estructura básica que puede tener diferencias dependiendo del sitio en que se encuentre. Al tener en claro cual es la composición y características de la dentina estaremos en posibilidad de comprender mejor el comportamiento interfacial y las modificaciones que se llevan a cabo al manipular el tejido dentinario.

JUSTIFICACIÓN.

Hasta el momento, el manejo teórico y clínico de la dentina esta basado en la información contenida en libros de texto, esto representa una desventaja con respecto al avance dinámico de la investigación, ya que mientras que la formación de recursos humanos, tanto en licenciatura como en posgrado, se lleve a cabo con ideas y conceptos que más que brindar una adecuada solidez conceptual, la mayoría de las veces se limita a la transmisión de la información "actualizada", pero que en realidad tiene más de 5 o 10 años de haber sido generada. El significado clínico de esta situación está claramente mostrado en el empleo de materiales dentales de nuevo desarrollo que se ofrecen con más bondades que defectos, y que necesariamente van a tener relación de interfase, adhesión o retención con la dentina. Es necesario crear un mejor entendimiento de las características estructurales y de composición de la dentina humana, ya que es en ella donde se llevan a cabo los principales efectos operatorios y de reconstrucción de la odontología, para que con ello se logre establecer la base en la cual se puedan entender los procesos que ocurren en la superficie e interfase de material-dentina. Algunos investigadores se han dedicado al estudio de este tejido, realizando pruebas en tejidos animales y humanos, pero abordando el problema de una manera diferente cada vez, dando por consecuencia la aparición o existencia de datos diferentes debido al desconociendo de las modificaciones que presenta este tejido tanto estructural como químicamente.

La posibilidad de conocer las características estructurales y de composición de la dentina humana, nos llevaría a entender cual es su biofísica y comportamiento químico en estado de salud, y a partir de ese conocimiento tendríamos los medios para comprender el comportamiento de este tejido y las modificaciones que se pueden presentar y relacionarlo con los materiales dentales que alteran su superficie. Esto traería como consecuencia el diseño de biomateriales que sean adecuados a este tejido.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Determinar las características morfológicas y de composición de la dentina humana.

Objetivos específicos:

1. - Establecer el grosor promedio de la dentina en diferentes zonas.
2. - Observar las características estructurales y de superficie de la dentina en cortes transversales entre la pulpa dental y el esmalte.
3. - Analizar la composición química de la dentina en las zonas próximas a la pulpa dental, el esmalte y la zona intermedia entre ambas.
4. - Determinar la existencia de fases cristalinas diferentes a la hidroxiapatita presentes en la dentina de diferentes zonas del diente.
5. - Conocer las variaciones de las características de la dentina humana en diferentes grupos etáreos.

TIPO DE ESTUDIO

Experimental, descriptivo y analítico.

METODOLOGIA

Materiales

Químicos:

- Bromuro de potasio (KBr Infrared grade, Sigma Chemicals)
- Agua desionizada.
- Tintura de plata (Electrón Microscopy Supply, USA).
- Tintura de carbón (Electrón Microscopy Supply, USA).
- Ácido grabador (fosfórico al 37%) (3M, USA).

Biológicos:

- Premolares humanos.

Varios:

- Disco de diamante de 4"X.4 mm. para cortadora (Allied, USA).
- Discos ultrafinos de diamante para micromotor (Brasseler, USA).
- Tubos de Ependorff, (Nalgene, USA).
- Mortero de ágata.
- Portamuestras para MEB, (Electrón Microscopy Supply, USA).
- Tijeras.
- Cinta adhesiva de carbón, (Electrón Microscopy Supply, USA).
- Pinzas de curación, (Star Dental, USA).
- Dos cámaras fotográficas, (Ricoh, Japan; Minolta XG9, Japan).
- Rollos para impresiones en papel y para diapositivas, (Kodak USA).
- Papel para impresora, (Hewlett Packard, USA).
- Fresas de diamante grano grueso marca (ISO diamond, USA).
- Papel fotográfico para el MEB, (Pelco Supply, USA; Kodak USA)
- Substancias Metalográficas para cubrir muestras.
- Substancias Reveladoras para fotografía, (Kodak, USA).

Recursos

Físicos:

- Microscopio óptico Zeiss (Germany) con escala de medición.
- Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) PHILIPS XL 30 con resolución de 3.5 nm equipado con microsonda marca EDAX para microanálisis.
- Microscopio Electrónico de Barrido JEOL 5900 LV, con resolución en bajo vacío de 5nm., y en alto vacío de 3nm., equipado con microsonda marca OXFORD para análisis químico elemental por la técnica de espectroscopía de dispersión de energía de Rayos X (EDS).
- Espectroscopio de infrarrojo (FTIR-Nicolet)
- Digitalización de Imágenes.
- Una Evaporizadora.
- μ -Raman.
- Un micromotor (Denti-lab, USA).
- Una unidad ultrasónica.
- Una cortadora de disco de diamante (Cuto-1,USA).
- Una pieza de alta velocidad Star Dental.

Instalaciones físicas.

- Laboratorio de Biomateriales - FOUNAM.
- Laboratorio de Materiales Dentales - FOUNAM.
- Departamento de Materiales del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ).
- Departamento de Materia Condensada - Instituto de Física, UNAM.
- Laboratorio de Caracterización del Departamento de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (DFATA) del IFUNAM.
- Laboratorio de Caracterización de Materiales del Centro de Investigación y Estudios Avanzados (CINVESTAV) de IPN.

Método

Para la realización de este trabajo, se utilizaron 45 dientes obtenidos de la Clínica de Especialidades Odontológicas del Hospital Central Militar y de la Clínica de Cirugía Maxilofacial de la División de Posgrado e Investigación de la FOUNAM, que cumplieron con los criterios de participación que consideraban que fueran premolares, superiores o inferiores, extraídos recientemente por razones ortodóncicas, periodontales o protésicas, sin caries ni restauraciones o fracturas en corona o raíz. La edad de las personas de donde se obtuvieron los dientes fue entre 18 a 70 años de edad.

Con la finalidad de establecer el parámetro de grosor de la dentina en los dientes con respecto de la edad, los especímenes fueron separados en tres grupos de 15 especímenes cada uno según los siguientes criterios:

Grupo I- Dientes extraídos de personas jóvenes entre 18 y 29 años de edad.

Grupo II- Dientes extraídos de personas adultas entre 30 y 49 años de edad.

Grupo III- Dientes extraídos de personas de más de 50 años de edad.

Después de realizar la determinación del grosor dentinario, se procedió a la aplicación de técnicas instrumentales de caracterización que no alteraban la estructura, composición o estado físico de las muestras (técnicas no destructivas), se inicio con la espectroscopía de efecto micro-Raman (μ -Raman), microscopía electrónica de barrido de bajo (MEBBV) y Microanálisis con sonda EDAX (MEDAX). Y posteriormente con las técnicas en las cuales se modifico el estado físico y apariencia de los especímenes donde se utilizó la microscopía electrónica de alto vacío (MEBAV) y la espectroscopía infrarroja (FTIR).

Grosor de dentina

En todos los especímenes (45), se tomaron las medidas de la corona con un calibrador digital (Mitutoyo^{MR}) en sentido mesio-distal, utilizando esta medida para dividir en tercios la corona y posteriormente seccionarlos y obtener el tercio medio para realizar el estudio (Fig. 2).

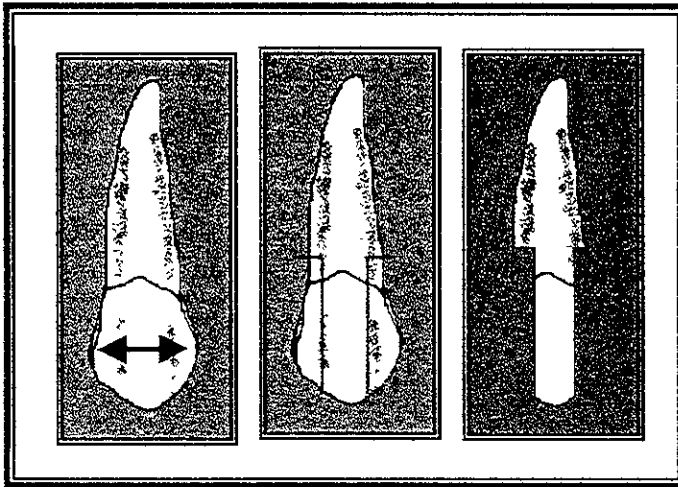


Fig.2.- Se obtuvo la anchura mesio-distal de la corona y de acuerdo a estas se dividieron en tercios para posteriormente realizar los cortes quedando para el estudio únicamente el tercio medio.

En el Departamento de Materia Condensada del Instituto de Física de la UNAM se cortaron los especímenes en una recortadora (Cuto I, USA) utilizando un disco de diamante de corte fino (ALLIED, USA) de 4" y .04 mm de grosor, el cual es utilizado rutinariamente en la preparación de muestras para MEB. Con la finalidad de evitar contaminación durante el corte, se utilizó un sistema de enfriamiento continuó con agua desionizada. Los cortes se realizaron tomando en cuenta las líneas imaginarias que dividen longitudinalmente por tercios la corona. Primero se hicieron los cortes verticales en sentido vestibulo-palatino, seguidos de cortes en sentido horizontal en el nivel apical de los cortes verticales. De esta manera se eliminaron los tercios mesial y distal (Fig.3).

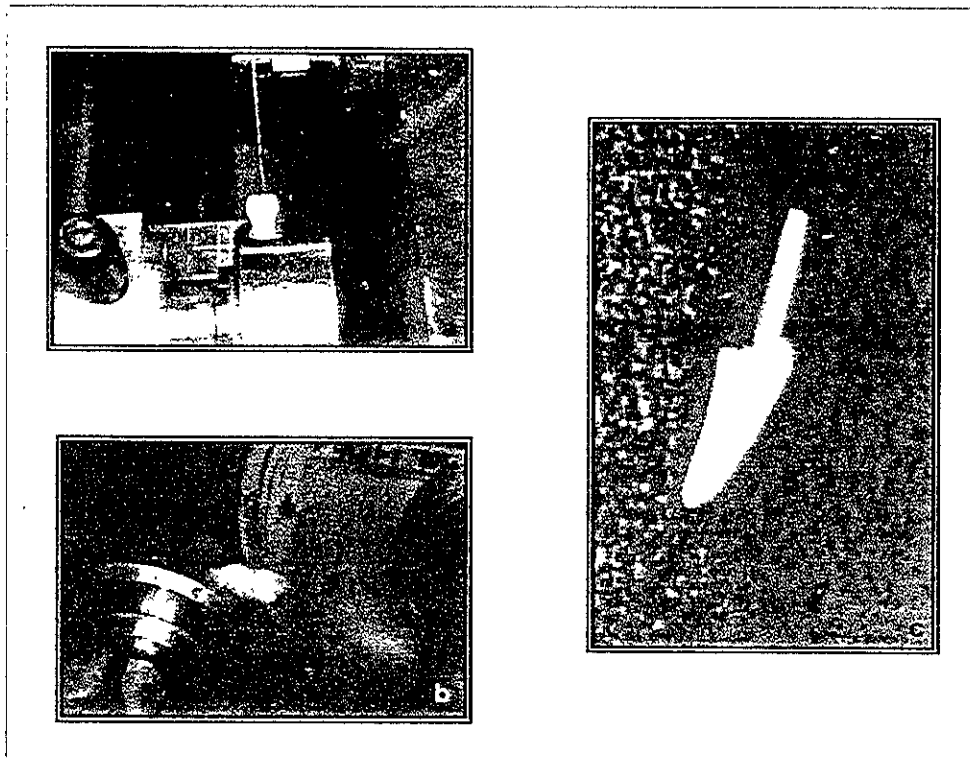


Fig. 3.- Corte de los especímenes:

- a. Especímen en el portamuestras de la recortadora durante el corte vertical sobre las líneas de unión de los tercios mesial, medio y distal.
- b. Corte del espécimen en sentido horizontal eliminando los tercios mesial y distal.
- c. Tercio medio de la corona.

Una vez eliminadas las porciones mesial y distal, por una de las caras expuestas por el corte se colocó el espécimen y se procedió a tomar las medidas correspondientes a la zona vestibular, palatina y oclusal. Estas medidas se determinaron tomando en cuenta la unión amelo-dentinaria por un lado y por el otro la pared pulpar, en el grupo III dado que no existía cámara pulpar el grosor se determinó tomando como parámetro la línea media en sentido vestibulo palatino hasta la unión amelodentinaria, esta se determino a partir de la depresión del surco central de desarrollo en sentido apical al eje longitudinal del diente Fig 4e. Así pues, por la zona vestibular y palatina se obtuvieron tres medidas que correspondieron al tercio cervical, medio y oclusal. Y por la cara oclusal también fueron en tres puntos las medidas que se tomaron, el primero fue por el lado vestibular que fue desde la cima del cuerno pulpar a la cima de la dentina vestibular, el segundo desde la cima de la pulpa a la cima de la dentina esto en el tercio medio de la cara

oclusal y finalmente el tercero, desde la cima del cuerno pulpar a la cima de la dentina palatina o lingual (Fig. 4).

Ya que se obtuvieron las medidas a los especímenes a algunos de estos se eliminó el esmalte para los estudios de caracterización.

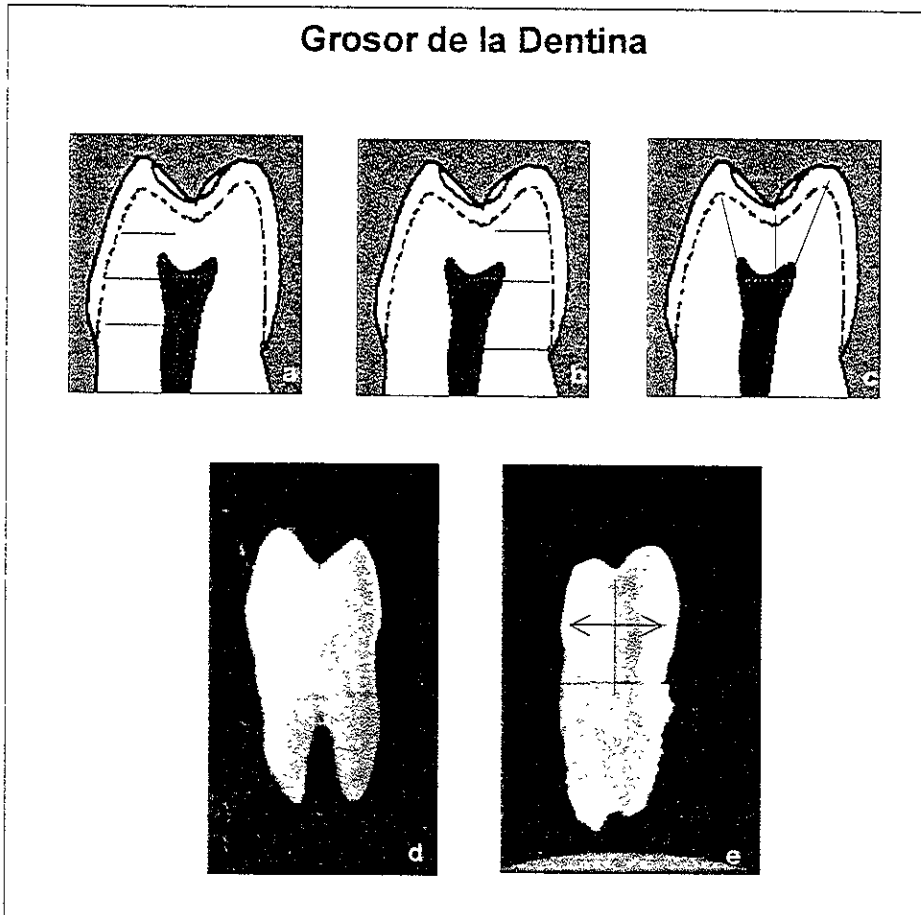


Fig. 4. – Esquema de las medidas de los tercios tanto por el lado vestibular (a), palatino (b) y oclusal (c) una vez que fueron eliminados los tercios distal y mesial. (d) y (e) representan especímenes de los grupos I y III respectivamente. En el grupo III se estableció una línea que dividió a la corona en dos para poder establecer el grosor.

Los datos fueron agrupados por variables comunes y tuvieron un tratamiento de Análisis de varianza en el programa Origin V. 5.0 (Microcalc, U.S.A). A los registros numéricos se les trató para determinar la posibilidad de que

existieran diferencias estadísticamente significativas entre las medias, para lo cual se aplicó un análisis de medias independientes (t).

Técnicas de caracterización

De los tres grupos se obtuvieron aleatoriamente a 7 dientes por grupo dando un total de 21, que se utilizaron, para realizar en ellos estudios de análisis de superficie y de composición, mediante las técnicas de Microscopía Electrónica de Barrido, Microanálisis y Espectroscopía Infrarroja. Posteriormente de igual manera se obtuvieron aleatoriamente sin importar el grupo al que pertenecían a otros 10 dientes para el análisis en μ -RAMAN y Microscopía Electrónica de Bajo Vacío (MEBBV).

Espectroscopía de efecto μ -raman.

Con la finalidad de determinar cambios en la distribución de los grupos funcionales en cada una de las superficies de las muestras, se utilizó la espectroscopía de efecto μ -Raman.

Para esta técnica se utilizaron 10 muestras, las cuales se determinaron aleatoriamente no importando el grupo al cual pertenecían y sin perder la clave que a cada espécimen le fue asignada, indicando el grupo al cual pertenecía. Posteriormente se establecieron tercios de acuerdo al grosor de la dentina, sobre la zona vestibular del diente.

El espectrómetro de micro-RAMAN que se utilizó fue el equipo instalado en el Laboratorio de Investigación de Materiales del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (Cinvestav) en Juriquilla, Querétaro. Este equipo consistió de un Microscopio OlympusTM con objetivos ópticos de 10X, 40X y 100X, una unidad generadora de láser rojo de

He-Ar, detector de emisión CCD y software adecuado para el manejo de gráficos bi y tridimensionales (Fig. 5).

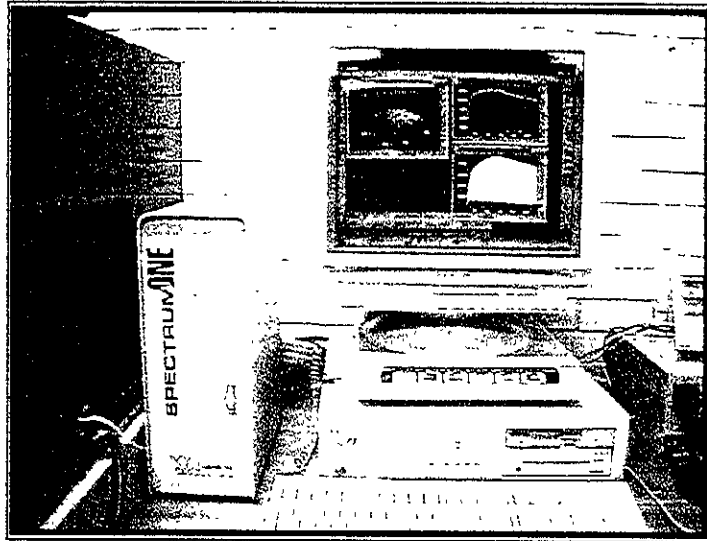


Fig. 5.- Espectrómetro de μ -Raman

Antes de llevar las muestras al microscopio, estas fueron secadas con papel absorbente, evitando el contacto con los dedos. Ya secos, los dientes se colocaron sobre un portaobjetos rectangular y se llevaron a la platina del microscopio (Fig. 6 a y b), donde se trabajo con los diferentes objetivos,utilizando el de 40X para ubicar la zona por analizar, y con el de 100X se enfocó el láser en un área de $1 \mu\text{m}^2$ (fig. 7 a, b, c y d).

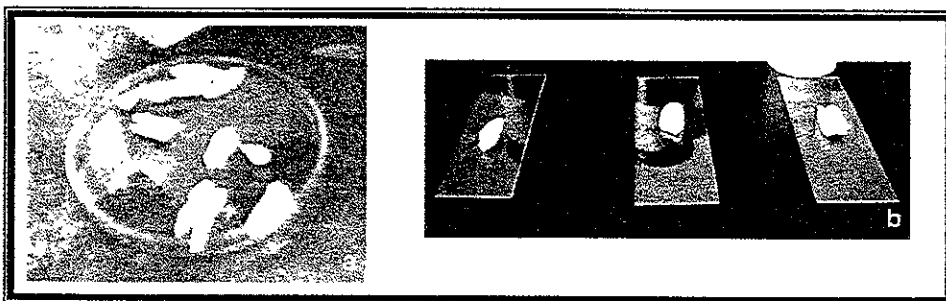


Fig. 6.- preparación de las muestras para su análisis en μ RAMAN.

a.- Muestras en agua desionizada.

b.- Muestras sobre portaobjetos para su análisis posterior

Ya localizada el área se activa el detector de la emisión y se guardó el archivo para analizar las intensidades características de la hidroxiapatita mediante el programa de interpretación y manejo de gráficos Origin™ V. 5.0. (Microcalc, USA)

Las bandas de absorción determinadas en función de la intensidad de las cuentas por segundo (cps) absorbidas en la longitud de onda (λ) expresadas en centímetros inversos, y que fueron identificadas en el material patrón fueron: λ_1 (962), λ_2 (1047), λ_3 (1073), λ_4 (567) y λ_5 (427). El rango de barrido fue de la longitud de onda (λ) 0 hasta 3500 en todas las muestras.

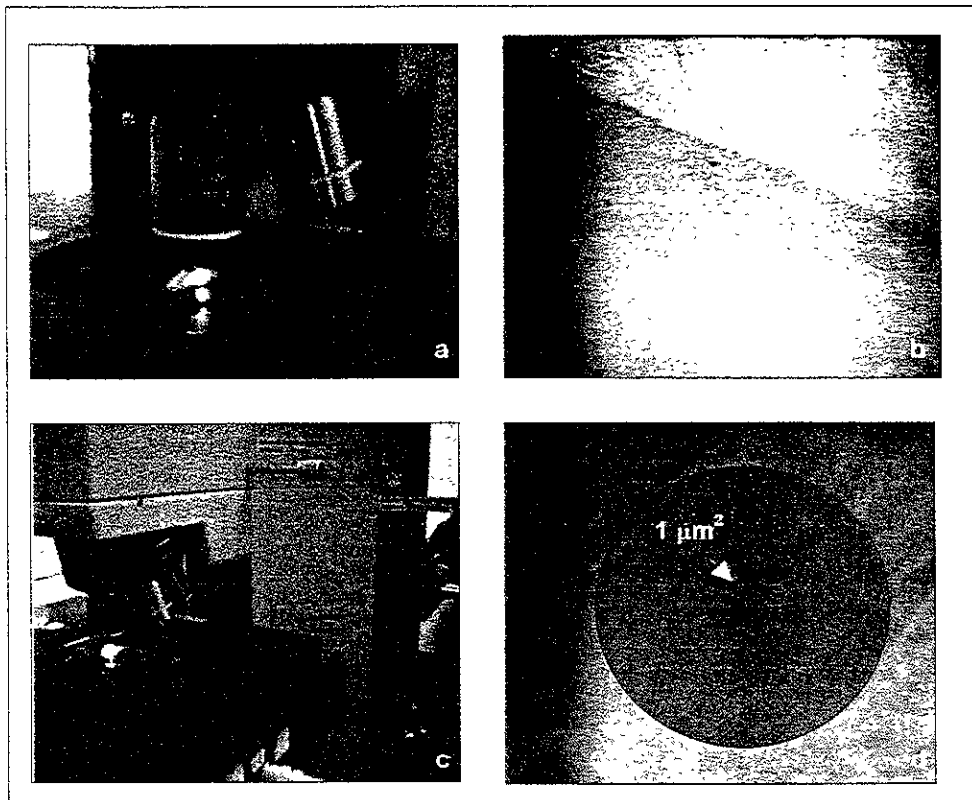


Fig.7.- Análisis de la muestra. a.- Ubicación de la zona a analizar; b.- Microfotografía a 40X de la área a analizar; c.- Enfoque a 100X, haciendo incidir el rayo láser; d.- Bombardeo láser en un área de $1\mu\text{m}^2$.

Los datos obtenidos de los espectros se vaciaron en cédulas diseñadas para tal fin. Una vez localizados los picos de mayor intensidad se procedió a determinar su ubicación en la banda λ , es decir en el eje X. En todos los casos se trato de que los puntos de las bandas de absorción utilizados como referencia para determinar la base, fueran lo más exacto posible. Los datos fueron agrupados por variables comunes y se graficaron en el programa Origin V. 5.0. A los registros numéricos se les trato para determinar la posibilidad de que existieran diferencias estadísticamente significativas entre las medias, para lo cual se aplicó un análisis de medias independientes (t).

Microscopía Electrónica de Barrido (Alto y bajo vacío) y Microanálisis

Como se mencionó anteriormente se obtuvieron 21 dientes, 7 de cada grupo, a los cuales les fue eliminado el esmalte con una pieza de alta velocidad (Star Dental, USA) y una fresa de cono invertido largo de diamante de grano grueso (Iso Diamant, USA), utilizando como irrigación agua desionizada, esto se realizo en el Departamento de Materiales Dentales de FOUNAM.

La preparación de muestras para el análisis de superficie y de composición (MEB, MRx y FTIR) se realizo de la siguiente manera; Con un disco perforado ultrafino (Brasseler, USA) montado en un micromotor (Denti-Lab, México) e irrigación constante con agua desionizada se elimino el tercio oclusal, tomando como referencia el techo pulpar, quedando las zonas vestibulares y palatinas o linguales para que unicamente fueran utilizadas las muestras de la zona vestibular para los estudios. Se tomaron medidas de estas zonas, estableciendo nuevamente el grosor y de esta manera poder determinar los tercios, es decir, un tercio externo, un medio y un pulpar. Posteriormente con el mismo disco, se realizaron otros cortes sobre las líneas divisorias entre tercio y tercio, hasta 1mm. por debajo de lo que seria la unión cemento-esmalte o línea cervical, obteniendo como resultado seis muestras (bloques) por cada diente, por tanto, a cada muestra se le asigno una clave, de acuerdo

al diente, cara y tercio (Fig. 8), al final se obtuvieron 126 muestras. De las cuales para la observación en el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) y Microanálisis de Rayos X (MRx), se seleccionaron a cinco dientes, por grupo, que eran los que reunían las mejores características de corte de las muestras (bloques), dando como resultado 90 muestras por grupo, donde únicamente 45 de estas muestras específicamente las vestibulares fueron las que se utilizaron para MEB y MRx. Los otros dos dientes restantes, se utilizaron para la técnica de FTIR.

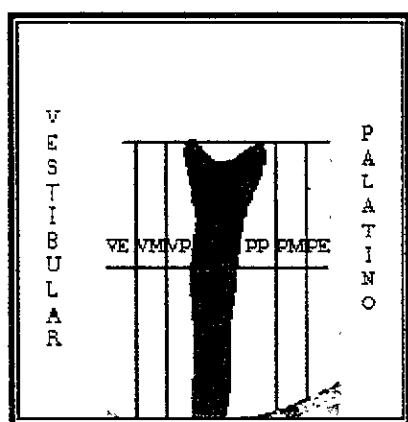


Fig. 8. – De acuerdo al grosor dentinario se establecieron tercios y se determino una clave a cada uno.

Las muestras que se observaron en el microscopio electrónico de barrido de alto vacío se prepararon mediante el recubrimiento superficial de una película de Au o C, esto se logro al colocar las muestras en una evaporadora (sputtering) que creaba una nube de átomos que se depositaron sobre la superficie en un ambiente de vacío. La utilidad de esta deposición metálica en la superficie de las muestras fue con la finalidad de hacer conductiva la muestra por observar. Para la observación de las muestras en el microscopio electrónico de bajo vacío no fue necesaria la preparación previa de las muestras, ya que no es necesario hacerlas conductivas, para lo cual se tomó un espécimen del grupo I, que estaba dentro de los 10 especímenes a los cuales ya se les había realizado el μ raman.

La forma de manejar las muestras se realizó de la siguiente manera; las caras observadas para el estudio fueron las frontales y más distantes a la pared pulpar para cada muestra o tercio. Inmediatamente después de ser seccionados, a la cara por observar se le dio un ataque ácido ligero con ácido fosfórico al 37% (3M Company, USA), durante 5 segundos con la finalidad de eliminar únicamente el lodo dentinario sin que esto pudiera alterar la estructura de la dentina, posteriormente se enjuagó la superficie con agua desionizada para eliminar el ácido, y se llevó a un baño en ultrasonido durante 10 min, en agua desionizada. Posterior a este procedimiento, el espécimen fue colocado en un portamuestras de aluminio y adherido a este por medio de una cinta adhesiva de carbón, se tuvo cuidado que la adhesión a la cinta fuera en la cara próxima a la pared pulpar, de ahí se llevó a la evaporadora (Sputtering, Denton Vacuum Desk II), donde primeramente la muestra se dejó al vacío durante siete minutos con el fin de llevarla a punto crítico y luego se le dio un baño de oro durante dos minutos para hacerla conductiva y poder observarla en el Microscopio Electrónico de Barrido Philips XL 30 equipado con microsonda (Edax). Las observaciones de las muestras se realizaron a magnificaciones de trabajo de 500X, 1000X, 2000X y 8000X y en algunos casos especiales a 16,000X y 32,000X. Durante la observación también se realizó el *microanálisis de rayos X*. Esta se llevó a cabo a una magnificación de 2000X en un área determinada, a una distancia de trabajo de 10mm. y una aceleración de electrones de 25 Kv en corridas de 120 segundos. En algunos casos especiales el microanálisis de Rx se realizó en forma puntual, como fue el caso de la pared tubular. Es importante mencionar que los tercios observados donde se realizó el MRx fueron del mismo diente es decir no se mezcló el tercio de un diente con el tercio de otro diente del mismo grupo.

Espectroscopía infrarroja (FTIR).

Para el estudio de infrarrojo también se utilizaron dos dientes, es decir, se analizaron seis muestras por grupo (vestibulares). Cada espécimen fue triturado en un mortero de ágata hasta ser pulverizado, los polvos obtenidos fueron almacenados en cápsulas polipropileno de 2 ml. Selladas hasta el momento de correrlas en el espectrofotómetro. La preparación de los polvos que serían analizados en el espectrofotómetro de infrarrojo de transformada de Fourier (FTIR) consistió en la mezcla cualitativa del 50% de polvo de dentina y 50% de KBr de grado infrarrojo (Kbr, IR-grade, Sigma, USA). Las muestras fueron observadas en un espectrofotómetro (Nicolet-FTIR) con la técnica de reflectancia difusa corriendo las muestras en igualdad de condiciones con respecto al funcionamiento del equipo y preparación de muestras. El rango de longitud de onda (λ) determinado para todas las muestras fue de 380 a 2000 cm^{-1} , considerando el grupo etéreo al que pertenecía cada uno de los especímenes y consignándolo en la tabla correspondiente.

RESULTADOS

Del presente trabajo se obtuvieron varios resultados en cuanto a:

Grosor

Ultraestructura.

Composición Química.

GROSOR

La variable "grosor" fue considerada como la dimensión determinada en los sentidos vestibulo-pulpar, ocluso-pulpar y palatino-pulpar de cada una de las muestras analizadas, estas se dividieron en tercios (externo, medio y pulpar) en relación al espacio pulpar. Esta dimensión fue determinada mediante la observación de las muestras en un microscopio óptico (Zeiss, Germany). Los datos obtenidos fueron organizados en tablas para obtener posteriormente los valores estadísticos que permitieran su tratamiento estadístico.

Para determinar el grosor de la dentina se tomaron en consideración tres medidas establecidas desde la unión amelo-dentinaria a la pared de la cámara pulpar, en tres niveles anatómicos (cervical, medio y oclusal), tanto en el aspecto vestibular como por palatino y oclusal; esta última medida consideraba la distancia del cuerno pulpar hacia la unión dentina-esmalte debajo de la cúspide. A las medidas obtenidas en cada grupo, primeramente se les determinó la media y desviación estándar (Tabla 1-3), y posteriormente se realizó el análisis de varianza para determinar su asociación estadística.

Tabla 1.- Grosor del tejido dentinario de la pared pulpar a la unión amelo-dentinaria de las caras vestibular, palatina y oclusal a diferentes tercios en dientes de personas jóvenes (Grupo I)

Especimen	CARA VESTIBULAR			CARA PALATINA			CARA OCLUSAL		
	TVC	TVM	TVO	TPC	TPM	TPO	TOV	TOM	TOP
1	1.70	2.00	2.00	2.00	2.50	3.00	4.50	3.50	3.50
2	2.00	2.00	2.00	2.10	2.00	2.50	4.50	4.50	4.00
3	2.00	2.00	2.10	2.00	2.40	2.50	4.00	4.00	4.20
4	2.79	3.25	2.82	2.57	4.04	4.16	4.10	3.72	4.30
5	2.55	3.04	2.84	2.55	3.57	3.56	4.77	2.93	3.92
6	3.25	3.02	2.90	3.13	3.15	3.50	3.00	4.11	4.94
7	3.04	2.00	3.00	2.70	2.50	3.45	3.50	3.97	4.96
8	2.65	3.50	2.20	2.70	2.00	2.70	4.48	2.68	3.72
9	2.50	2.00	2.80	2.00	2.70	2.80	3.50	3.00	4.00
10	2.50	2.35	2.70	2.20	2.50	3.17	4.00	2.80	3.50
11	2.46	3.05	3.00	2.50	3.00	3.15	3.80	2.50	3.50
12	2.55	2.55	2.64	2.60	3.44	3.47	4.30	3.60	4.00
13	2.67	2.40	2.00	2.30	2.60	3.00	3.70	2.90	4.30
14	2.46	2.40	2.10	2.71	2.73	3.20	3.60	3.40	4.20
15	2.38	2.45	2.74	2.00	2.30	3.00	4.40	3.70	3.60
X	2.50	2.5340	2.5227	2.4040	2.7620	3.1440	4.0100	3.4207	4.0427
D.E.	±0.3921	±0.5146	±0.3998	±0.3475	±0.5792	±0.4426	±0.4908	±0.5949	±0.4654

TVC= Tercio vestibulo-cervical.
 TPO= Tercio palatino-cervical.
 TOV= Tercio ocluso-vestibular.

TVM= Tercio vestibulo-medio.
 TPM= Tercio palatino-medio.
 TOM= Tercio ocluso-medio.

TVO= Tercio vestibulo-oclusal.
 TPO= Tercio palatino-oclusal.
 TOP= Tercio ocluso-palatino.

Tabla 2 .- Grosor del tejido dentinario de la pared pulpar a la unión amelo-dentinaria de las caras vestibular, palatina y oclusal a diferentes tercios en dientes de personas adultas (Grupo II)

Especimen	CARA VESTIBULAR			CARA PALATINA			CARA OCLUSAL		
	TVC	TVM	TVO	TPC	TPM	TPO	TOV	TOM	TOP
1	2.50	2.50	2.80	3.00	3.00	3.00	3.00	2.80	3.70
2	3.00	3.20	3.40	2.80	2.90	3.00	4.00	3.60	3.90
3	2.55	3.10	2.11	2.78	1.94	2.96	4.50	4.33	5.00
4	2.50	3.04	1.90	2.00	2.50	2.60	4.00	3.00	4.30
5	2.50	3.00	3.00	2.20	2.00	2.20	4.20	3.95	4.50
6	2.70	3.00	3.05	1.50	2.90	3.10	4.30	4.10	4.50
7	2.50	2.80	2.00	1.50	2.76	2.80	4.00	3.60	4.15
8	3.00	3.15	3.20	2.50	2.97	3.00	4.40	4.20	4.80
9	2.58	3.00	3.05	2.20	3.00	3.20	4.20	4.09	4.40
10	2.59	3.05	3.10	2.50	3.08	3.20	4.30	4.10	4.50
11	2.47	2.50	2.20	2.77	3.16	3.20	4.68	4.47	4.80
12	3.00	3.00	3.00	2.60	2.97	3.10	4.47	3.90	4.68
13	3.00	3.05	3.05	2.65	2.90	3.00	4.47	4.20	4.50
14	2.70	2.80	2.85	2.90	3.20	3.20	4.60	4.35	4.80
15	2.60	2.70	2.85	2.90	3.15	3.20	4.70	4.40	4.70
X	2.6793	2.9260	2.7707	2.4533	2.8287	2.9840	4.2547	3.9393	4.4815
D.E.	±0.2114	±0.2183	±0.4748	±0.4812	±0.3889	±0.2749	±0.4184	±0.4955	±0.3546

TVC= Tercio vestibulo-cervical.
 TPO= Tercio palatino-cervical.
 TOV= Tercio ocluso-vestibular.

TVM= Tercio vestibulo-medio.
 TPM= Tercio palatino-medio.
 TOM= Tercio ocluso-medio.

TVO= Tercio vestibulo-oclusal.
 TPO= Tercio palatino-oclusal.
 TOP= Tercio ocluso-palatino.

Tabla 3 .- Grosor del tejido dentinario de la pared pulpar a la unión amelo-dentinaria de las caras vestibular, palatina y oclusal a diferentes tercios en dientes de personas ancianas (Grupo III)

Espécimen	CARA VESTIBULAR			CARA PALATINA			CARA OCLUSAL		
	TVC	TVM	TVO	TPC	TPM	TPO	TOV	TOM	TOP
1	3.67	3.78	4.02	3.25	3.56	3.80	10.50	10.00	10.60
2	3.55	3.53	3.77	3.35	3.76	3.94	10.00	9.00	10.04
3	3.69	3.54	4.17	3.37	4.41	3.69	9.00	8.56	9.00
4	3.80	4.12	3.84	3.28	3.65	3.91	9.40	9.00	9.60
5	3.60	3.82	3.65	3.52	3.92	4.11	9.90	9.50	10.00
6	3.42	3.77	3.99	3.48	3.56	3.82	10.30	9.98	10.60
7	3.50	3.70	3.77	3.40	3.61	3.93	9.86	9.70	10.87
8	3.47	3.74	4.13	3.70	4.03	3.71	9.90	9.96	10.20
9	3.55	3.58	3.50	3.58	4.32	4.34	10.30	10.00	10.50
10	3.23	3.88	3.78	4.23	3.85	3.96	10.00	9.60	10.36
11	3.46	3.57	3.72	3.44	3.71	3.96	10.40	10.10	10.50
12	3.38	3.78	3.67	3.52	3.56	4.00	9.50	9.40	9.70
13	3.51	3.10	3.74	3.38	4.51	3.95	9.89	9.80	10.00
14	3.30	3.88	3.52	3.65	3.50	4.14	9.10	8.80	9.20
15	3.27	3.90	4.17	4.11	3.83	3.69	9.50	9.00	9.40
X	3.4933	3.7127	3.8293	3.5507	3.8520	3.9300	9.8367	9.4573	10.0380
D.E.	±0.1600	±0.2327	±0.2197	±0.2822	±0.3282	±0.1782	±0.4560	±0.4786	±0.5591

TVC= Tercio vestibulo-cervical.
 TPO= Tercio palatino-cervical.
 TOV= Tercio ocluso-vestibular.

TVM= Tercio vestibulo-medio.
 TPM= Tercio palatino-medio.
 TOM= Tercio ocluso-medio.

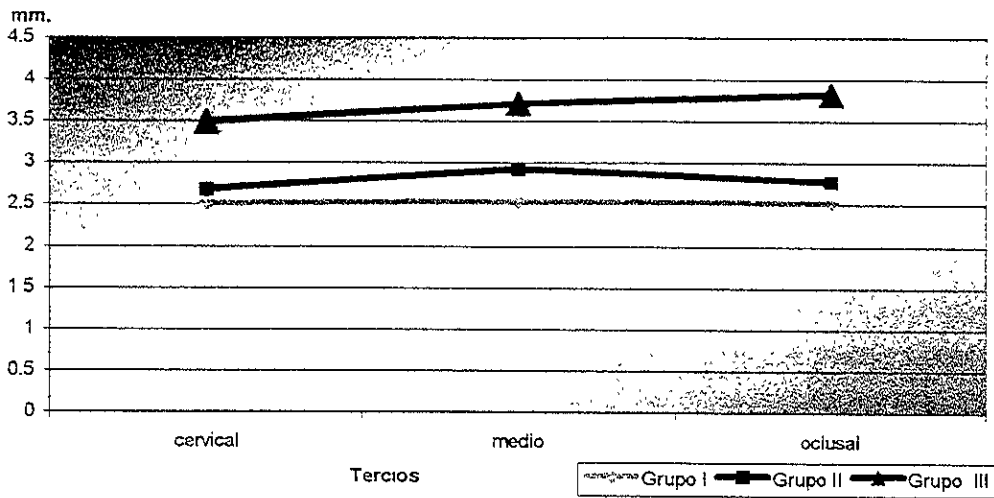
TVO= Tercio vestibulo-oclusal.
 TPO= Tercio palatino-oclusal.
 TOP= Tercio ocluso-palatino.

Al analizar los valores y determinar la media en cada grupo se encontró que el grosor de la dentina en la *cara vestibular*, aumenta del tercio cervical al oclusal, siendo este ultimo donde se determinó el máximo grosor, específicamente en el grupo el III (10.10 mm), sin embargo, en el grupo I y II el tercio cervical y oclusal el espesor es menor al tercio medio. Las diferencias se dan en décimas de milímetros. Debido a que los especímenes del grupo III no presentaban cámara pulpar por estar invadida de dentina secundaria o terciaria el grosor fue determinado mediante los parámetros descritos previamente en la metodología (pg 38).

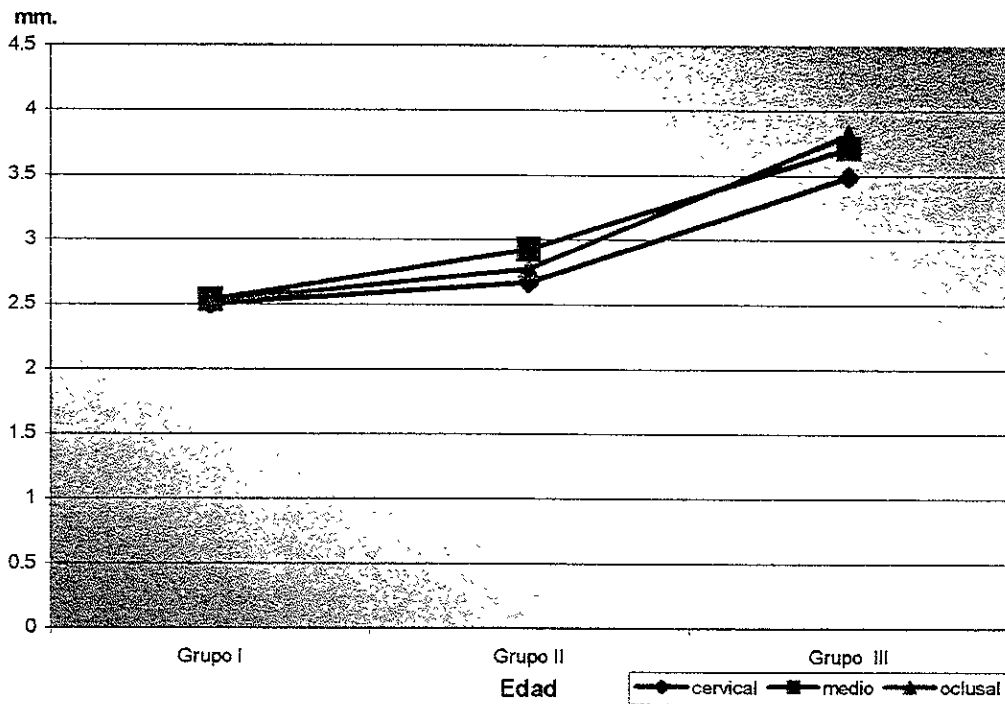
En el análisis realizado por tercios entre los grupos, el aumento que se observa en cada tercio del grupo I al III en esta cara (vestibular), es muy significativo. Invariablemente siempre se noto aumento en el grosor de la zona cervical a la oclusal (Tabla 4 y graficas 1-2)

TERCIOS	GRUPO I		GRUPO II		GRUPO III	
	X	D.E	X	D.E	X	D.E
Tercio Cervical	2.50 mm	± 0.3921	2.67 mm	± 0.2114	3.49 mm	± 0.1600
Tercio Medio	2.53 mm	± 0.5146	2.92 mm	± 0.2183	3.71 mm	± 0.2327
Tercio Oclusal	2.52 mm	± 0.3998	2.77 mm	± 0.4748	3.82 mm	± 0.2197

Tabla 4.- Grosor del tejido dentinario, de la pared pulpar a la unión amelo-dentinaria vestibular.



Grafica 1.- Distribución del grosor de la dentina de acuerdo a la ubicación analizada, el grupo 1 corresponde a la edad de 18 a 29 años, el grupo II de 30 a 49 años y el grupo III de más de 50 años.

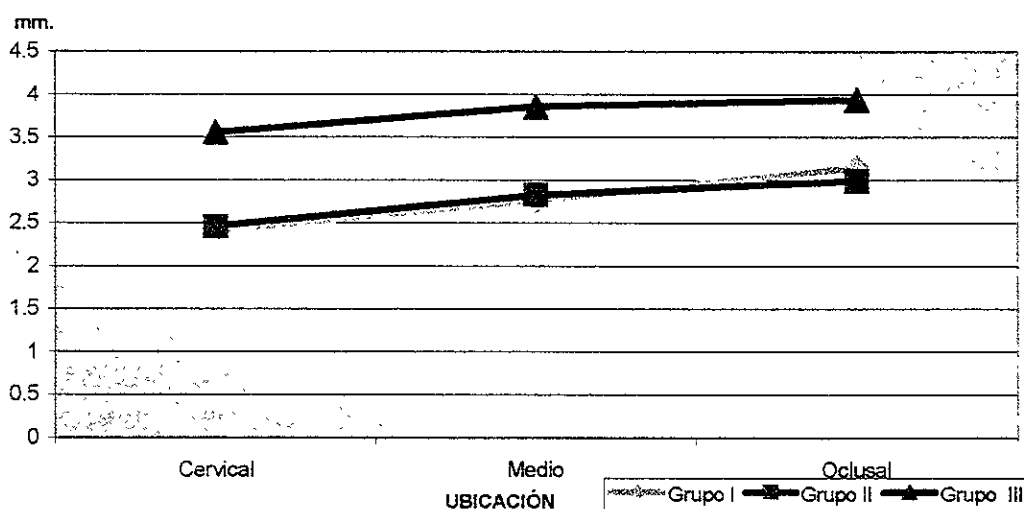


Gráfica 2.- Distribución del grosor de la dentina entre los grupos de edad.

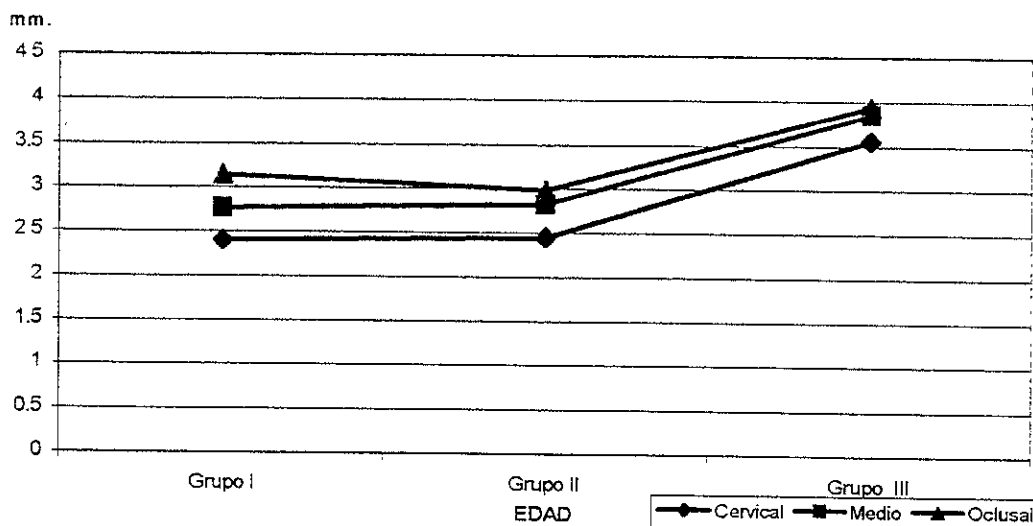
Las medidas determinadas en el aspecto *palatino* fueron más homogéneas que las encontradas por vestibular, es decir que del tercio cervical al tercio oclusal se observó un incremento de grosor en todos los grupos. Este incremento fue de décimas de milímetro. Al comparar las medias de cada grupo por tercios también aumenta el grosor del grupo I al grupo III, sin embargo, en el tercio oclusal no se dio este aumento cuando se le asoció la variable edad, ya que en los grupos I y III el grosor es mayor que en el grupo II (tabla 5.y graficas 3 y 4)

TERCIOS	GRUPO I		GRUPO II		GRUPO III	
	X	D.E	X	D.E	X	D.E
Tercio Cervical	2.40 mm	± 0.3475	2.45 mm	± 0.4812	3.55 mm	± 0.2822
Tercio Medio	2.76 mm	± 0.5792	2.82 mm	± 0.3889	3.85 mm	± 0.3282
Tercio Oclusal	3.14 mm	± 0.4426	2.98 mm	± 0.2749	3.93	± 0.1782

Tabla 5.- Grosor del tejido dentinario, de la pared pulpar a la unión amelo-dentinaria palatina.



Grafica 3.- En todos los grupos el grosor aumenta de cervical a oclusal siendo muy similares los valores del grupo I y II

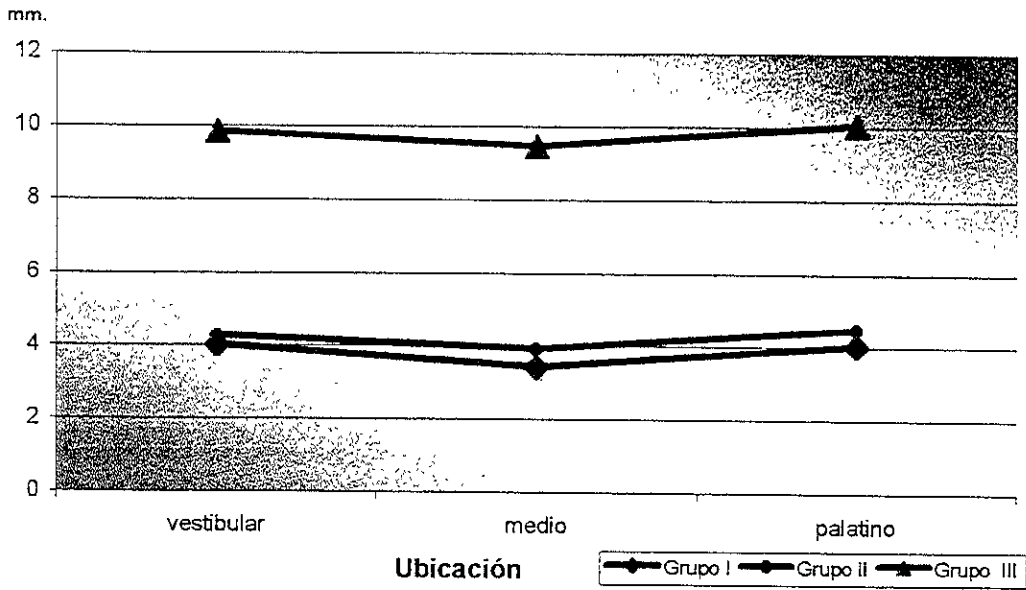


Grafica 4.- Se puede observar que el grosor de la dentina aumenta con la edad en cada uno de los tercios por la cara palatina siendo muy similares los promedios de los tercios medio y oclusal en los grupos II y III.

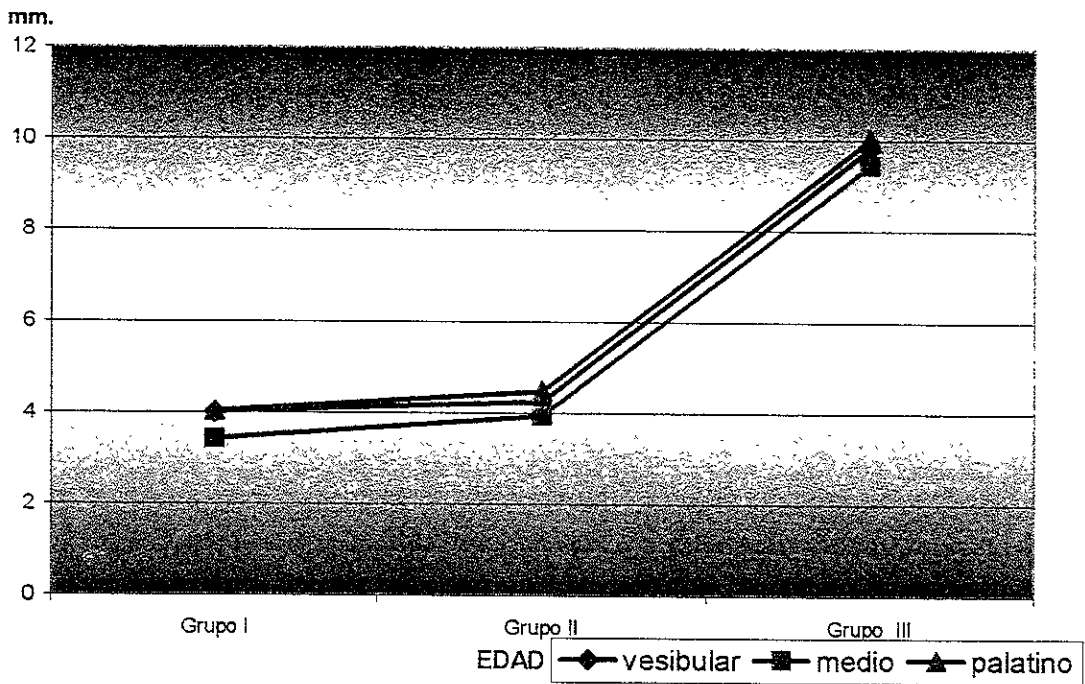
En la *cara oclusal* también se determinaron tres medidas, vestibular, media y palatina, encontrando que los resultados mostraron que la parte más delgada fue el tercio medio, esto puede explicarse por la coincidencia con el surco central de desarrollo en la superficie oclusal. La dimensión de la dentina en este aspecto fue de 3.42 mm., 3.93mm y 9.45 mm. para los grupos I, II y III respectivamente. Por otra parte, las medidas por vestibular y palatino aumentan notablemente resultando superior el tercio palatino en los tres grupos, (tabla 6; Grafica 5 y 6).

TERCIOS	GRUPO I		GRUPO II		GRUPO III	
	X	D.E	X	D.E	X	D.E
Tercio Vestibular	4.01 mm	± 0.4908	4.25 mm	± 0.4184	9.83mm	± 0.4560
Tercio Medio	3.42 mm	± 0.5949	3.93 mm	± 0.4955	9.45 mm	± 0.4786
Tercio Palatino	4.04 mm	± 0.4654	4.48 mm	± 0.3546	10.03 mm	± 0.5591

Tabla 6.- Grosor del tejido dentinario, de la pared pulpar a la unión amelo-dentinaria oclusal.



Grafica 5.-, Es de notarse que en los tres grupos el tercio medio tiende a disminuir el grosor.



Grafica 6.- Por esta cara se puede notar la discrepancia muy notoria entre el grupo III y los otros dos grupos en todos sus tercios.

A los valores obtenidos se les dio un tratamiento estadístico, para lo cual fueron agrupados por variables comunes para determinar la posibilidad de que existieran diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los grupos, para determinar esto se aplicó un análisis de medias independientes (t) en el programa Origin V. 5.0 (Microcalc, USA) donde se estableció el tratamiento entre, 1) Superficies (Vestibular-Palatina) por tercios del mismo grupo; 2) Tercios por grupo en una misma superficie; y 3) Grupos por tercios en una misma superficie. Los resultados obtenidos fueron:

1) *Superficie*. En el grupo I el tercio cervical y medio, al comparar la cara vestibular con la palatina no se encontró significancia estadística en cuanto al grosor dentinario, sin embargo, por el tercio oclusal el resultado obtenido fue estadísticamente significativo a una $F=16.27795$ ($p < 0.05$). En el grupo II y III los valores, estadísticamente no fueron significativos en ninguno de sus tercios, (tabla 7).

GRUPO I				
Tercio	Superficie		F (p< 0.05)	
	Vestibular	Palatino		
Cervical	2.50	2.40	0.50369	NS
Medio	2.53	2.76	1.29914	NS
Oclusal	2.52	3.14	16.27795	ES
GRUPO II				
Tercio	Superficie		F (p< 0.05)	
	Vestibular	Palatino		
Cervical	2.67	2.45	2.77398	NS
Medio	2.92	2.82	0.71458	NS
Oclusal	2.77	2.98	2.26829	NS
GRUPO III				
Tercio	Superficie		F (p< 0.05)	
	Vestibular	Palatino		
Cervical	3.49	3.55	0.4685	NS
Medio	3.71	3.85	1.79905	NS
Oclusal	3.82	3.93	1.89891	NS

N.S. No significativo estadísticamente
E.S. Estadísticamente significativo

Tabla 7.- Los valores demostraron que el grosor de los tercios entre las caras axiales no son estadísticamente significativas en su gran mayoría, sin embargo, en el tercio oclusal del grupo I el resultado fue estadísticamente significativo.

2) *Tercios*. Al analizar las asociaciones de los tercios del aspecto vestibular en los diferentes grupos no se estableció significancia estadística; pero al analizar el tercio cervical contra el medio del grupo III si se determinó diferencia estadísticamente significativa, posiblemente por las características anatómicas por un lado y por el otro el de formación mayor de dentina secundaria en los grupos II y III, (tabla 8a). Entre los tercios cervical y oclusal únicamente se estableció una diferencia estadística en el grupo III (+ de 50 años), en los otros dos grupos más jóvenes no hubo significancia estadística (tabla 8b). Entre el medio y el oclusal no hubo diferencia en ningún grupo, (tabla 8c).

Superficie Vestibular				
a				
Grupo	Tercio		F (p< 0.05)	
	Cervical	Medio		
18 a 29 años	2.50	2.53	0.04143	NS
30 a 49 años	2.67	2.92	9.88611	ES
+ 50 años	3.49	3.71	9.04571	ES
b				
Grupo	Tercio		F (p< 0.05)	
	Cervical	Oclusal		
18 a 29 años	2.50	2.52	0.02458	NS
30 a 49 años	2.67	2.77	0.46329	NS
+ 50 años	3.49	3.82	22.91913	ES
c				
Grupo	Tercio		F (p< 0.05)	
	Medio	Oclusal		
18 a 29 años	2.53	2.52	0.00454	NS
30 a 49 años	2.92	2.77	1.32551	NS
+ 50 años	3.71	3.82	1.993	NS
N.S. No significativo estadísticamente				
E.S. Estadísticamente significativo				

Tabla 8.- La gran mayoría de los datos estadísticos arrojados por el tratamiento estadístico realizado por esta superficie, establece que no hay significancia estadística a excepción de tres datos a un nivel de confianza del 95%.

En la superficie palatina, sobre todo en los tercios cervical-medio y cervical-oclusal, en todos los grupos se encontraron diferencias estadísticamente significativas (tabla 9a-b), pero al confrontar los tercios medio-oclusal, el análisis estadístico no encontró diferencias significativas en ninguno de los grupos (tabla 9c), esto denota que en esta cara el grosor establecido entre la pared pulpar y la unión amelo-dentinaria es igual del tercio medio al oclusal determinando las características anatómicas de esta superficie.

Superficie Palatina				
a				
Grupo	Tercio		F (p< 0.05)	
	Cervical	Medio		
18 a 29 años	2.404	2.762	4.2146	ES
30 a 49 años	2.45	2.82	5.5211	ES
+ 50 años	3.55	3.85	7.27042	ES
b				
Grupo	Tercio		F (p< 0.05)	
	Cervical	Oclusal		
18 a 29 años	2.40	3.14	25.9402	ES
30 a 49 años	2.45	2.98	13.75645	ES
+ 50 años	3.55	3.93	19.37412	ES
c				
Grupo	Tercio		F (p< 0.05)	
	Medio	Oclusal		
18 a 29 años	2.76	3.14	4.11949	NS
30 a 49 años	2.82	2.98	1.59593	NS
+ 50 años	3.85	3.93	0.65431	NS
N.S. No significativo estadísticamente E.S. Estadísticamente significativo				

Tabla 9.- Al confrontar a los tercios de cada grupo por esta cara se puede notar que básicamente donde existe significancia estadística es en el tercio cervical con respecto a los otros dos tercios es decir contra el tercio medio y oclusal, sin embargo no hay entre estos dos últimos tercios no hay ninguna diferencia en cuanto al grosor.

Al analizar la superficie oclusal, se encontró que el grosor dentinario cuspídeo (vestibular y palatino), no tiene relevancia estadística (tabla 10a), pero al analizar el tercio medio y vestibular, se empezó a notar una diferencia estadística, específicamente en el grupo III. Esta asociación fue determinada al parecer por la presencia o aumento de la dentina secundaria (tabla 10b). Un

aspecto importante se encontró al comparar la zona media contra la palatina, en todos los grupos se determinó diferencia estadística, al parecer por la mayor presencia como en el caso anterior de dentina secundaria por el lado palatino, ya que esta correspondía a la cúspide estampadora, ya que los dientes ocupados para este estudio en su mayoría fueron superiores (tabla 10c).

Superficie Oclusal				
a				
Grupo	Tercio		F (p< 0.05)	
	Vestibular	Palatino		
18 a 29 años	4.01	4.04	0.03499	NS
30 a 49 años	4.25	4.48	2.57702	NS
+ 50 años	9.83	10.03	1.168	NS
b				
Grupo	Tercio		F (p< 0.05)	
	Vestibular	Medio		
18 a 29 años	4.01	4.04	0.03499	NS
30 a 49 años	4.25	3.93	3.54579	NS
+ 50 años	9.83	9.45	4.93929	ES
c				
Grupo	Tercio		F (p< 0.05)	
	Medio	Palatino		
18 a 29 años	4.01	3.42	8.75992	ES
30 a 49 años	3.93	4.48	11.89793	ES
+ 50 años	9.45	10.03	9.33786	ES
N.S. No significativo estadísticamente E.S. Estadísticamente significativo				

Tabla 10.- En el tratamiento estadístico se puede notar que el grosor dentinario que corresponde a lo que serían las cúspides no hay relevancia estadística sin embargo cuando se confronta a cada uno de los tercios por separado con el tercio medio se puede determinar que la cúspide palatina o tercio palatino en correspondencia con el medio resulta ser de mayor grosor que el tercio vestibular contra el medio.

3) *Entre grupos:* En el tratamiento estadístico que se realizó a los grupos por tercios y por superficie, al final se logró establecer que al analizar un grupo contra otro en el aspecto vestibular hubo significancia estadística en sus diferentes tercios (tabla 11b y 11c), a excepción de el tratamiento que se

realizo entre el grupo I y II en los tercios cervical y oclusal donde estadísticamente no fueron significativos los resultados, (tabla 11a).

Superficie Vestibular				
a				
Tercios	Grupos		F (p< 0.05)	
	I	II		
Cervical	2.50	2.60	2.4314	NS
Medio	2.54	2.92	7.37736	ES
Oclusal	2.52	2.77	2.39484	NS
b				
Tercios	Grupos		F (p< 0.05)	
	I	III		
Cervical	2.50	3.49	82.52941	ES
Medio	2.53	3.71	65.33347	ES
Oclusal	2.52	3.82	123.0696	ES
c				
Tercios	Grupos		F (p< 0.05)	
	II	III		
Cervical	2.67	3.49	141.40385	ES
Medio	2.92	3.71	91.18192	ES
Oclusal	2.77	3.82	61.42697	ES
N.S. No significativo estadísticamente E.S. Estadísticamente significativo				

Tabla 11.- Por grupos, la superficie vestibular, únicamente los datos no significativos fueron establecidos entre los grupos I y II en los que empieza a denotarse un aumento en el grosor de la dentina con la edad por esta superficie.

En la superficie palatina, como en la superficie anterior, en la comparación de todos los tercios se establecieron diferencias significativas, excepto al comparar el grupo I contra el II en todos sus tercios (tabla 12).

Por lo tanto se puede decir que el incremento mayor en el grosor de la dentina se da principalmente de los 50 años en adelante, en estas caras, es decir por la superficie vestibular y palatina.

Cara Palatina				
a				
Tercios	Grupos		F (p< 0.05)	
	I	II		
Cervical	2.40	2.45	0.10364	NS
Medio	2.76	2.82	0.13699	NS
Oclusal	3.14	2.98	1.41447	NS
b				
Tercios	Grupos		F (p< 0.05)	
	I	III		
Cervical	2.40	3.55	98.43568	ES
Medio	2.76	3.85	40.21823	ES
Oclusal	3.14	3.93	40.69853	ES
c				
Tercios	Grupos		F (p< 0.05)	
	II	III		
Cervical	2.45	3.55	58.05049	ES
Medio	2.82	3.85	60.6658	ES
Oclusal	2.98	3.93	125.07478	ES
N.S. No significativo estadísticamente E.S. Estadísticamente significativo				

Tabla 12.- Por esta esta cara se puede ver que entre el grupo I y II no hay diferencia estadística en todos los tercios, entendiéndose que la aposición mayor de dentina se da de los 50 años en adelante.

Por la superficie oclusal es notorio que el grosor dentinario aumenta significativamente, que es la activa en la masticación, a diferencia de las otras dos de acuerdo a la edad, resultando casi todos los datos arrojados después del tratamiento estadístico, al confrontar un grupo contra otro, estadísticamente significativo (tabla 13).

Cara Oclusal				
a				
Tercios	Grupos		F (p< 0.05)	
	I	II		
Vestibular	4.01	4.25	2.15878	NS
Medio	3.42	3.93	6.7318	ES
Palatino	4.04	4.48	8.45716	ES
b				
Tercios	Grupos		F (p< 0.05)	
	I	III		
Vestibular	4.01	9.83	1134.66992	ES
Medio	3.42	9.45	937.7613	ES
Palatino	4.04	10.03	1018.77564	ES
c				
Tercios	Grupos		F (p< 0.05)	
	II	III		
Vestibular	4.25	9.83	1220.10925	ES
Medio	3.93	9.45	962.39628	ES
Palatino	4.48	10.03	1056.3904	ES
N.S. No significativo estadísticamente				
E.S. Estadísticamente significativo				

Tabla 13.- La edad influye directamente en el grosor de la dentina, independientemente de que esta cara es la más activa.

Estructura

En el microscopio electrónico se observó que la dentina es un tejido homogéneo donde la permeabilidad está dependiendo de la densidad tubular, la cual varía de acuerdo a la profundidad a la que se está observando.

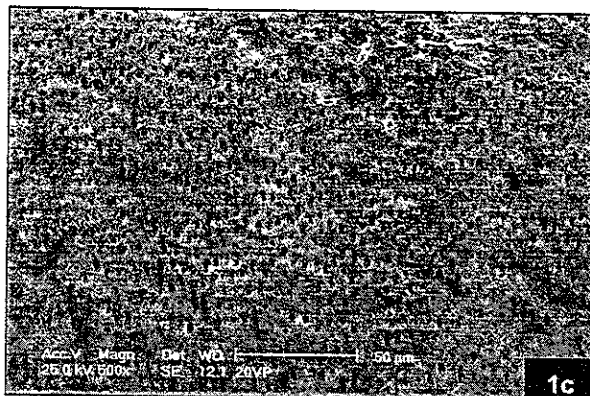
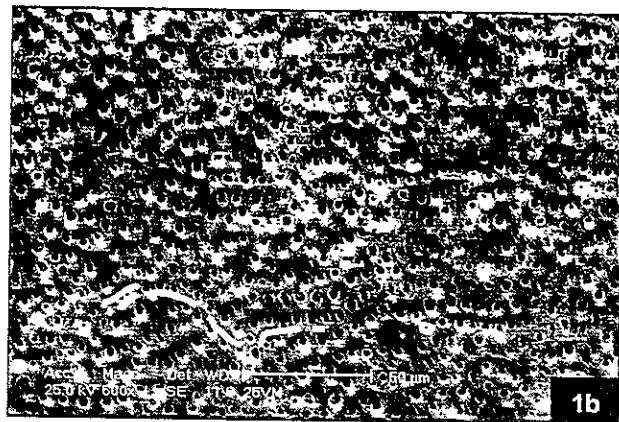
En forma general, la dentina intertubular observada en las muestras al MEB ocupa la mayor parte del tejido dentinario, esta da la apariencia de ser un tejido homogéneo, pero a la vez irregular la cual se ve alterada por pequeños orificios correspondientes a los túbulos dentinarios, la superficie dentinaria a diferente profundidad aparentemente es muy similar pero existen diferencias importantes sobre todo cuando se comparan a diferentes edades, estas diferencias se detallarán a continuación, al analizar la superficie y textura de la dentina humana a tres diferentes profundidades en tres grupos que englobarían tres edades representativas:

En el grupo I tercio externo, la superficie es irregular tal vez por el corte durante la eliminación del esmalte de ahí que se alcanzan a observar surcos de poca profundidad, pero independientemente de esto, la superficie es muy porosa causada por los túbulos dentinarios, la distancia entre uno y otro es constante es decir es muy homogénea, los poros siguen una alineación muy homogénea que van de lo recto a lo perpendicular, la textura de la dentina intertubular se observa muy compacta, (fotomicrografía 1a).

La superficie en el tercio medio es muy similar, al tercio anterior, sin embargo, la superficie se observa más porosa, los poros más grandes y no siguen la alineación que se dio en el tercio externo, la alineación es muy heterogénea, la textura intertubular da la apariencia de estar menos densa que el tercio anterior, (fotomicrografía 1b).

En el tercio pulpar se puede observar una textura que da la apariencia de ser menos compacta que los tercios anteriores en su superficie la porosidad es

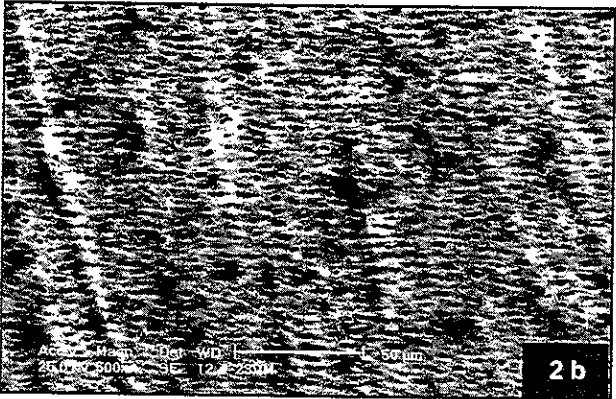
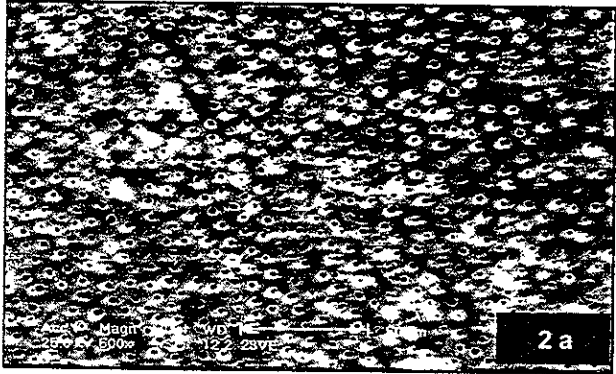
mayor, independientemente de que el diámetro del lumen de los poros es más abierto, (fotomicrografía 1c).



Fotomicrografía 1.- Superficies a diferente profundidad.

- a.- Tercio externo, la dentina intertubular se logra apreciar compacta, los túbulos siguen un alineamiento más homogéneo.
- b.- Tercio medio, similar a la anterior, pero aquí la alineación de los túbulos, se empieza a perder.
- c.- Tercio pulpar, la dentina intertubular se observa menos compacta y en menor porcentaje, sin embargo el lumen de los túbulos es mayor y su alineación es más heterogénea.

Grupo II, el tercio externo, de igual manera que el grupo anterior la dentina intertubular tiene una apariencia mucho más compacta y en mayor cantidad, en cierta manera se observa más vítrea, característica de la presencia de dentina secundaria, el lumen de los túbulos se observan más distantes uno de otro y diametralmente más pequeños, la pared tubular es mucho más compacta, (fotomicrografía 2a); el tercio medio la dentina intertubular se nota menos compacta, esa apariencia vítrea desaparece en algunas zonas y en otras se puede observar, en cuanto a cantidad es menor que en el tercio externo y mayor la cantidad de túbulos, ya no se observa la pared tubular tan densa como el anterior tercio, (fotomicrografía 2b); el tercio pulpar se observa mucho más poroso que los otros dos tercios, se observa mayor cantidad de túbulos dentinarios de diámetro más amplio, la dentina intertubular da la apariencia de ser más frágil. Sin embargo a esta magnificación no se aprecian diferencias importantes entre el grupo I y el II.





Fotomicrografía 2.- Fotomicrografías a 500 X de la dentina en cortes frontales en personas de 30 a 49 años.

- a).- Tercio externo donde se puede apreciar la mayor cantidad de dentina intertubular.
- b).- En el tercio medio se logra observar la mayor cantidad de túbulos dentinarios.
- c).- Es característica del tercio pulpar la menor cantidad de dentina intertubular y la mayor cantidad de túbulos dentinarios, así como el observar el lumen de los túbulos más abiertos, a la vez la dentina se observa menos densa que en los otros tercios signo característico de la poca presencia de dentina secundaria.

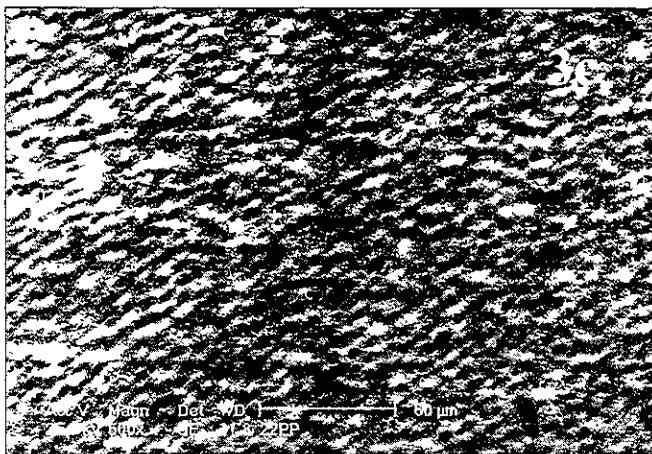
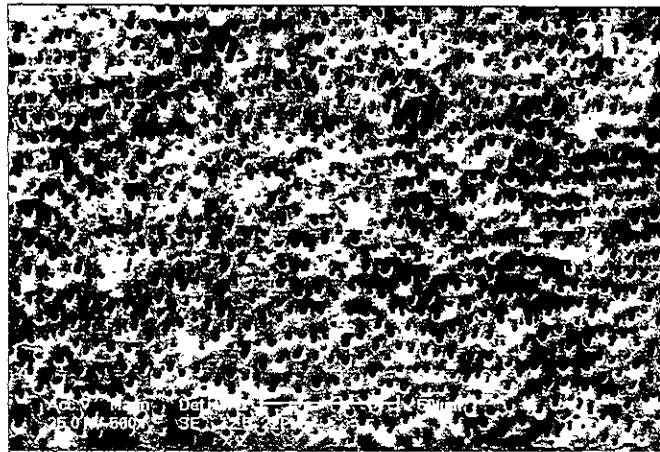
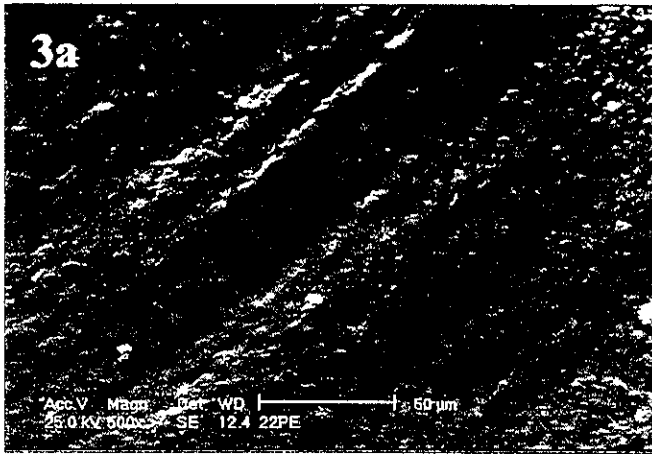
En el *grupo III* que es el correspondiente a dientes de personas de 50 años en adelante se puede observar, que el tercio externo es muy compacto y denso notándose una apariencia completamente vítrea o petrosa, no hay presencia de túbulos estos obviamente se encuentran obliterados por la dentina secundaria (fotomicrografía 3a).

Sin embargo, en el tercio medio los túbulos dentinarios se encuentran completamente abiertos, que si se observa a este tercio (del grupo III) contra el mismo tercio pero del grupo II (véase fotomicrografía 2b) se podrá apreciar en estas fotomicrografías, que no hay algún rasgo característico que diferencie a un grupo de otro, sin embargo, lo que si es de resaltar es que el tejido tiene una apariencia más petrosa y densa a diferencia del grupo II, por otro lado también el tamaño del lumen de los túbulos varía mucho, (fotomicrografía 3b).

El tercio pulpar de este grupo, casi da la apariencia del tercio externo, pero a diferencia de este el pulpar presenta todavía algunos túbulos abiertos, aunque no del tamaño en cuanto al lumen en el tercio pulpar de los grupos I y

II. La apariencia de la dentina intertubular que se confunde con la secundaria que oblitera los conductillos, tiene apariencia petrosa, (fotomicrografía 3c).

Así pues, lo característico del tejido dentinario en este grupo es el aislamiento que se dio en el tercio medio al permanecer los túbulos abiertos, quedando entre dos zonas petrosas densas no porosas (tercios externo y pulpar), si se recuerda en el apartado de grosor, se menciona que en este grupo el paquete vasculo-nervioso se encontraba hasta por debajo del tercio cervical, estando invadida la cámara pulpar coronal por dentina secundaria, terciaria o de reparación, la cual se podrá observar más adelante en las fotomicrografías correspondientes a este tipo de dentina.



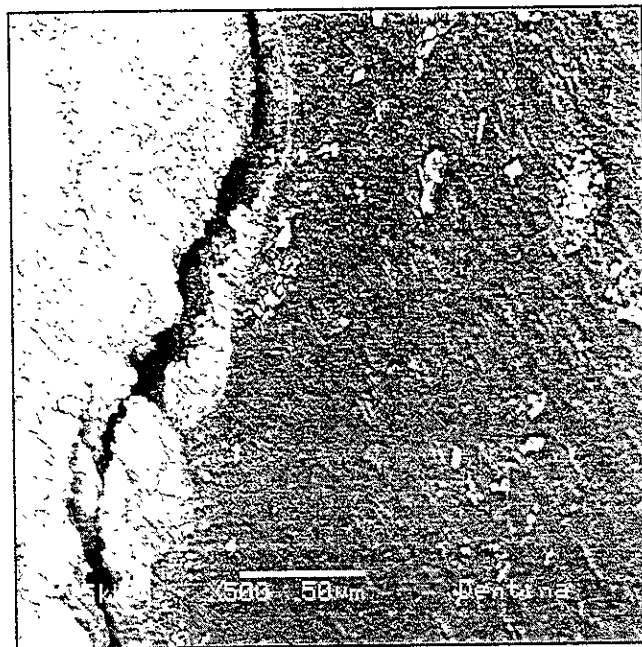
Fotomicrografía 3. – En un mismo espécimen o diente del grupo III se observó una gran discrepancia entre los tercios en cuanto a la densidad como se puede observar en las fotomicrografías.

3a. – En el tercio externo más bien se logra apreciar un aspecto vítreo sin presencia de túbulos dentinarios, básicamente su superficie se aprecia densa o compacta.

3b. – El tercio medio es similar al observado en el mismo tercio en los grupos I y II.

3c. – Mientras que el tercio pulpar presenta ese aspecto vítreo tan característico con poca porosidad.

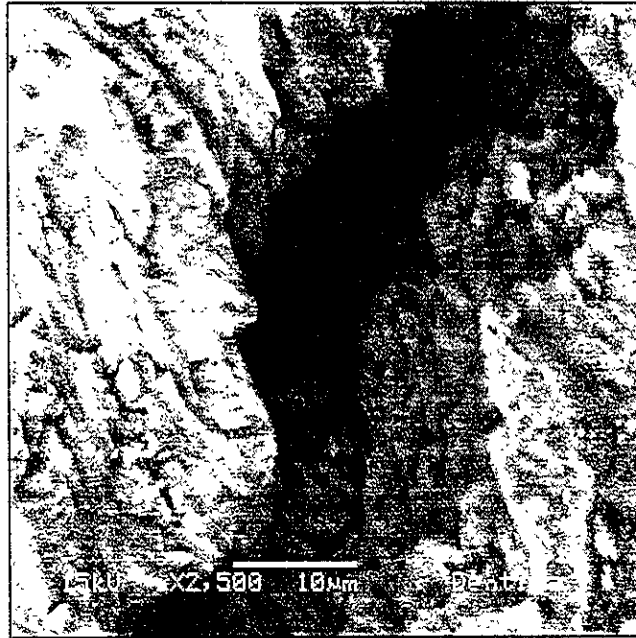
Se analizó la estructura dentinaria por tercios entre cada grupo iniciando con el *tercio externo*. En un corte sagital al observar en el microscopio electrónico de barrido de bajo vacío (MEBBV), un espécimen del grupo I, donde no fue retirado el esmalte se puede observar la unión amelo-dentinaria la cual da la apariencia de no estar en íntimo contacto una parte con otra, es decir, el esmalte con la dentina, existe una interfase (espacio), entre un tejido y otro, se puede notar la diferencia entre un tejido y otro mientras que el esmalte da la apariencia de ser más rígido, denso y petroso, da la apariencia de ser cristalino, la dentina se observa menos densa y compacta y más opaca que el esmalte en ella se observan unos ductos que corren a largo de ella, es decir, de la unión amelo-dentinaria hacia el centro del diente o zona pulpar, (fotomicrografía 4).



Fotomicrografía 4.- Tomada en el MEB Jeol 5900 LV a una magnificación de 500X donde el esmalte se observa más vítreo que la dentina hay un espacio que separa a un tejido de otro; en la dentina se pueden ver conductillos que emergen hacia la superficie presumiendo que su trayectoria es de la unión amelo-dentinaria a la pulpa, esta trayectoria por lo que se puede apreciar es zigzagueante.

Al tener un acercamiento mayor se puede ver que este espacio entre los tejidos es de aproximadamente de $10\mu\text{m}$., logrando apreciar a través de este

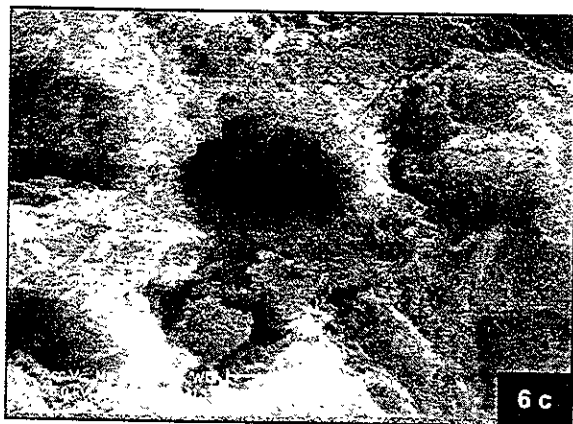
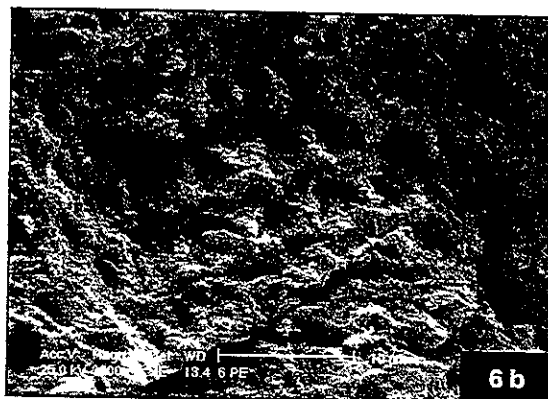
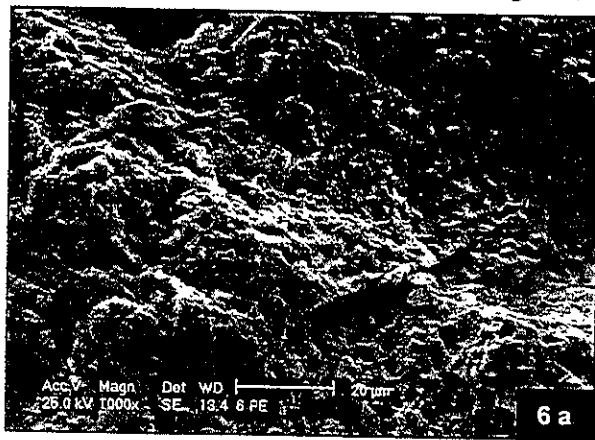
espacio la superficie coronal de la dentina la cual se muestra muy irregular con elevaciones y depresiones dando la apariencia de ser una caverna donde se observan estalactitas y estalagmitas,(fotomicrografia 5).



Fotomicrografia 5.- Tomada en el MEB Jeol 5900 LV a una magnificación de 2,500X , pudiéndose apreciar los cnstales de hidroxiapatita de ambos lados, independientemente de hacer notar que el espacio existente es de aproximadamente de 10µm. o más.

En otra muestra del grupo I donde se presento desgajamiento del tejido adamantino del dentinario, con la interrogante de las fotomicrografias anteriores (4 y 5), se observo la superficie dentinaria que correspondería a la unión amelo-dentinaria pero ahora en una vista frontal, se noto una superficie muy irregular con elevaciones y depresiones, (fotomicrografia 6a), a otra magnificación se logran observar más nítidamente las huellas de lo que fueron los túbulos, claro esta, estos ya se encontraban obliterados no logrando esto hasta su superficie externa, donde se inicio la formación de dentina (fotomicrografia 6b), todavía a una magnificación mayor, se logra observar mejor a la dentina intertubular, sin distorsiones por la magnificación a la cual se estaba trabajando, esta se ve amorfa donde se alcanzan a distinguir pequeños cristales que emergen a la superficie, tratándose

posiblemente de los cristales de hidroxapatita, también se observan pequeñas fibras, lo que parece ser colágena, (fotomicrografía 6c).



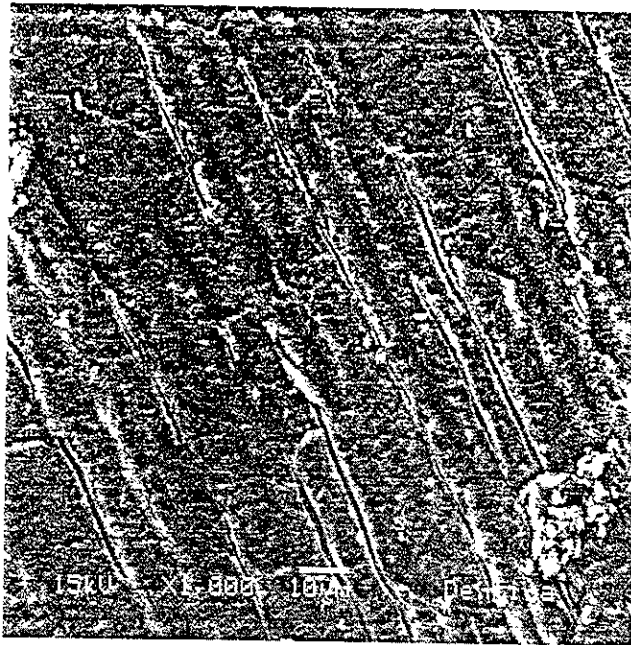
Fotomicrografía 6.- Obtenidas en MEB Philips XL 30, a diferentes magnificaciones de la superficie dentinaria que forma parte de la unión amelo-dentinaria.

a).- Fotomicrografía a 1,000X, notándose la irregularidad de su superficie.

b).- Fotomicrografía a 3,000 X, en esta los túbulos dentinarios se encuentran obliterados, viéndose únicamente sus huellas y en algunas zonas se puede apreciar la total desaparición de estos.

c).- Fotomicrografía a 10,000X, en esta se puede apreciar como emergen algunos cristales de hidroxapatita, y algunas fibras, en la dentina intertubular.

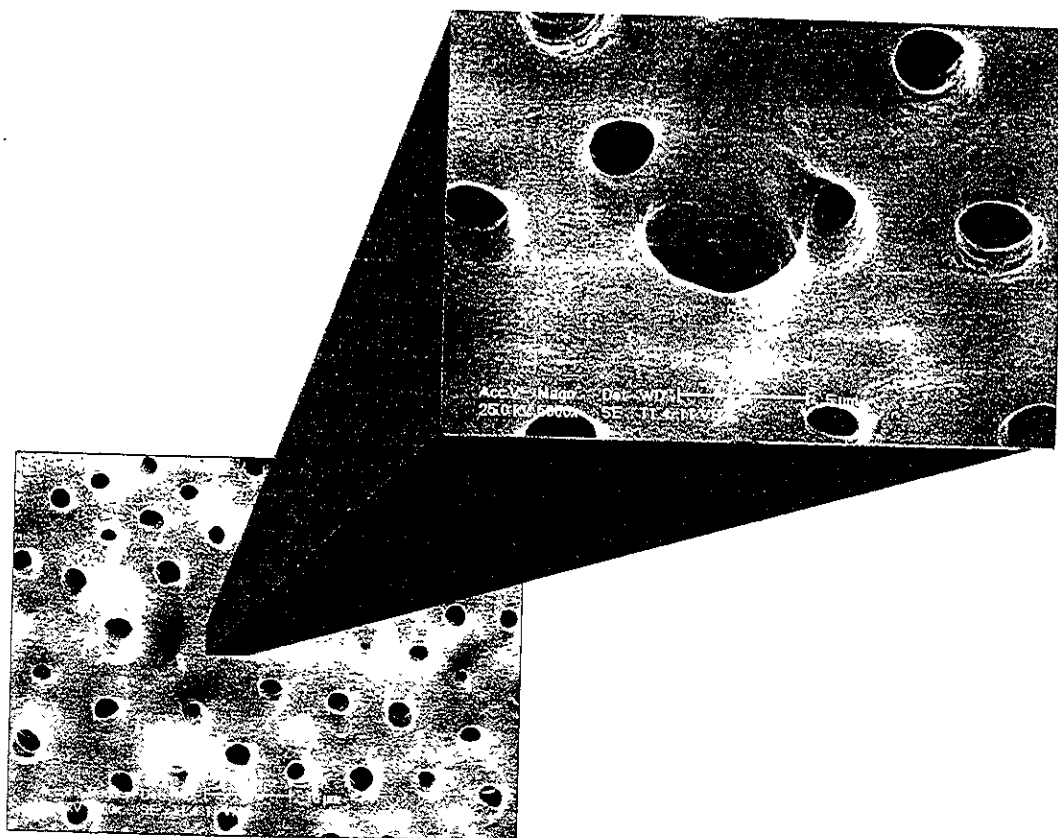
Sin embargo, al observar otra muestra del mismo grupo y tercio donde no hubo tal desprendimiento y corte de este mismo tercio se realizó ligeramente por debajo de la unión amelo-dentinaria se lograron resultados muy importantes a mayores magnificaciones en el MEBBV se logro observar todavía con mayor precisión y nitidez que los túbulos no siguen una trayectoria en línea recta sino que es zigzagueante, (fotomicrografia 7), es importante mencionar que de acuerdo a lo observado, esta trayectoria no es solamente una característica del tercio externo y grupo I, es una característica general para todos los tercios y grupos.



Fotomicrografia 7.- Obtenida del MEBBV a 1,000X, donde se observa la trayectoria de los túbulos dentinarios.

Por otro lado, en algunas observaciones se detecto que el lumen de algunos tubúlos eran más grandes en su diámetro, que los demás, pero lo interesante de esto es que no presentaba la circunferencia característica del lumen de los túbulos sino que tenían una forma que se podría decir elíptica con estrechamiento en la parte media simulando a la forma de un riñón, dando la apariencia de unión entre dos túbulos, esto se presento en los tres tercios pero más marcadamente en el tercio externo y medio, en cuanto a los grupos

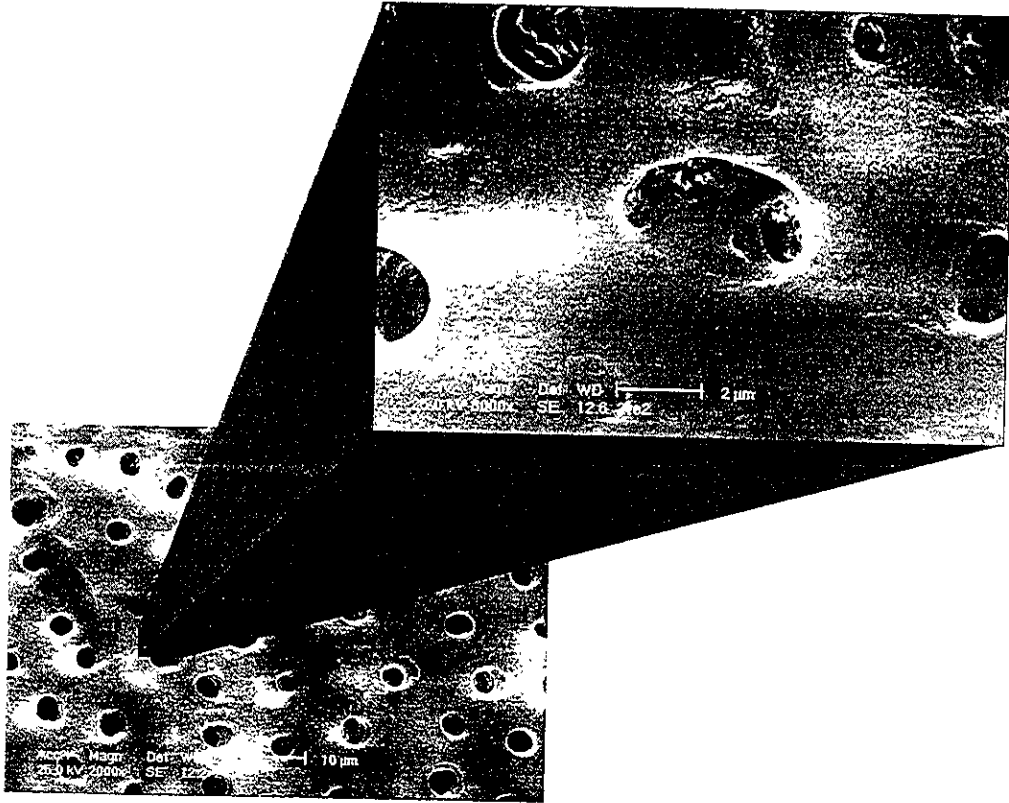
se observo mayor presencia de esto en los grupos I y II. En el grupo I, se advierte, independientemente de lo antes mencionado, la tersura de la dentina intertubular, (fotomicrografia 8).



Fotomicrografía 8. – Tomada en el MEB a 5000X donde aparentemente se logra observar lo que parece ser la unión de dos túbulos.

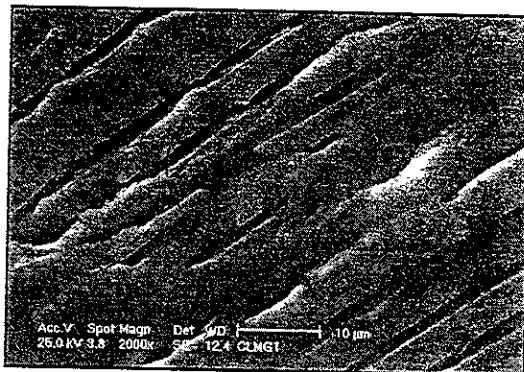
En el grupo II también se logran observar estas formas elípticas de algunos túbulos, como ya se menciona pero aquí la dentina intertubular se observa tersa, aparentemente da la apariencia de ser más dura por el aspecto vítreo que representa tener, (fotomicrografia 9).

ESTE LIBRO NO SALE
DE LA BIBLIOTECA



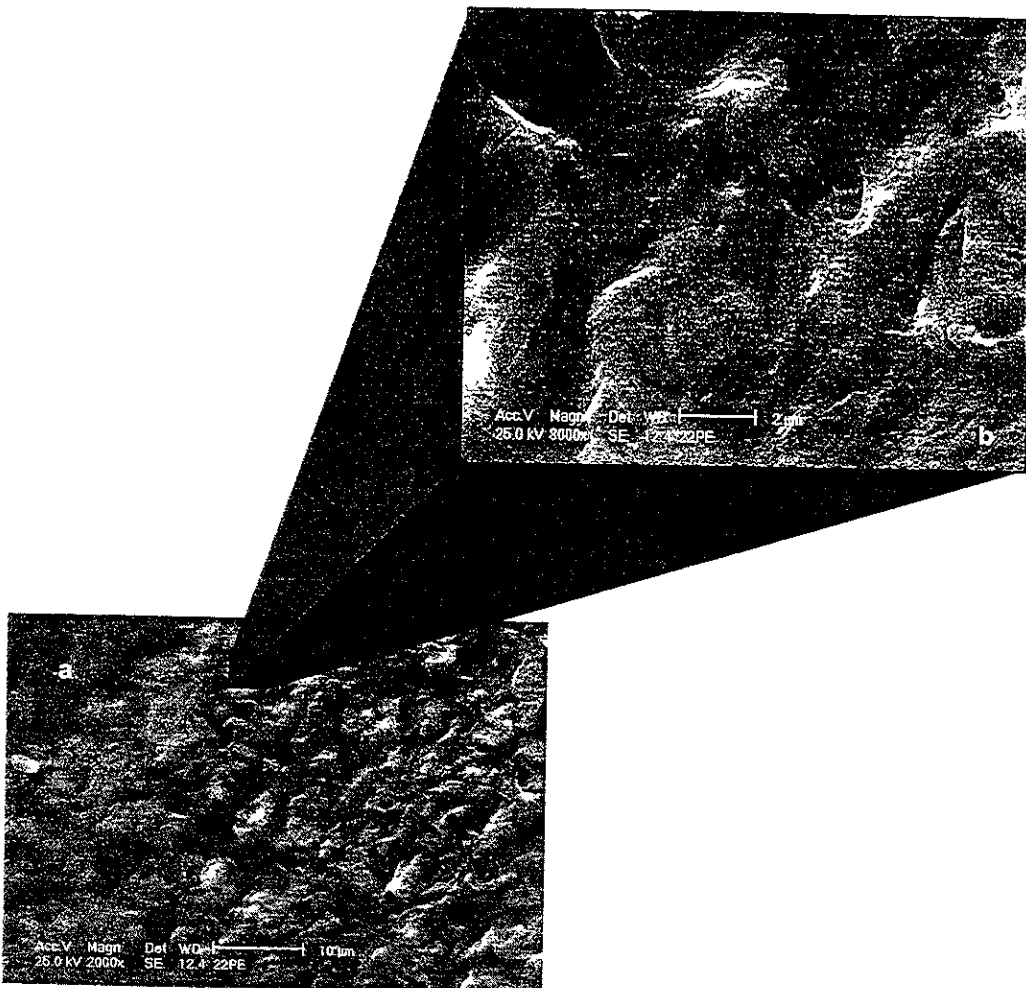
Fotomicrografia 9.- A 8,000X, de un espécimen del grupo II, se puede observar en este caso que el lumen del túbulo tiene una forma de riñón y se alcanza a percibir en lo profundo del túbulo la división que hay.

En un corte sagital se ratifica la división tubular, en forma de delta o en forma de “Y”, que fue frecuente encontrar tanto en el tercio externo como en el pulpar de los grupos I y II, fotomicrografia 10.



Fotomicrografia 10.- Tomada en el MEBBV a 2,000X donde se puede observar una delta.

En el grupo III, este tercio tiene una apariencia totalmente vítrea y compacta, que a diferencia de los otros dos tercios no es porosa, sin embargo, se puede observar la marca donde alguna vez fue el lumen del túbulo, se alcanza a diferenciar tejido que correspondería a la dentina secundaria (obliterando el túbulo), de la primaria presente en lo que fue la dentina intertubular, (fotomicrografía 11).



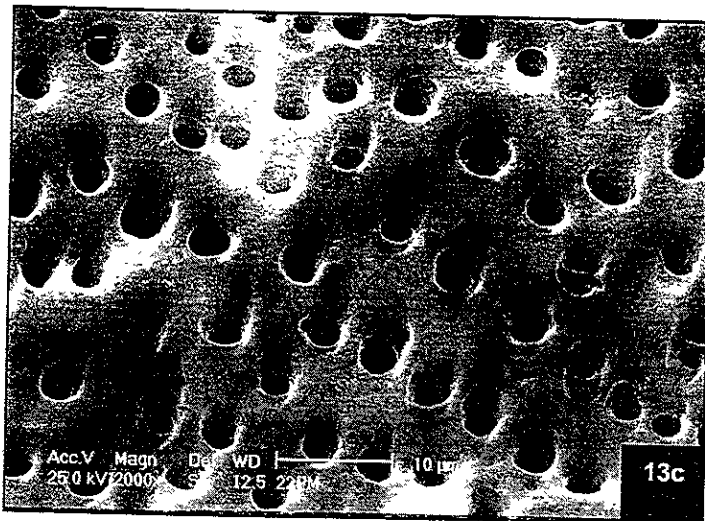
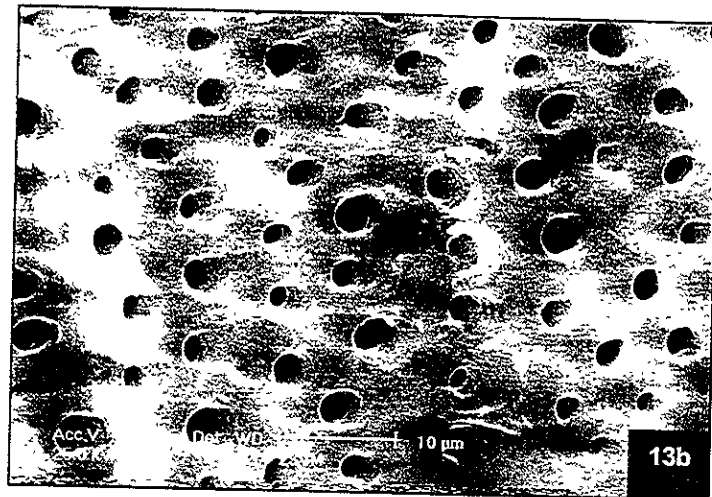
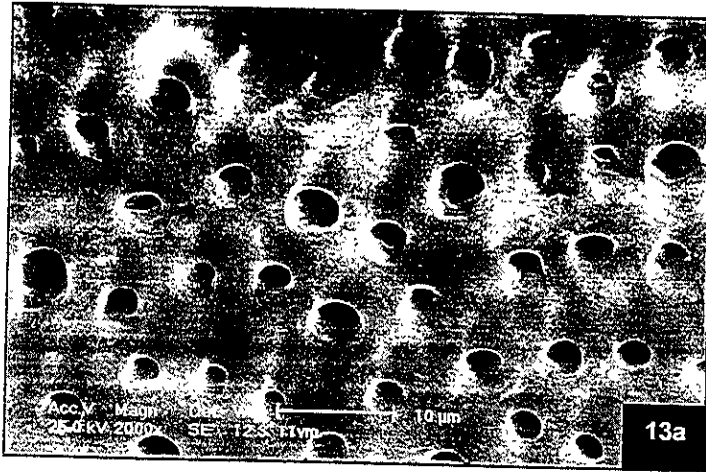
Fotomicrografía 11.- Obtenidas en el MEB del tercio externo de uno de las muestras de los especímenes de personas de más de 50 años.
a).- Fotomicrografía a 2,000X mostrando la superficie irregular de aspecto vítreo-petoso.
b).- Fotomicrografía a 8,000X donde se alcanza a percibir la dentina secundaria obliterando lo que fue alguna vez el túbulo dentinario.

En el *tercio medio*, en el grupo I, en un corte sagital se puede observar la trayectoria de los túbulos, que como se ha venido mencionando, en forma de zig-zag, pero independientemente de esto la dentina intertubular se puede observar menos compacta que en el *tercio externo*, es decir, ya se ve con esa textura vitrosa, sin embargo la dentina peritubular a diferencia de la intertubular se ve mucho más densa (fotomicrografía 12)



Fotomicrografía 12.- Obtenida del MEBBV a 5,000X, se puede observar la trayectoria tubular y ayudándose con la regla que aparece en la imagen se podrá determinar el diámetro aproximado del túbulo, el cual no excede los $2.5\mu\text{m}$, por otro lado nótese el tejido más denso de la dentina peritubular.

Estructuralmente, el *tercio medio* es el que más se asemeja en todos los grupos, es decir, tiene características idénticas, tanto en porosidad, tamaño de túbulos y distribución de los mismos. Sin embargo, en textura se va notando más compacta y de aspecto vítreo la dentina intertubular a medida que avanza la edad, (fotomicrografías 13).

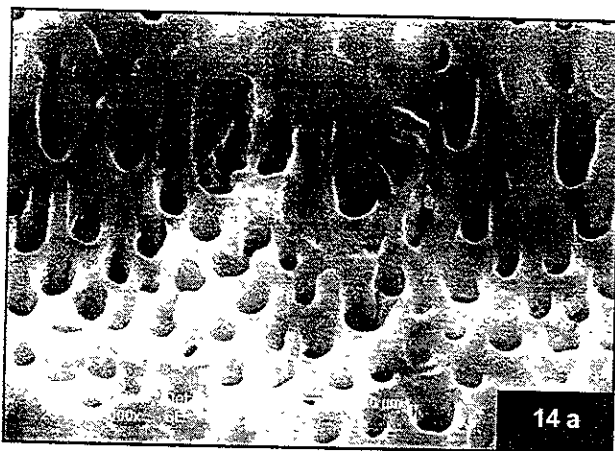


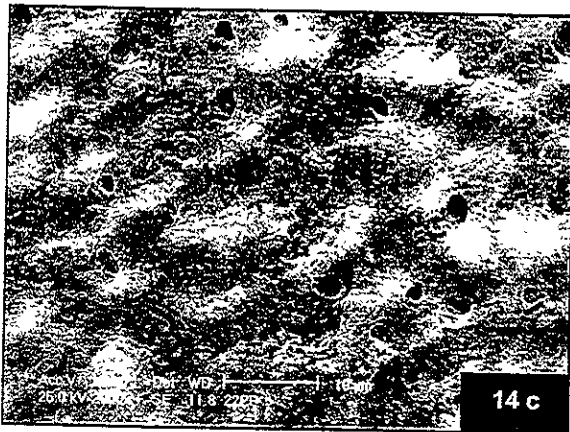
Fotomicrografías 13.- Obtenidas del MEB a 2,000X del tercio medio.
a).- Fotomicrografía del grupo de personas de entre 18 y 29 años
b).- Fotomicrografía del grupo de personas de entre 30 y 49 años.
c).- Fotomicrografía del grupo de personas de 50 años en adelante.

El *tercio pulpar*, en el grupo I, los túbulos dentinarios aparentemente no siguen una sola dirección, esto se logra ver, al detectar en la superficie de una misma muestra, que el lumen de algunos de los túbulos eran de forma circular mientras que en otros se veía el lumen alargado lo que daba la apariencia de haber hecho un corte aparentemente perpendicular al túbulo, es importante recordar que el corte fue frontal, es decir, la muestra fue obtenida de una cara del diente (vestibular), más no en la proximidad de unión de dos caras, para que se pudiera pensar que es precisamente por esto, la dentina intertubular es más escasa que en los otros tercíos, mayor la cantidad de túbulos y de mayor diámetro (fotomicrografía 14a).

En el grupo II, la dentina intertubular es más compacta y de mayor proporción, los túbulos se encuentran en menor cantidad y de menor diámetro, (fotomicrografía 14b).

En el grupo III, es muy notoria la diferencia es mayor la cantidad de dentina intertubular compuesta por dentina primaria y secundaria, de ahí el aspecto más vítreo, hay una disminución muy importante en la densidad tubular y los que están presentes la mayoría de ellos son de diámetro muy inferior al de los otros grupos, (fotomicrografía 14c).



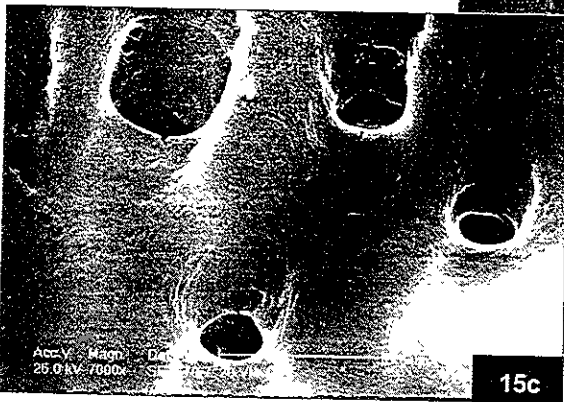
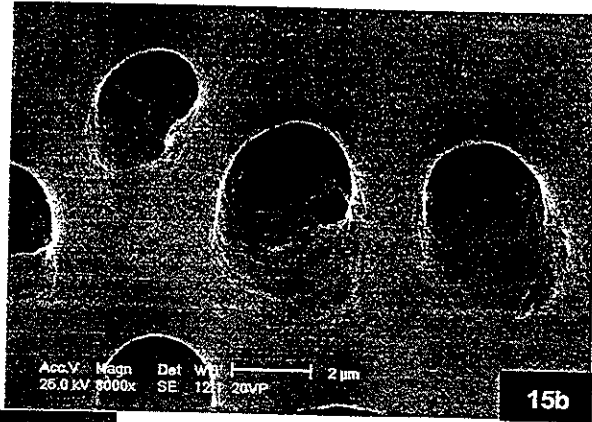
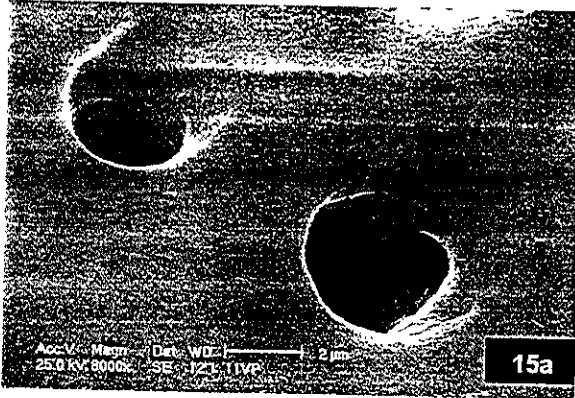


Fotomicrografías 14. – Obtenidas en el MEB Philips XL 30 a 2,000X, del tercio pulpar.

- a).- Fotomicrografía de una muestra del grupo I, donde en la foto se observa, una mayor porosidad.
- b).- Fotomicrografía de una muestra del grupo II, aquí se nota el cambio en la porosidad donde ya es menor.
- c).- Fotomicrografía de una muestra del grupo III, notablemente se encuentra disminuida la porosidad.

Por otro lado, en cada muestra de cada uno de los grupos al ir aumentando el acercamiento en las observaciones al MEB sobre todo a mayores de 2000X, se observaron pequeños orificios en las paredes tubulares con diámetro muy inferior al más pequeño de los túbulos. Estos orificios se observaron en todos los tercios, sobre todo en el tercio medio y pulpar, de los grupos I y II, sin embargo, también se observaron en el tercio externo en las zonas donde todavía no había o no estaba tan avanzada la obliteración de los conductos por dentina secundaria; En el grupo III donde se lograron observar fue únicamente en el tercio medio.

Estos orificios parece ser que se conectan uno con otro (túbulos inetrutubulares) los cuales también como se menciona anteriormente se encuentran en las paredes de los túbulos, (fotomicrografía 15).



Fotomicrografía 15. – Imágenes donde se pueden apreciar los microtúbulos que conectan a un túbulo con otro. Es posible observarlos en cualquier tercio sobre todo en el grupo de jóvenes y adultos.

15a. – Tercio externo, del grupo I, se logra observar en los dos túbulos en su pared superior pequeños orificios, sobre todo en uno de ellos hay dos uno de diámetro más grande y otro más pequeño.

15b. – Tercio medio, del grupo I, en esta área es donde se pueden observar con mayor frecuencia estos microtúbulos.

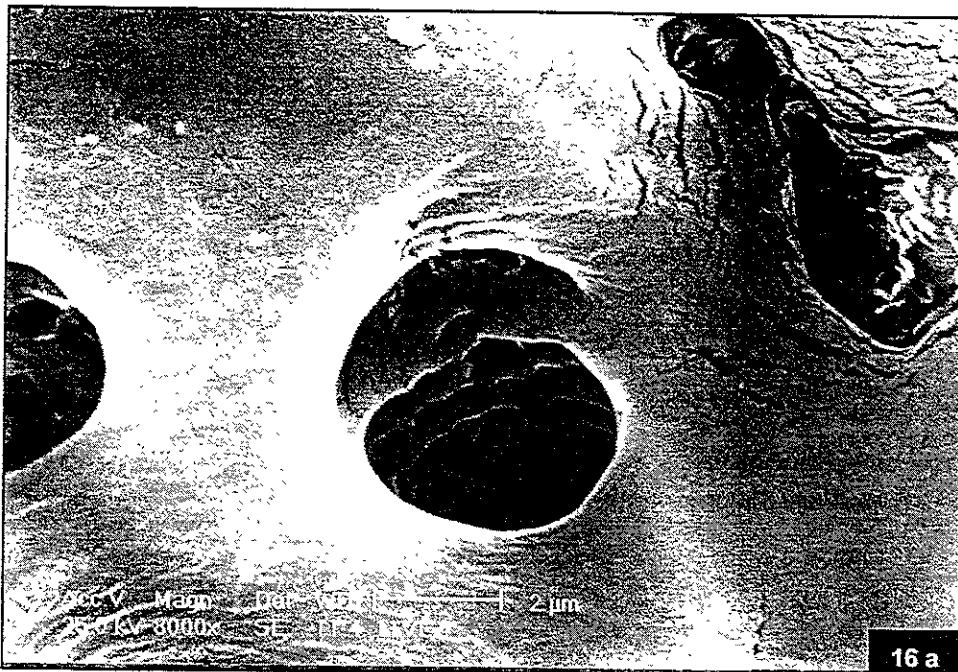
15c. – Tercio pulpar del grupo I, de igual manera también se encuentran presentes pero con mayor diámetro.

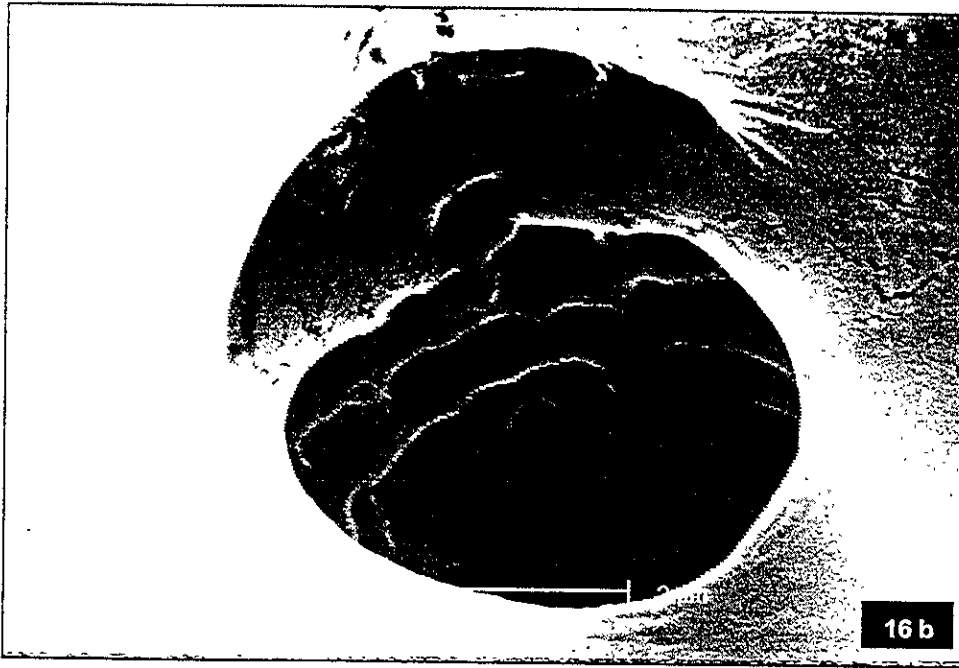
Estructura de la pared tubular

Otra de las observaciones que se realizaron, y que no estaba contemplado realizar, fue el establecer la estructura superficial de las paredes de los túbulos dentinarios, esto se realizo al ver que algunas muestras permitían acercamientos muy superiores a los tradicionalmente empleados sin distorsionar la imagen para estudios en MEB, en una de estas muestras se llevo hacer la observación a 32,000 X, la superficie que se estudio es la que se veía a través del lumen del túbulo.

Las observaciones hechas fueron en los tres grupos, no se realizaron por tercios en todos los grupos por lo antes descrito. El análisis estructural en forma general determina que las paredes tubulares no son lisas, más si son rugosas con diferentes características entre un grupo y otro.

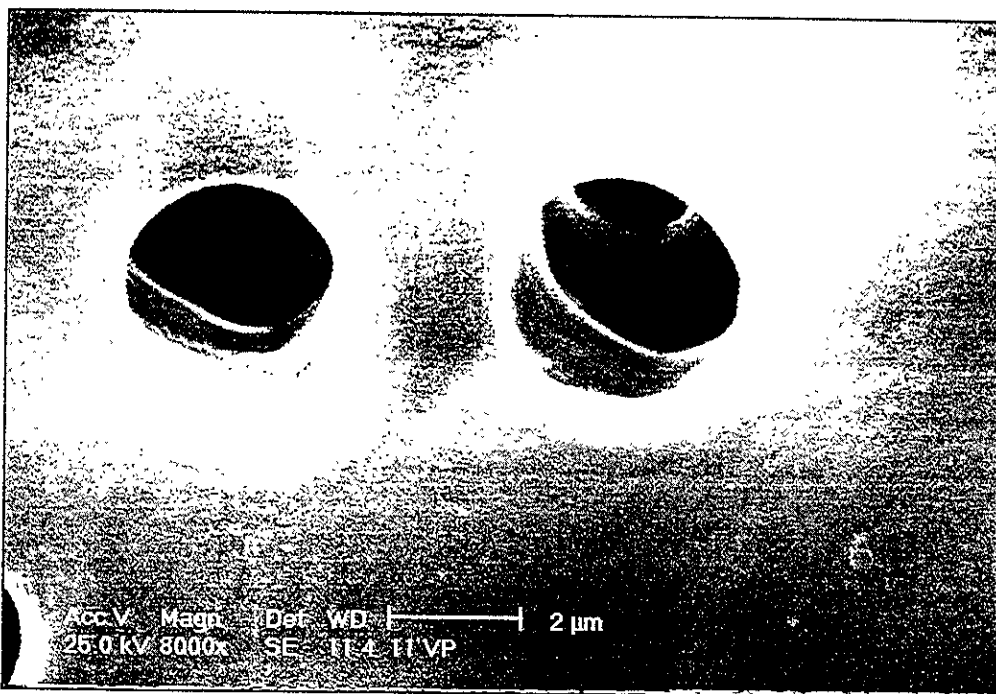
En el grupo I, fue en donde se logro hacer el mayor número de observaciones. La estructura fue muy variada, se encontró que en la superficie de la pared tubular del tercio externo, se observaban formaciones semejantes a crestas, (fotomicrografias 16).





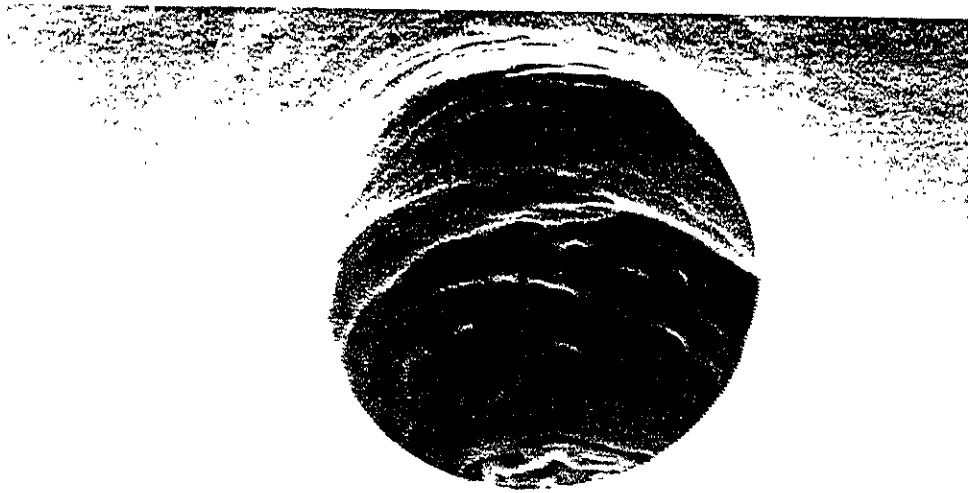
Fotomicrografía 16. – La obliteración de los túbulos por la aposición de sales minerales (dentina secundaria), se da a lo largo del túbulo sobre sus paredes, iniciando desde la parte más distante a la pulpa, en las fotomicrografías se puede apreciar esto en el tercio externo.
a).- Fotomicrografía a 8000 X donde se aprecian las crestas de dentina secundaria.
b).- Fotomicrografía a 16,000 X, las crestas siguen una dirección circunferencial alrededor del lumen del túbulo.

En otra muestra todavía más cercana a la unión amelo-dentinaria, estas crestas que en las fotomicrografías anteriores dan la apariencia de tener elevaciones y depresiones sobre la cima, en esta otra, siendo más distante lo observado en la siguiente fotomicrografía, al parecer ya a esta altura se ha venido depositando sales minerales, lo cual lleva a la desaparición de estas elevaciones y depresiones sobre la cima de la cresta fundiéndolas, dando la apariencia de haberse unido para formar anillos internos distantes unos de otros de 8 nm. aproximadamente que empiezan a obliterar a los túbulos, a partir de las paredes hacia el centro, (fotomicrografía 17).

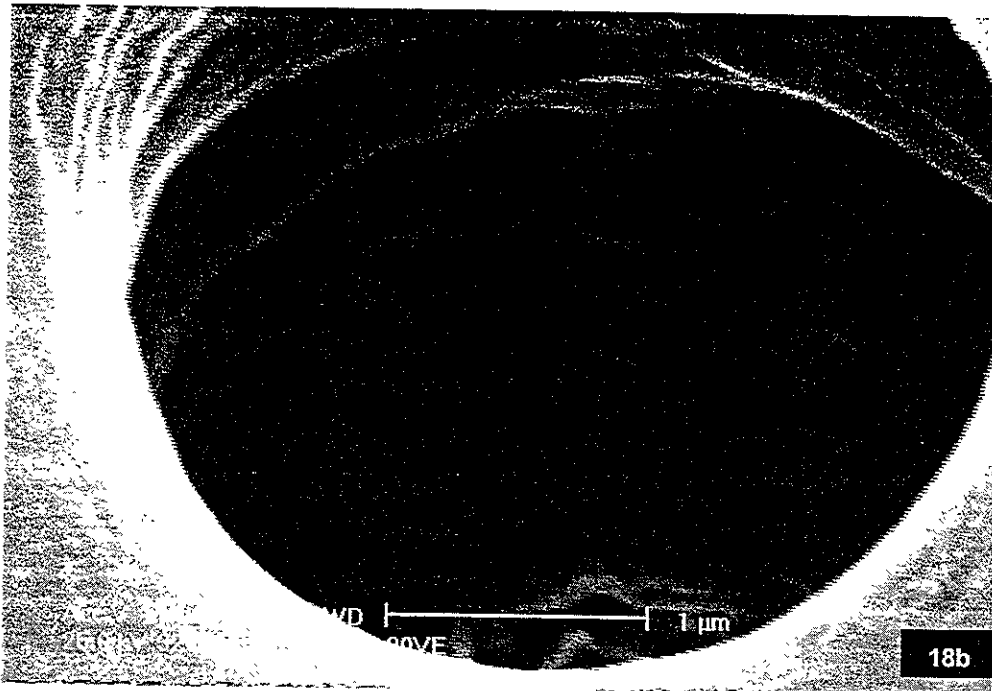


Fotomicrografia 17.- Obtenida en el MEB a una magnificación de 8,000 X que fue tomada sobre una superficie todavía más externa, aquí se puede apreciar que las crestas se han fundido formando anillos alrededor del lumen.

Sin embargo, en una muestra de un espécimen de una persona en la edad límite a este grupo (29 años), se encontró que los espacios existentes entre anillo y anillo ya estaban rellenos de lo que sería la dentina secundaria, dando un aspecto petroso-vítreo con pequeños nódulos o esferas de aproximadamente 1 nm. de diámetro, sin embargo, a la entrada del lumen todavía se alcanza a ver los anillos no fundidos o unidos por el depósito de sales minerales entre ellos, por otro lado al fondo del túbulo dentinario, se ven las crestas iniciales, similares a las que se observaron en las primeras fotomicrografías de este apartado, (fotomicrografías 18).



18a



18b

Fotomicrografías 18.- Tomadas en el MEB Philips XL 30.

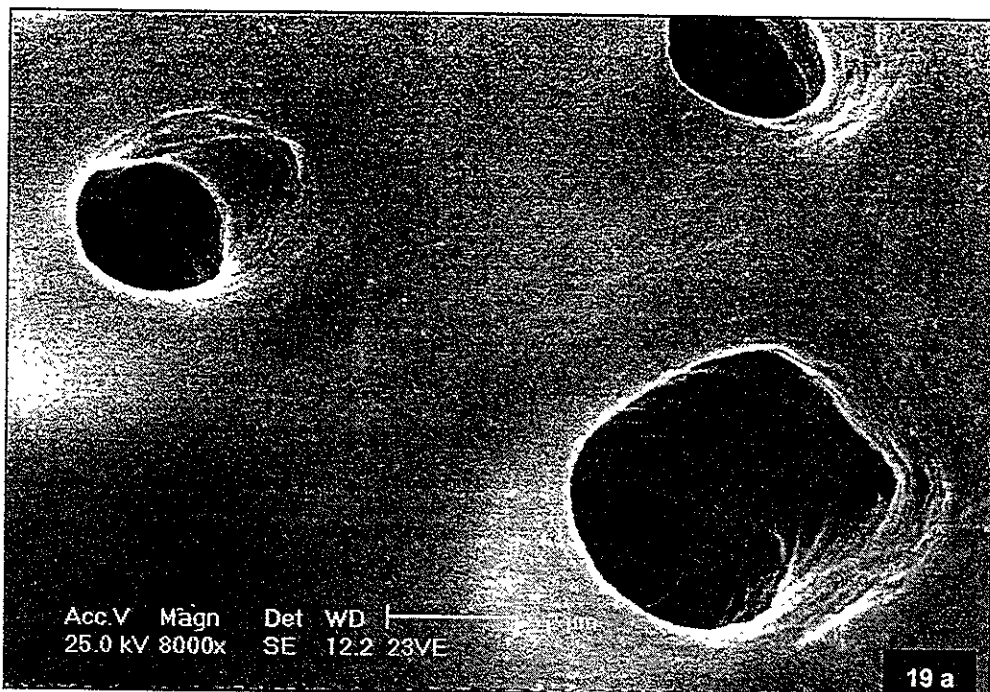
a).- Fotomicrografía a 16,000 X. En otra muestra de un espécimen de otra persona de mayor edad de este grupo se logra observar como los espacios dejados entre anillo y anillo se encuentran ya rellenos por dentina secundaria observándose una superficie menos irregular y a la vez se observa más vítrea.

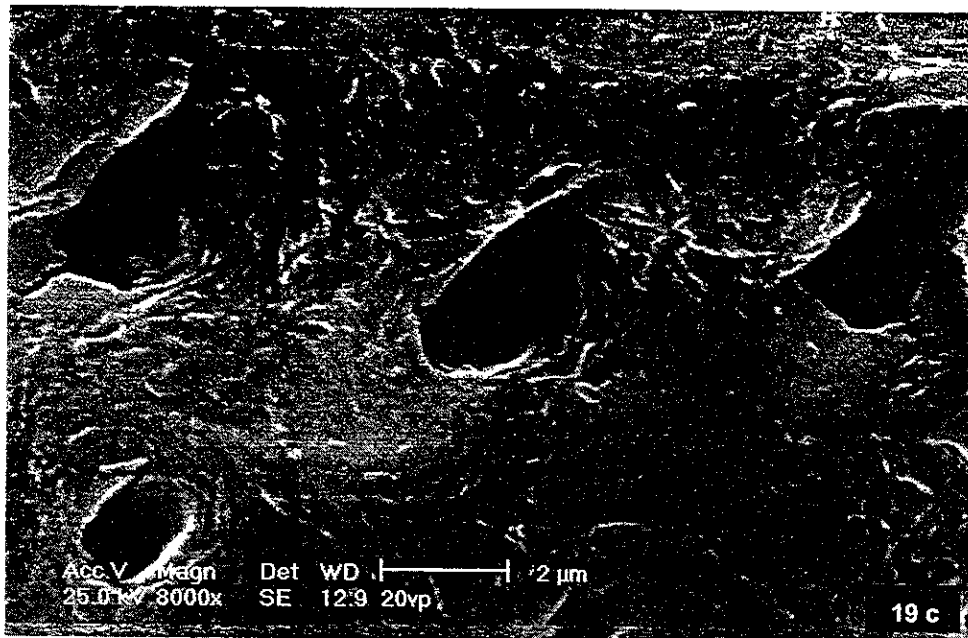
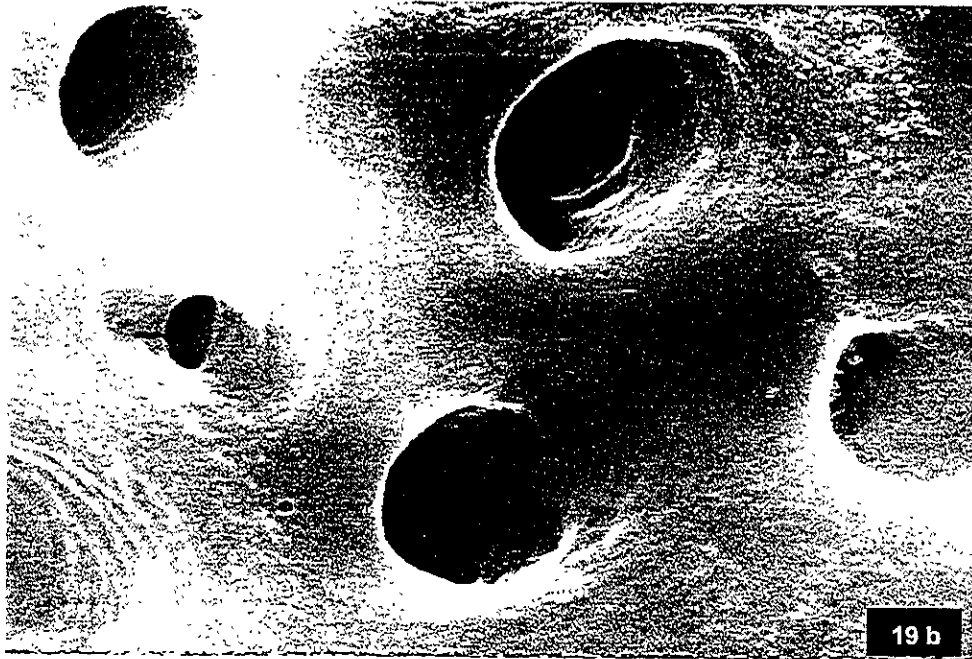
b).- Fotomicrografía a 32,000 X. Se puede todavía ver más en detalle lo anterior.

En el grupo II además de verse más obliterados, los nódulos ya no se aprecian y las paredes se ven ahora con un aspecto más petroso y sobre este tejido, se vuelven a observar, la formación de más anillos todavía de mayor altura que los observados en el grupo I, esto fue observado en el tercio externo de la dentina, (fotomicrografía 19a).

En el tercio medio tiene bastante similitud con el anterior pero los anillos son de menor altura, (fotomicrografía 19b)

El tercio pulpar se observa denso los túbulos dentinarios se ven más deformes en cuanto a su forma circunferencial, esa deformidad se alcanza a notar que es por los depósitos sobre la pared tubular, la cual se observa mucho más densa que los otros tercios, (fotomicrografía 19c).





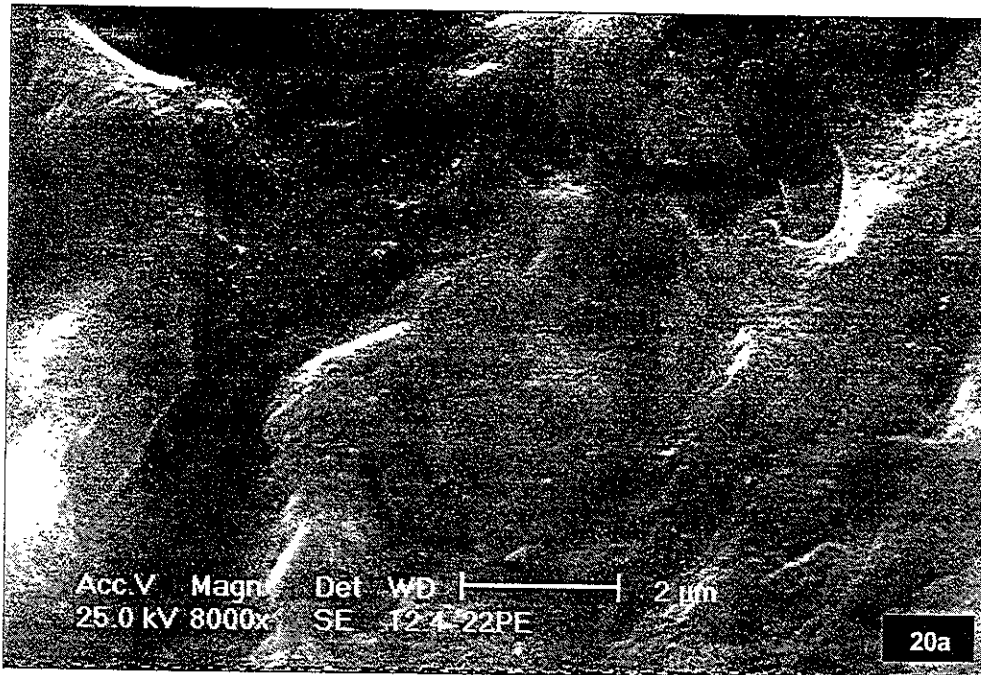
Fotomicrografías 19. – Imágenes de los tercios del grupo II.

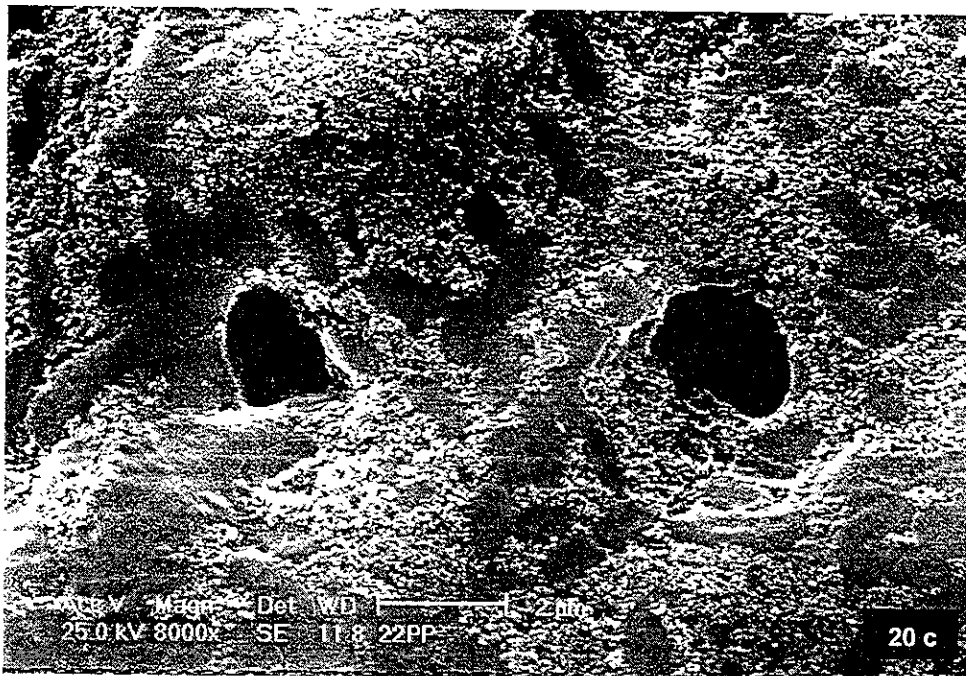
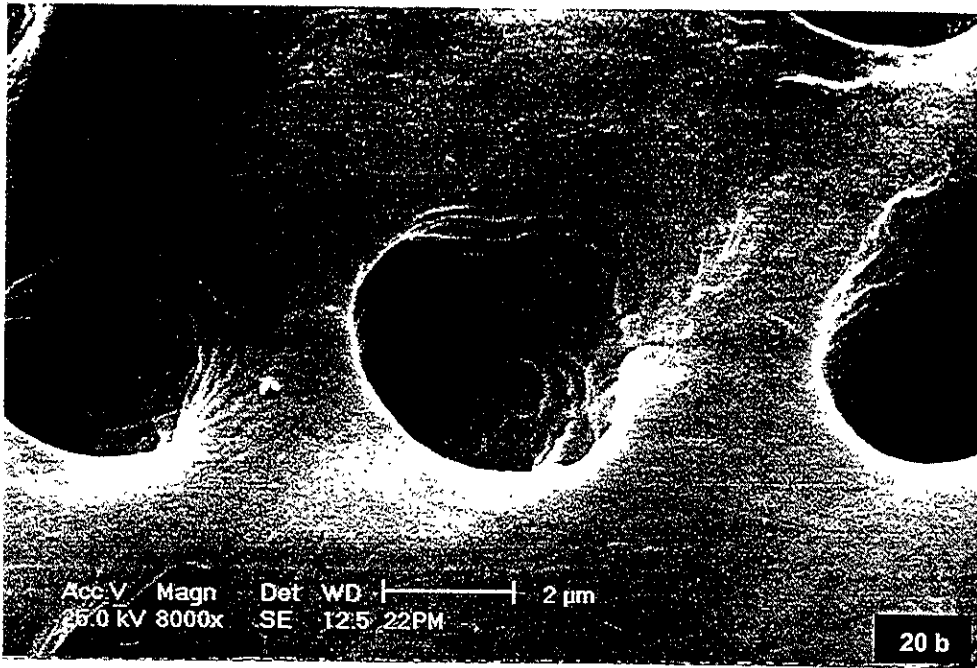
- a. Al fondo de los túbulos se logra observar como se viene dando la obliteración de los túbulos en este caso por edad, que es en forma de anillos sobre las paredes, y más adelante se ve el depósito de dentina secundaria que da una apariencia petrosa.
- b. Los anillos se denotan menos prominentes, la dentina intertubular se comienza a ver más compacta.
- c. El tejido dentinario ahora si se ve mucho más compacto y los túbulos un poco más deformes aumentando la densidad de la pared tubular.

En el grupo III, el tercio externo y pulpar, sobre todo en el externo, los túbulos están completamente obliterados por lo que las imágenes a microscopía electrónica delatan una apariencia petrosa y de ser un tejido muy denso pero a la vez frágil, (fotomicrografía 20a).

Más sin embargo, el tercio medio que fue donde se lograron los mejores resultados de este grupo (desde el punto de vista de que se lograron ver todavía los túbulos abiertos), la pared tubular además, también, de ser muy rugosa, la superficie se observa más homogénea en cuanto a su estructura y depósitos, independientemente de que los túbulos se distinguen más obliterados, (fotomicrografía 20b).

En el tercio pulpar la permeabilidad es muy baja y los túbulos son muy estrechos debido a los depósitos en la pared tubular, (fotomicrografía 20c).



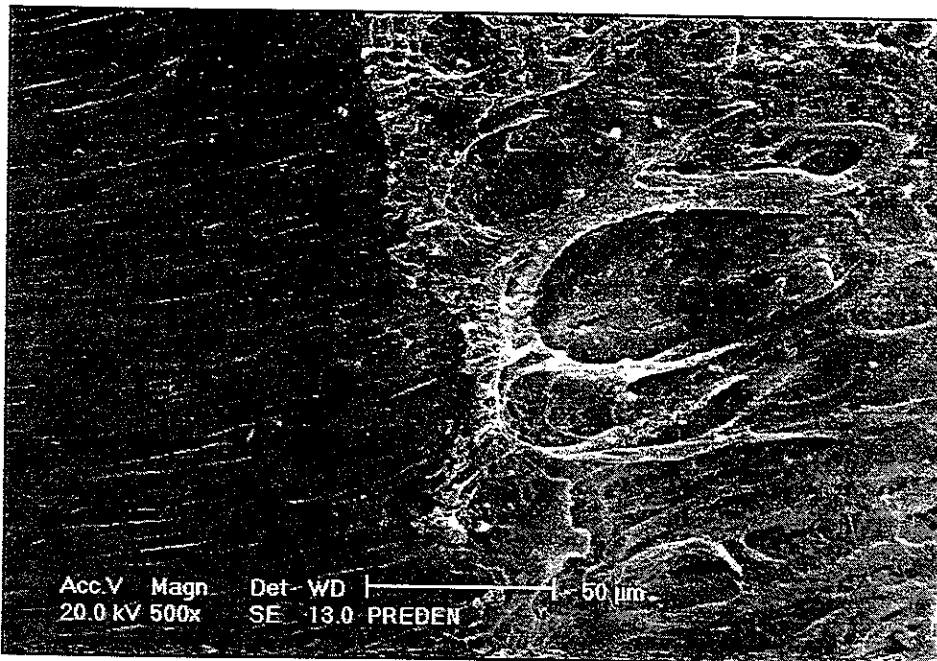


Fotomicrografía 20 – Imágenes de los tercios de un espécimen de grupo III.

- a. En el tercio externo se observa una superficie compacta y vítrea, a la vez se alcanza a distinguir únicamente la huella de lo que fue el lumen de un túbulo.
- b. Sin embargo, a diferencia del tercio externo, en el medio se observan perfectamente los túbulos, pero la pared tubular se alcanza a distinguir más denso el tejido con una textura petrosa, observándose los depósitos minerales sobre estas paredes.
- c. El tercio pulpar se caracterizó por tener una densidad tubular muy baja en uno de los túbulos se observa que la pared esta constituida por tejido denso, independientemente del lodo dentinario que aparece sobre la superficie.

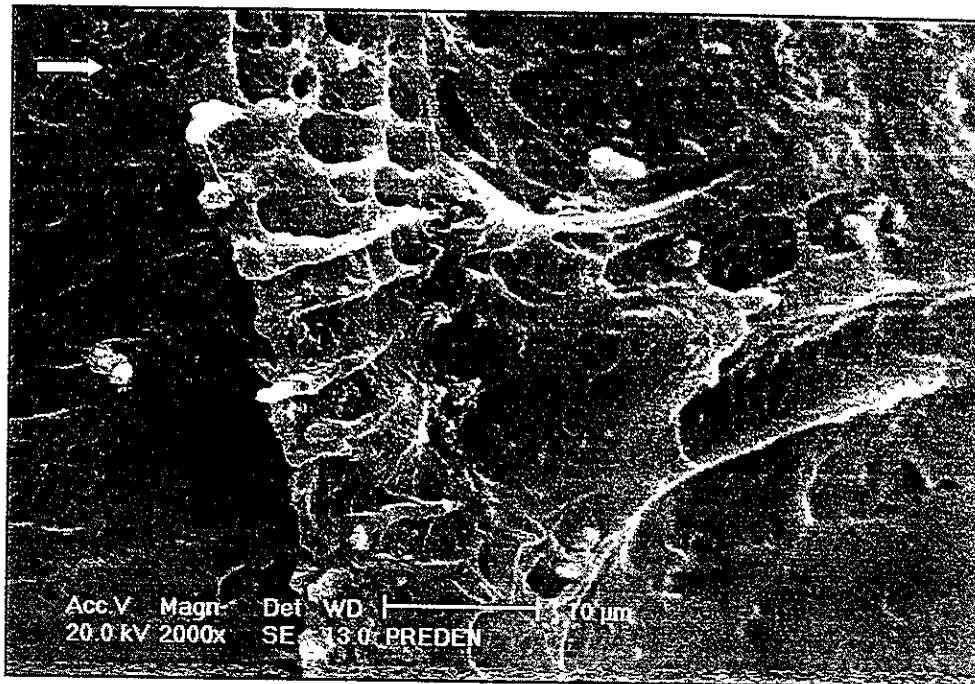
Aprovechando las características de algunas muestras se observo tanto a la pared pulpar en el grupo I como a la dentina que había invadido a la cámara pulpar en el grupo III.

En el grupo I, en un corte sagital, se analizo la zona de la pared pulpar donde se pudo observar en dentina la trayectoria apenas perceptible de los túbulos en forma zigzagueante hacia la parte externa, en el centro se logra observar la unión de la dentina con la preentina observándose independientemente el cambio de densidad entre un tejido y otro, un espacio muy apenas perceptible entre ellos, la preentina se aprecia como ya se menciona anteriormente mucho menos densa que la dentina, forrando la pared pulpar, aparentemente mucho más frágil dando la apariencia de ser jalada por la pulpa. El tejido pulpar se observa como una especie de material pastoso tal vez por el proceso de la preparación de la muestra que fue para analizarla al alto vacío ya que no se pretendía observar esta zona, (fotomicrografia 21)



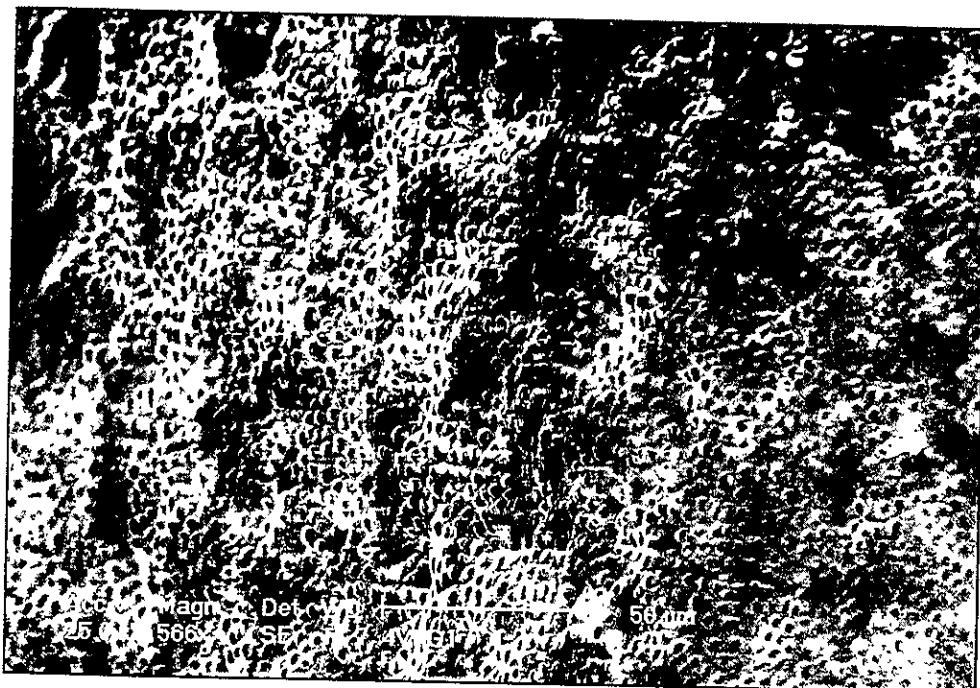
Fotomicrografia 21.- Obtenida en el MEB Philips XL 30 a 500 X, se puede observar a la preentina menos densa que la dentina, determinado por la saturación de grises, observándose más clara a la preentina y a la pulpa pero esta ultima presentando una textura pastosa.

A mayor amplificación se aprecia a la predentina mucho más nítida, logrando determinar su grosor que fue de $10\mu\text{m}$, el lumen de los túbulos en predentina se observan mucho más abiertos que de acuerdo a muchos autores, es la zona donde todavía parte del cuerpo de los odontoblastos se encuentran, ya en dentina lo importante es que se logran observar algunos túbulos intertubulares, (fotomicrografia22).



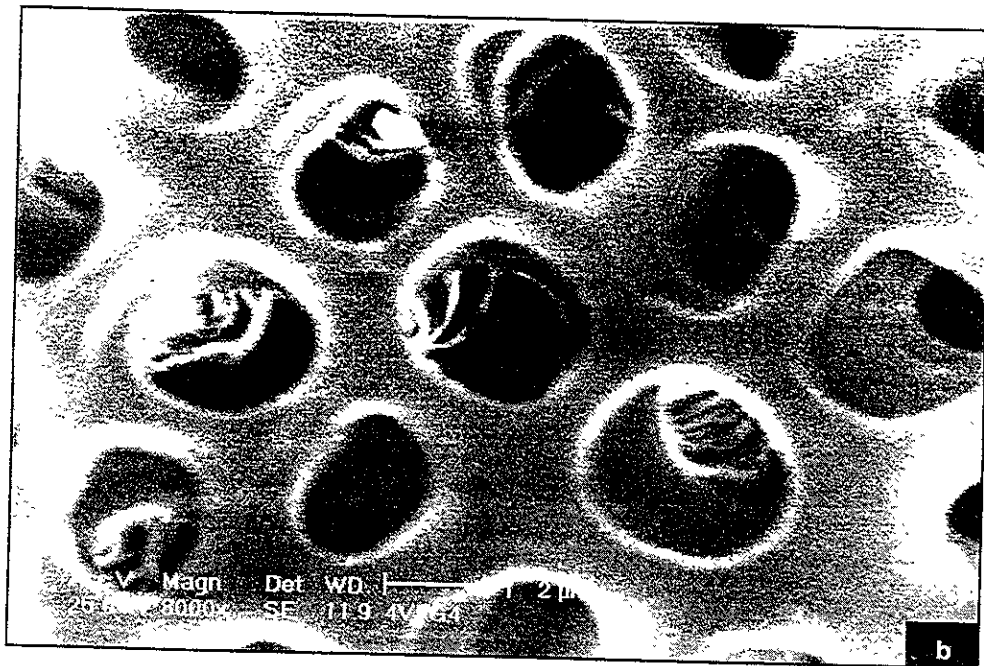
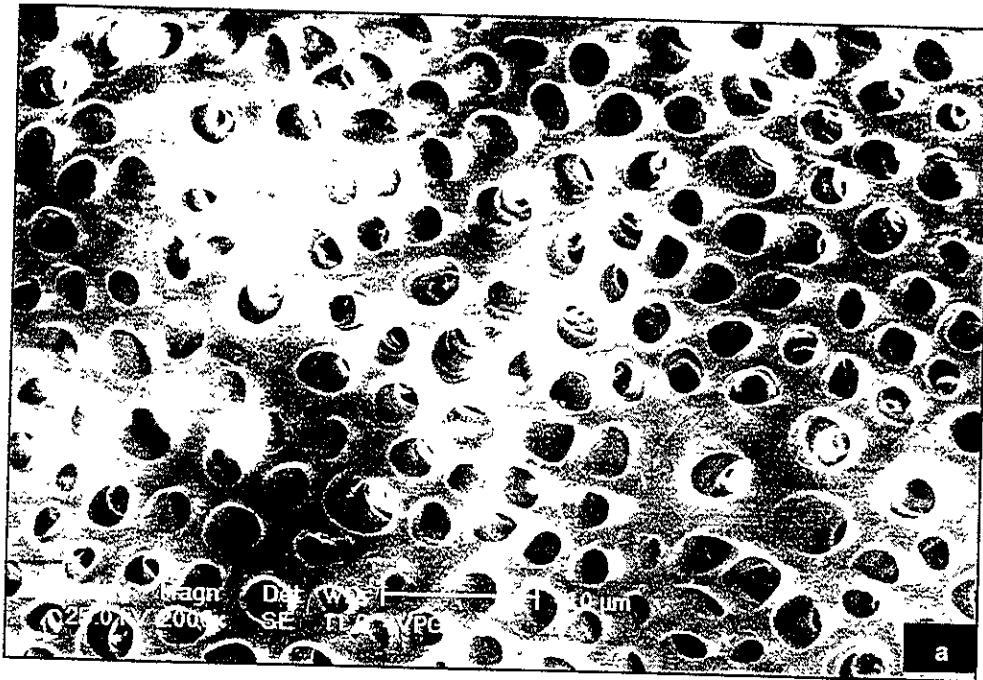
Fotomicrografia 22.- A 2,000 X, observándose la línea de división entre la predentina y dentina, en predentina se logran ver la pared tubular neoformada, en dentina en el extremo superior izquierdo se alcanza a notar un túbulo intertubular.

En especímenes de personas de 20 años, la pared pulpar en una vista frontal se alcanzan a percibir muy porosa con túbulos de diámetro mucho mayor, la superficie además de porosa se observar muy irregular, es decir, con elevaciones y depresiones, en general todos los túbulos se encontraban abiertos, (fotomicrografia 23).



Fotomicrografía 23.- A 566 X observándose una alta densidad tubular con túbulos muy abiertos, algunas zonas se salen fuera de foco, debido a la convexidad de la pared tubular.

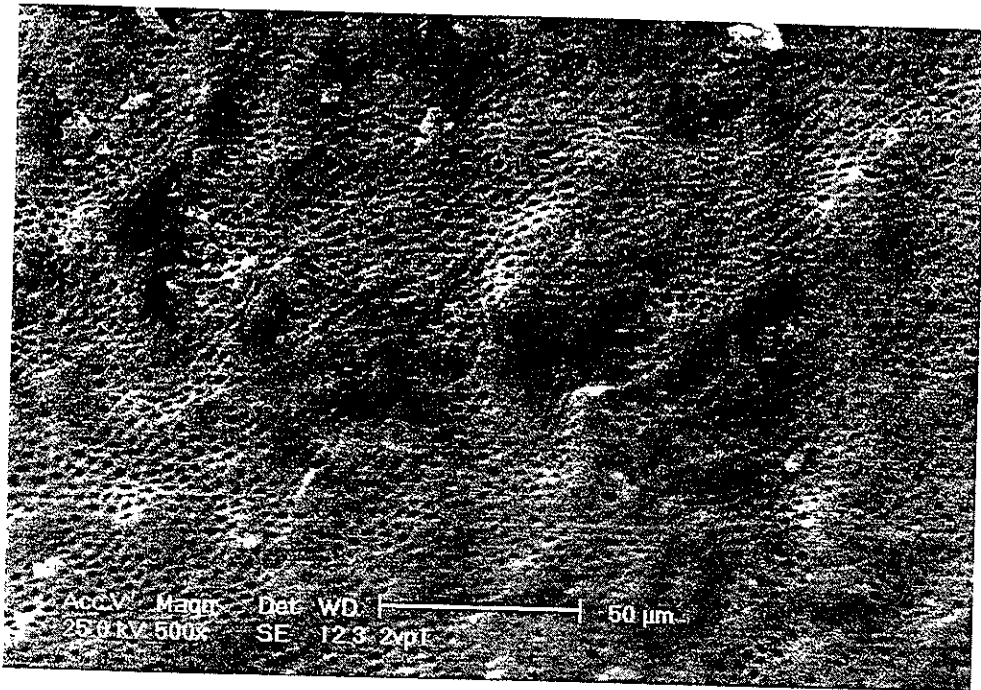
A magnificaciones mayores se puede notar zonas de mayor cantidad de dentina intertubular básicamente aumentada en base a la dentina secundaria, estas zonas al parecer coincidían con las elevaciones, lo que denota una mayor actividad en la formación mineral de estas zonas, se puede observar también que el diámetro es muy variado, en cuanto a la forma del lumen, no todos tienen una forma precisamente circular. El detalle tubular, al interior es más preciso, logrando ver los anillos que se mencionaron en el apartado de estructura de la pared tubular, a través del lumen en algunos túbulos se logra observar su fondo determinando que de acuerdo a este los túbulos no corren en forma paralela uno con otro, más si tienen trayectorias muy diferentes aunque sean vecinos, (fotomicrografías 24).



Fotomicrografía 24.- Vista frontal a la pared tubular.

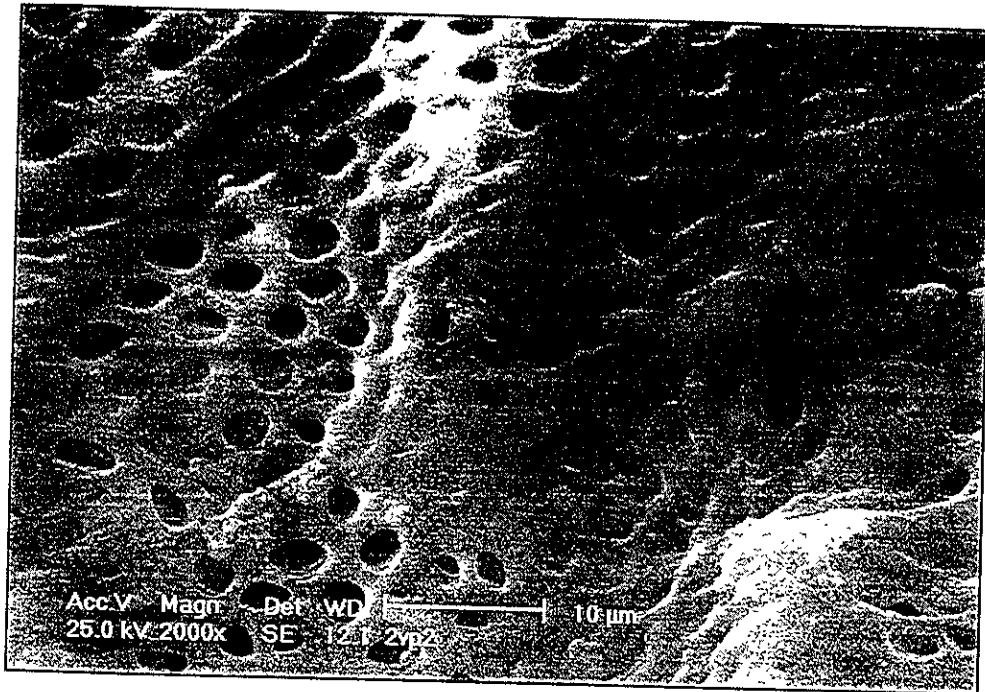
- a. Magnificación a 2,000 X observándose islas de mayor cantidad de dentina intertubular y densidad tubular muy marcada.
- b. Magnificación a 8,000X logrando ver el fondo de los túbulos y por ende la trayectoria inicial de estos.

Sin embargo, en otro espécimen el de una persona en edad límite a este grupo, la estructura de la pared pulpar se observa similar en algunas zonas, pero en otras es muy diferente a lo observado en las muestras anteriores ya que en estas partes la mayor cantidad de dentina intertubular que se menciono anteriormente ya no se observa pero si la formación de una estructura o capa que cubre tanto a la dentina intertubular como a los túbulos, se trata de la dentina terciaria respondiendo posiblemente a estímulos externos, (fotomicrografia 25).



Fotomicrografia 25.- A 500 X se alcanza a observar en algunas zonas una capa que aísla a los túbulos dentinarios y dentina intertubular de la pulpa, esto correspondería a la dentina terciaria que se forma de manera rápida por estímulos externos constantes.

A aumentos mayores se puede notar como esta capa va formando elevaciones que cubren o aíslan de la pulpa y nutrientes a los túbulos dentinarios no pudiendo obliterarse a través de la dentina secundaria, la capa se observa que esta formada de un material de característica petrosa, (Fotomicrografia 26).

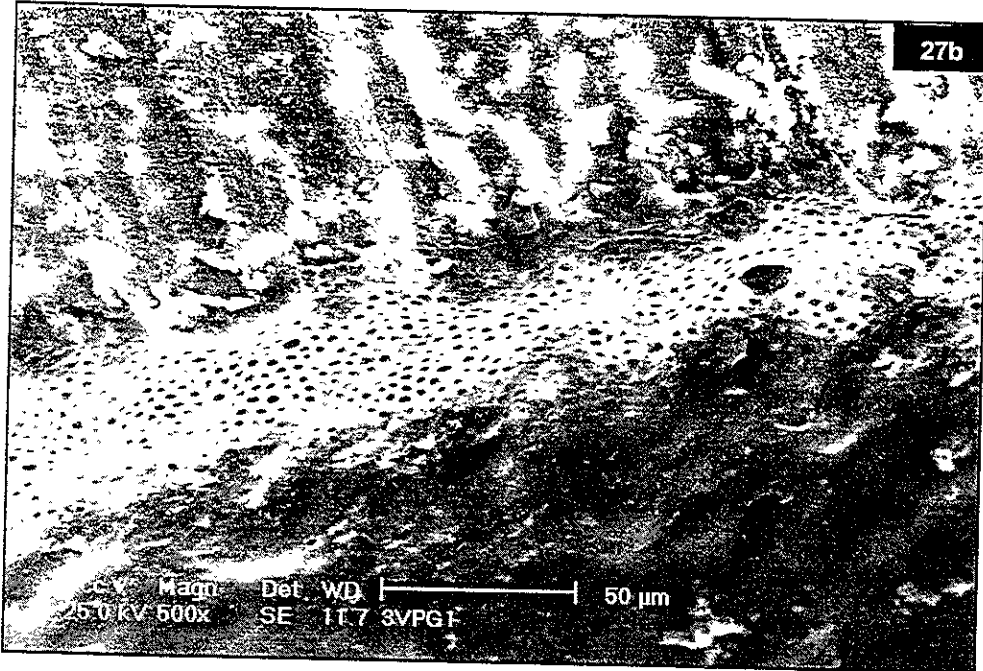
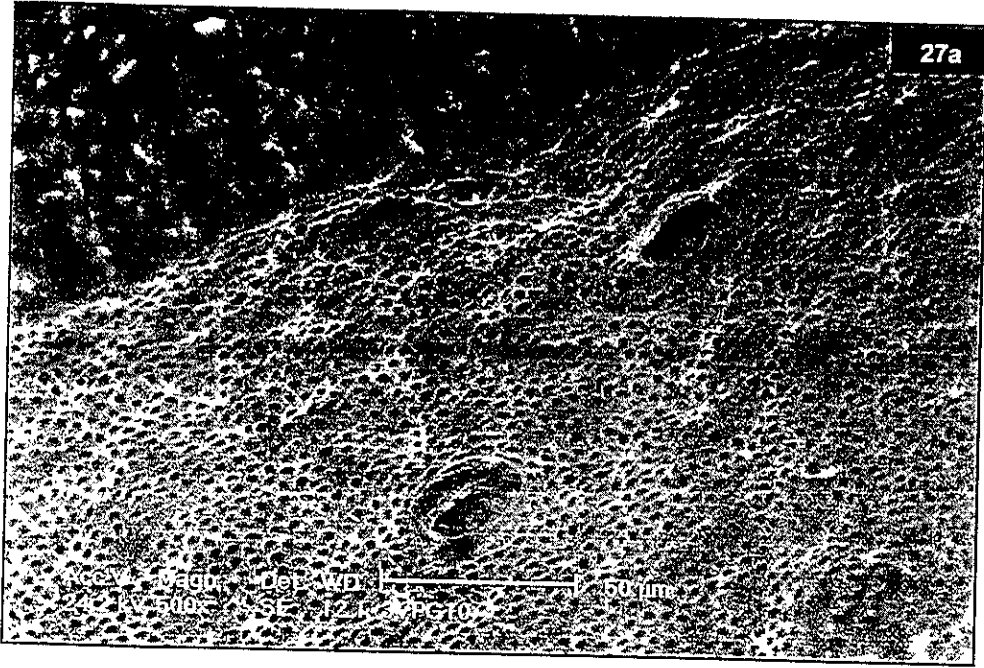


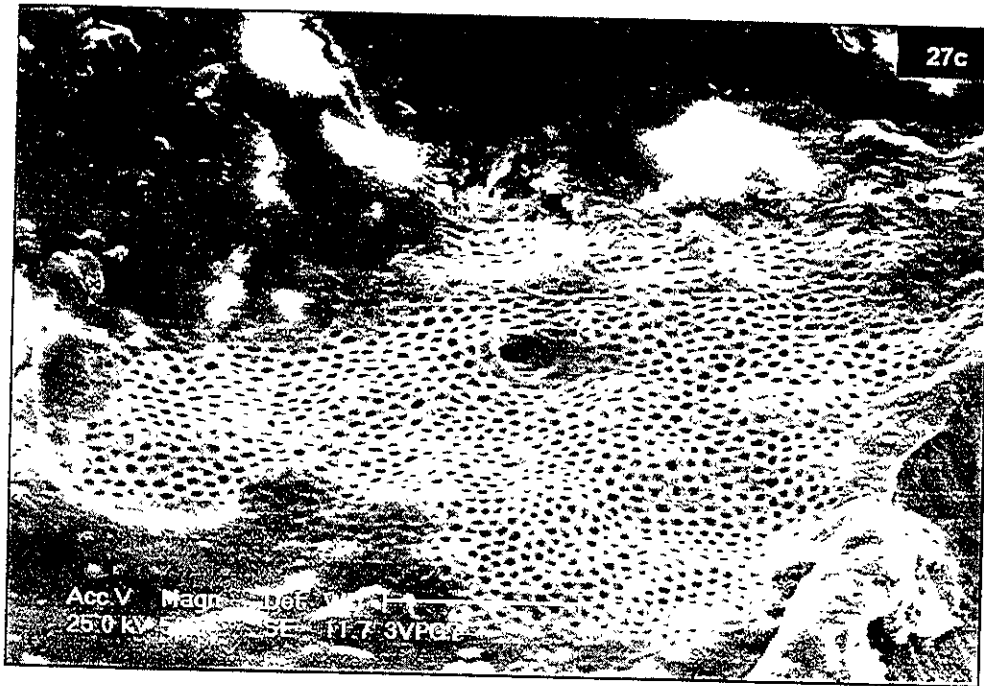
Fotomicrografía 26 .- A 2,000 X, en una muestra de un espécimen de una persona en edad límite del grupo I, se denota el aislamiento que están sufriendo los túbulos evitando así el desarrollo del mismo (obliteración).

En otros casos donde no había este tipo de tejido (dentina terciaria), llamo la atención la existencia de macrotúbulos que sobresalían de la estructura, textura y diámetro normal de la zona, es decir de la pared pulpar.

Da la impresión de cómo si ahí hubieran estado alojados varios odontoblastos, prolongando sus extensiones hacia la parte externa, algunos alcanzando hasta las 20 μ m aproximadamente, tomando en cuenta la regla de la fotomicrografía que es de 50 μ m (fotomicrografía 27^a).

No solo en una muestra se logró observar este tipo de estructura, se logró apreciar en varias siendo la mayoría de 10 μ m, (fotomicrografías 27).

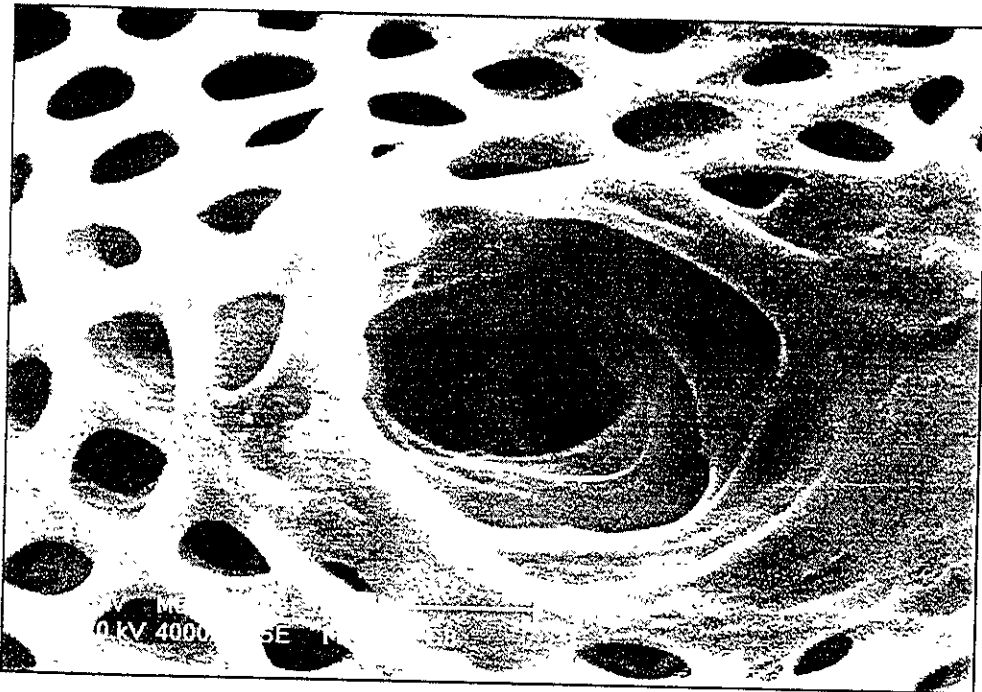




Fotomicrografia 27.- A 500 X de la pared tubular.

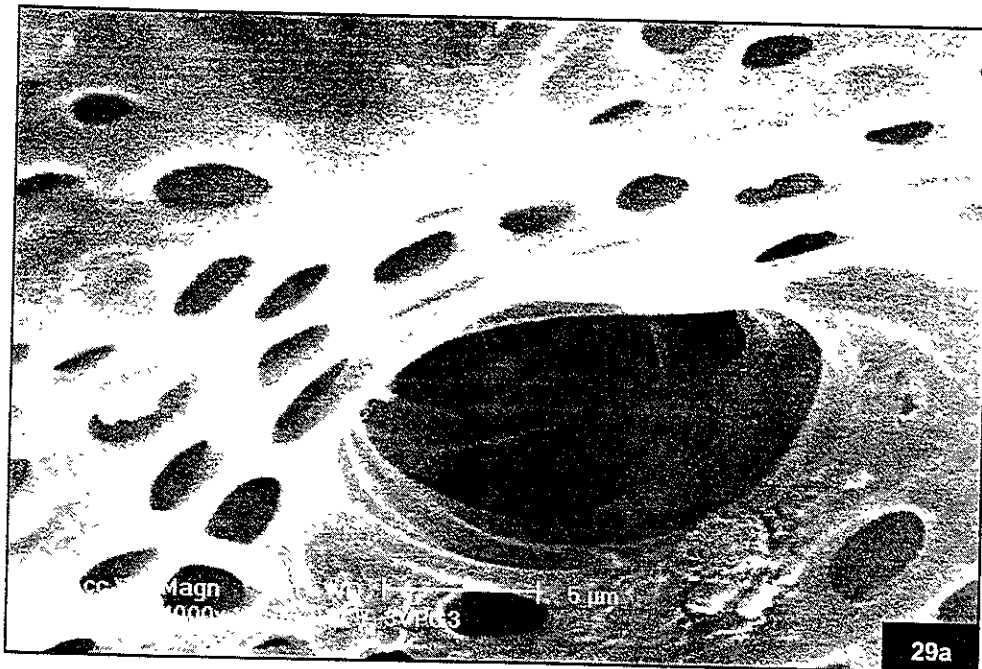
- a. Pared tubular donde se observan macrotúbulos de hasta $20\mu\text{m}$.
- b. Túbulo de $10\mu\text{m}$, en forma aislada.
- c. Túbulo de $10\mu\text{m}$ también en forma aislada

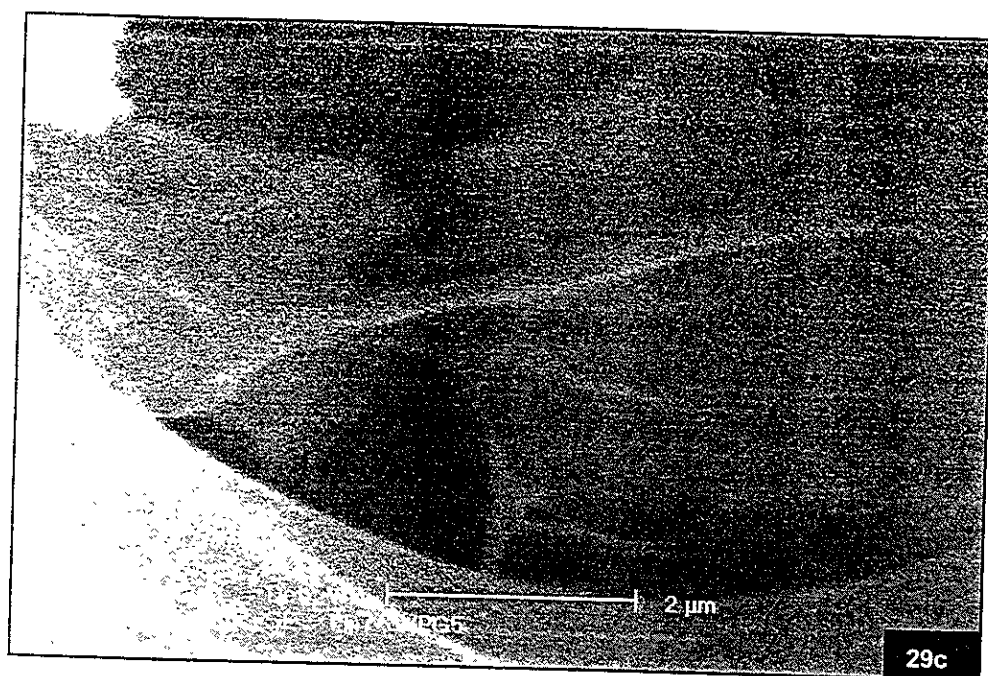
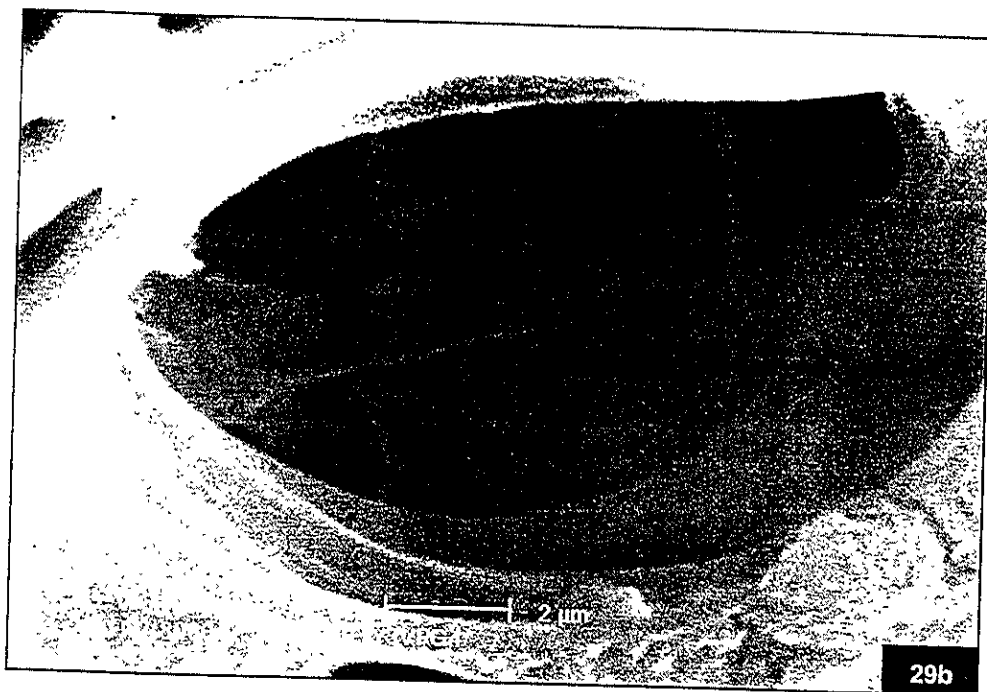
A mayor magnificación en algunos de los macrotúbulos se puede observar los anillos característicos que se forman de dentina secundaria pudiéndose observar mejor por la amplitud del túbulo, muy al fondo se puede observar unas sombras que delatan dos orificios lo cual puede ser la división de este macrotúbulo en dos, la pared tubular como ya se menciono es irregular por la presencia de los anillos, por el contraste de grises da la apariencia de ser más frágil el tejido, es decir menos denso (fotomicrografia 28).



Fotomicrografia 28.- A 4,000 X, de un macrotúbulo al fondo se puede observar la división de este en dos, antes los anillos son más nítidos.

En otro caso el túbulo de igual manera se pueden observar los anillos pero en el interior se aprecia una especie de fibras adheridas a la pared tubular, (fotomicrografias 29).

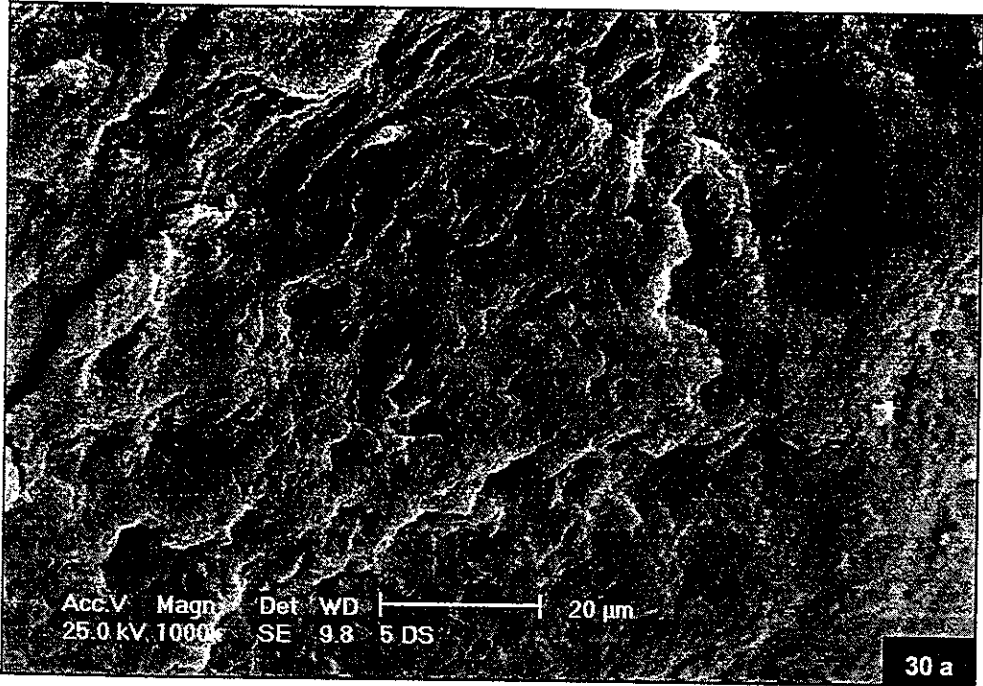


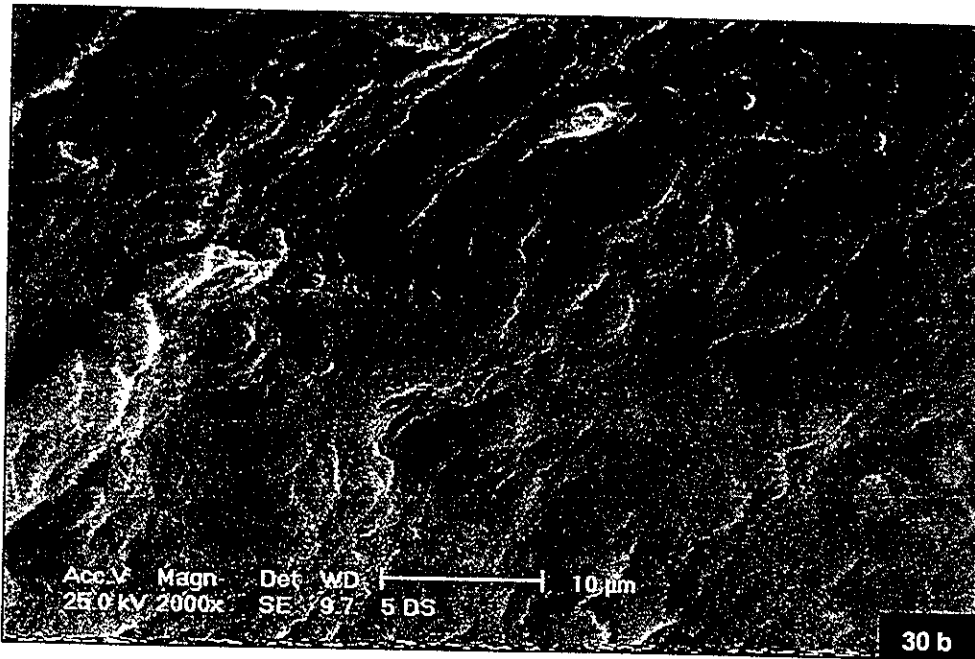


Fotomicrografia 29.- Macrotúbulo de 10 μ m aproximadamente.

- a. A 4,000 X, en el interior se observa fibras que se encuentran adheridas a la pared tubular.
- b. A 8,000 X, nótese la fractura de un anillo en la parte inferior lo que denota su fragilidad.
- c. A 16,000 X, los hilos parece ser que se trata de una red de fibras colágenas

Finalmente en cuanto a estructura, en el grupo III se procedió a obtener el tejido de dentina terciaria que había invadido la cámara pulpar coronal, esta se observa mucho más densa, pero a la vez más frágil que la secundaria la cual obliteraba a los túbulos, se alcanzan a distinguir algunas huellas de los túbulos, se logra ver un acumulo de material que da la apariencia de haber sido depositado por capas de características petrosas, de tal modo que su superficie se observa muy irregular con elevaciones y depresiones, notándose líneas de fractura apenas perceptibles (fotomicrografías 30).





Fotomicrografía 30.- Dentina terciaria o de reparación.

- a. A 1,000 X los tubulos dentinarios y dentina intertubular fue aislada y cubierta por este tipo de dentina.
- b. A 2,000 X nótese el aspecto petroso y vítreo que es característica de la dentina terciaria.

Densidad tubular

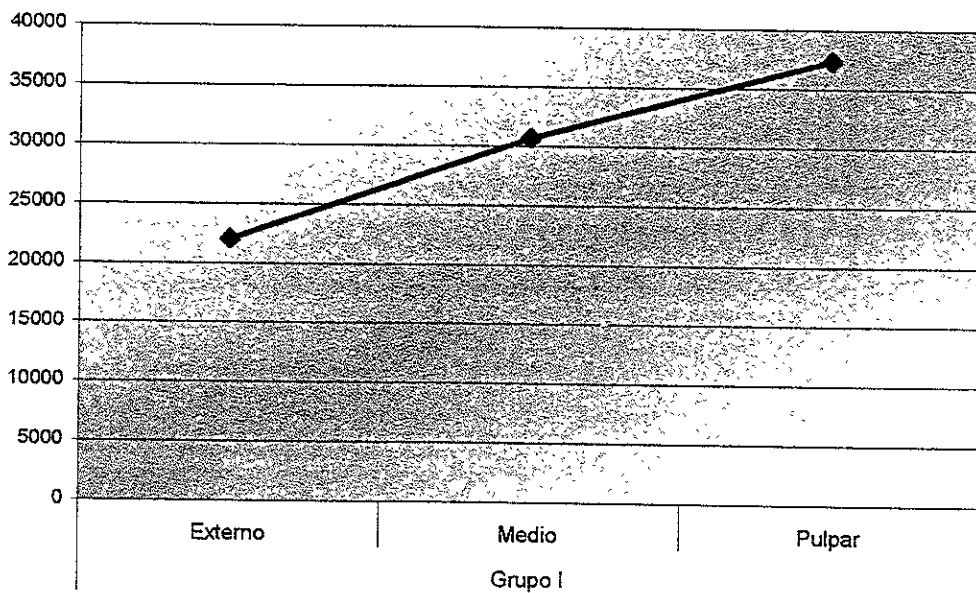
Independientemente de lo observado anteriormente, la mayoría de las muestras presentan el lumen de los túbulos abiertos sobre todo las muestras de los especímenes correspondientes a los grupos I y II, aunque también pero en menor número en el grupo III, esto determina la permeabilidad de la dentina por lo que se estableció la densidad tubular por tercios en cuanto a profundidad.

Todos los valores encontrados se agruparon y se determino la media y desviación estándar. Así pues, en el grupo I la densidad mayor se encontró en el tercio pulpar disminuyendo hacia el tercio externo de acuerdo a la media, y donde hubo una mayor variación fue en el tercio pulpar donde la desviación estándar fue de ± 12227.9929 . Por otro lado esto se observo en todos los especímenes del grupo; a excepción de uno donde el tercio medio

es más denso que el pulpar y en otros la densidad se mantuvo igual en todos los tercios, (tabla 14 y grafica 7).

Medida	Tercios		
	Externo	Medio	Pulpar
1	20000	30000	50000
2	20000	30000	60000
3	20000	30000	40000
4	20000	30000	40000
5	30000	30000	50000
6	20000	30000	30000
7	20000	20000	50000
8	10000	30000	40000
9	20000	40000	20000
10	10000	30000	20000
11	20000	20000	20000
12	30000	30000	40000
13	30000	40000	30000
14	30000	30000	40000
15	30000	40000	30000
X	22000	30666.6667	37333.3333
D.E.	±6761.23404	±5936.1684	±12227.9929

Tabla 14.- Densidad tubular de la superficie vestibular a tres diferentes profundidades en dientes de personas jóvenes de entre 18 a 29 años (Grupo I)



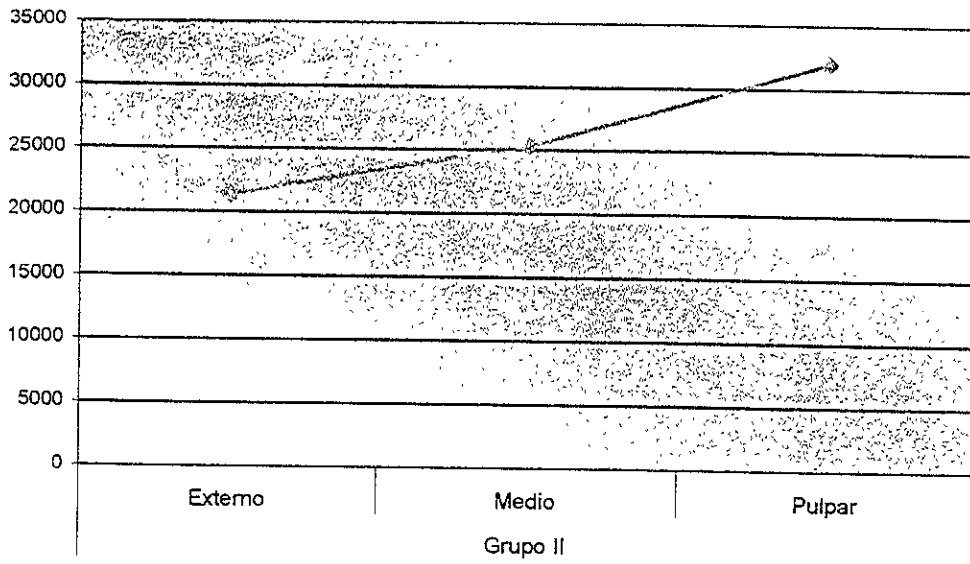
Grafica 7.- Es notorio el aumento en la densidad del tercio externo al pulpar en el grupo I.

En el grupo II sucedió exactamente lo mismo, donde de acuerdo a la media la menor densidad tubular se encontró en el tercio externo y la mayor en el tercio pulpar, si por otro lado se comparan los tercios de cada muestra, en este grupo es donde se nota como la densidad empieza en cada vez más muestras a ser casi similar o igual entre los tercios, por otro lado, la mayor variación de acuerdo a la desviación estándar fue en el tercio externo con ± 7432.23353 , (tabla 15 y grafica 8).

Medida	Tercios		
	Externo	Medio	Pulpar
1	30000	30000	30000
2	20000	30000	40000
3	30000	20000	30000
4	10000	30000	40000
5	20000	20000	20000
6	20000	20000	30000
7	10000	20000	30000
8	20000	20000	40000
9	10000	20000	30000
10	20000	20000	30000
11	30000	40000	40000
12	20000	20000	20000
13	30000	30000	30000
14	30000	30000	40000
15	20000	30000	30000
X	21333.3333	25333.3333	32000
D.E.	± 7432.23353	± 6399.40473	± 6761.23404

Tabla 15.- Densidad tubular de la superficie vestibular a tres diferentes profundidades en dientes de personas adultas de entre 30 y 49 años (Grupo II)

Sin embargo, si se hace una comparación de la media en el grupo I y II, la disminución en el número de túbulos por milímetro cuadrado en cada tercio es notable,(ver tabla 14 y 15).

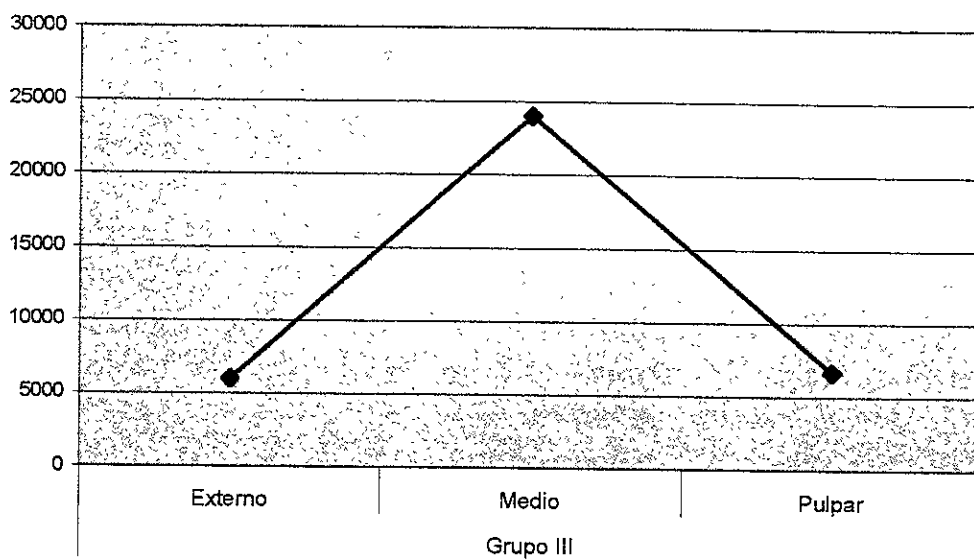


Grafica 8.- El aumento en la densidad tubular del tercio externo al pulpar es característica del grupo I

El grupo III, es el que se diferencia de los otros dos grupos ya que la densidad mayor de acuerdo a la media esta en el tercio medio y la menor en el externo, sin embargo es muy notorio que tanto el tercio externo como el pulpar sean los tercios de menor densidad alcanzándose a notar que hay valores de 0, mientras que el tercio medio no presenta ningún dato con ese valor, es importante señalar que la desviación estándar es idéntica en el tercio externo y medio con un valor de ± 8280.78671 , (tabla 16 y grafica 9).

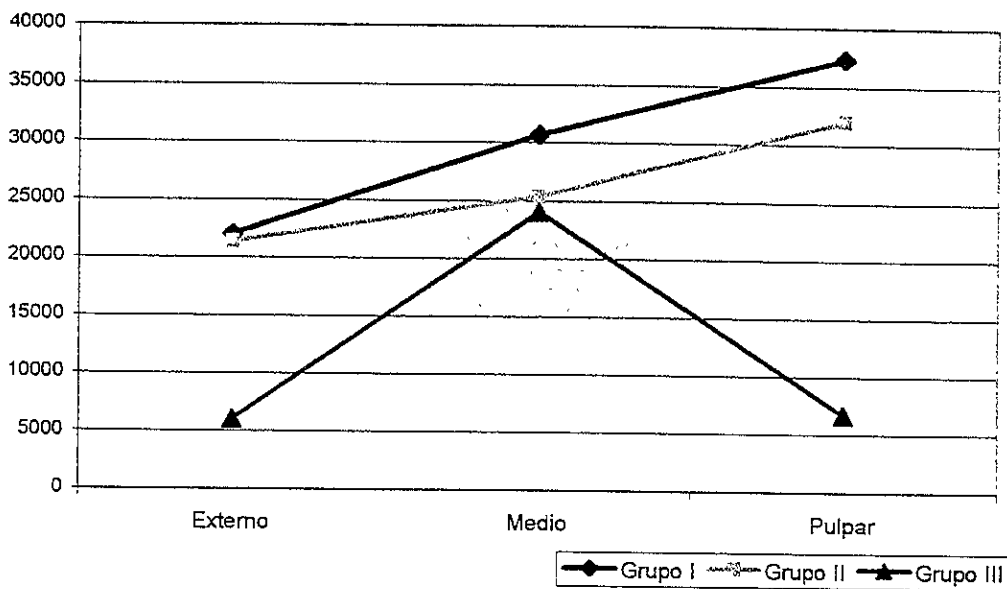
Medida	Tercios		
	Externo	Medio	Pulpar
1	10000	20000	10000
2	0	20000	0
3	20000	30000	0
4	0	20000	0
5	0	10000	0
6	10000	20000	10000
7	10000	20000	0
8	0	30000	20000
9	0	20000	10000
10	20000	30000	0
11	0	20000	10000
12	0	20000	0
13	20000	40000	10000
14	0	40000	20000
15	0	20000	10000
X	6000	24000	6666.66667
D.E.	±8280.78671	±8280.78671	±7237.46864

Tabla 16.- Densidad tubular de personas de 50 años en adelante.



Grafica 9.- La característica de densidad tubular de personas de 50 años en adelante fue la notable diferencia del tercio medio con respecto a los otros tercios.

Si se comparan a los tres grupos, es notorio que la disminución de la densidad tubular se da a medida que aumenta la edad, sin embargo, esto no aplica al tercio medio del grupo III, siendo similar en todos los grupos en este tercio, (grafica 10).



Grafica 10.- La disminución en la densidad del grupo I al III es notable.

Posteriormente y agrupados se realizó el análisis de varianza a una $F= 0.05\%$ de confiabilidad, la cual se realizó en dos formas primeramente por grupos entre tercios y posteriormente por tercios entre grupos.

Los datos arrojados después del tratamiento estadístico, fueron los siguientes:

Análisis de varianza por grupos entre tercios, cuando se analizó el tercio externo contra el tercio medio, en cada grupo se notó que estadísticamente estos dos tercios eran diferentes en el grupo I y III, siendo marcadamente la diferencia en el grupo III, sin embargo en el grupo II no había diferencia entre estos dos tercios, nótese en este grupo como las medias de los dos tercios (externo y medio) se acercan entre sí, es decir como la densidad tubular en el grupo II, va disminuyendo, sin embargo, ya en el grupo de más de 50 años el

tercio medio se mantiene casi similar al del grupo II, pero el tercio externo del grupo III se distingue una marcada diferencia con el tercio externo del grupo II (tabla 17).

Grupo	Tercios		F (p< 0.05)	
	Externo	Medio		
18 a 29 años	22000	30666.66667	13.91765	ES
30 a 49 años	21333.33333	25333.33333	2.49505	NS
+ 50 años	6000	24000	35.4375	ES

Tabla 17.- Análisis de varianza de los tercios externo y medio de los diferentes grupos.

Ahora bien, de la misma manera pero comparando a los tercios externo y pulpar estadísticamente en los grupos I y II fue diferente, pero en el grupo III no hubo diferencia estadística, lo que se percibe es que en este último grupo, el tercio externo y pulpar son muy similares pero difieren del tercio medio, (tabla 18).

Grupo	Tercios		F (p< 0.05)	
	Externo	Pulpar		
18 a 29 años	22000	37333.33333	18.06341	ES
30 a 49 años	21333.33333	32000	16.90566	ES
+ 50 años	6000	6666.66667	0.05512	NS

Tabla 18.- Análisis de varianza de los tercios externo y pulpar de los diferentes grupos.

Al realizar el análisis de varianza de los tercios medio y pulpar de los grupos se noto que estadísticamente en el grupo I no hay significancia, sin embargo en los otros grupos si existe esta diferencia, sobre todo en el grupo III con una F= 37.25984, (tabla 19).

Grupo	Tercios		F (p< 0.05)	
	Medio	Pulpar		
18 a 29 años	30666.66667	37333.33333	3.60825	NS
30 a 49 años	25333.33333	32000	7.69231	ES
+ 50 años	24000	6666.66667	37.25984	ES

Tabla 19.- Análisis de varianza de los tercios medio y pulpar de los diferentes grupos.

Por lo cual se vuelve a lo mismo el grupo tres de acuerdo a los resultados estadísticos se nota que el tercio medio es muy diferente a los tercios externo y pulpar. Así pues, el grupo III al analizar las tres tablas es notorio que el tercio medio es muy diferente estadísticamente a los otros dos tercios.

En el grupo II, si se observan las tres tablas (17-19) únicamente donde se observa datos sin significancia estadística es entre el tercio externo y medio lo cual indica que la pérdida tubular se da, de la parte externa a la pulpar, es decir la obliteración tubular se inicia de la zona más externa de la dentina a la parte más interna, si se analizan los tres datos correspondientes a este grupo en cada tabla se nota que la mayor diferencia existente es la que se da entre el tercio externo y el pulpar, con 16.905 a $F= 0,05$.

En el grupo I de acuerdo a los datos arrojados en las tablas 17, 18 y 19 , sucede lo mismo que en el grupo II, es decir, la densidad tubular aparentemente disminuye del tercio pulpar al externo notándose una marcada diferencia entre el tercio externo y pulpar, sin embargo, no es significativo entre el medio y el pulpar a diferencia del grupo II donde esta similitud existe pero entre otros tercios (externo-medio)

Análisis de varianza por tercios entre grupos, al analizar al grupo I (18-29 años) y al grupo II (30-49 años), en sus diferentes tercios, estos, fueron muy similares, pero donde se noto una diferencia estadística fue en el tercio medio (tabla 20). Sin embargo, donde se denoto drástica y esperadamente una diferencia estadística fue cuando se analizo al grupo I (18-29 años) y al grupo III (más de 50 años) en todos sus tercios, (tabla 21). Cuando se analizo a los grupos II y III, lo lógico era esperar una diferencia estadísticamente significativa en todos los tercios, más sin embargo, en el tercio medio no la hubo lo que da la apariencia que este tercio quedo aislado de toda actividad odontoblastica, que pudiera continuar obliterando a los túbulos, (tabla 22).

Tercios	Grupos		F (p< 0.05)	
	I	II		
Externo	22000	21333.33333	0.06604	NS
Medio	30666.66667	25333.33333	5.6	ES
Pulpar	37333.33333	32000	2.18537	NS

Tabla 20.- Análisis de varianza de los tercios entre los grupos I y II.

Grupo	Grupos		F (p< 0.05)	
	I	III		
Externo	22000	6000	33.6	ES
Medio	30666.66667	24000	6.42202	ES
Pulpar	37333.33333	6666.66667	69.86792	ES

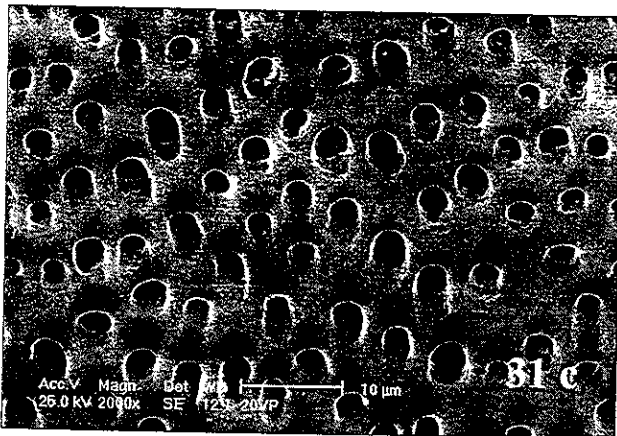
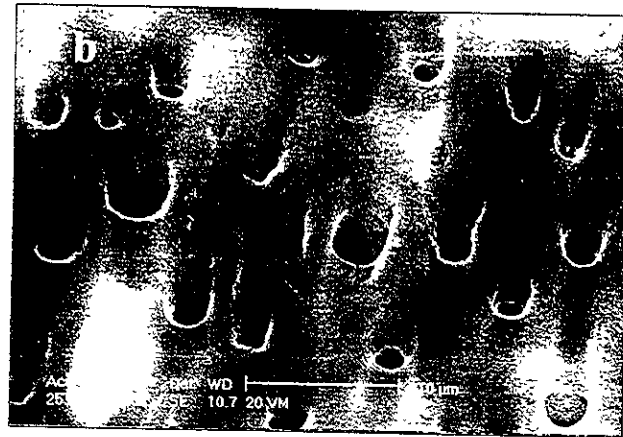
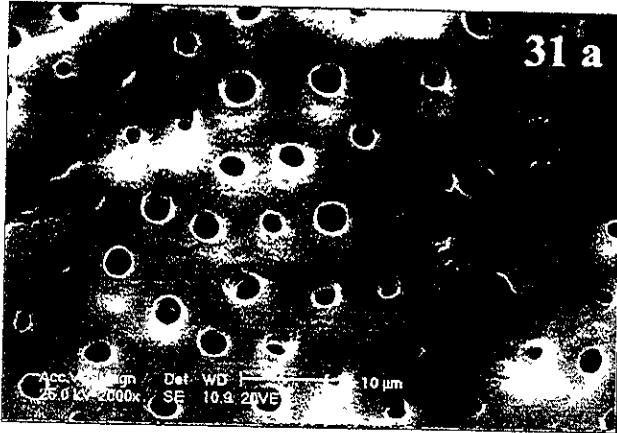
Tabla 21.- Análisis de varianza de los tercios entre los grupos I y III.

Grupo	Grupos		F (p< 0.05)	
	II	III		
Externo	21333.33333	6000	28.48462	ES
Medio	25333.33333	24000	0.24348	NS
Pulpar	32000	6666.66667	98.13592	ES

Tabla 22.- Análisis de varianza de los tercios entre los grupos II y III.

Diámetro tubular

Por otro lado, otro de los aspectos que se contemplaron en este estudio y que se establecieron fue el diámetro del lumen de los túbulos, la variabilidad que se encontró, fue muy marcada, existieron de todas las medidas es decir, mientras que en los tercios externo y medio fue muy heterogéneo el diámetro, en el tercio pulpar es un poco más homogéneo aunque sigue siendo muy variado, (fotomicrografías 31). Por lo que se determino no realizar un análisis estadístico y únicamente tomar las medidas basándose en un mínimo y un máximo, para que fuera lo más cercano a lo observado.



Fotomicrografía 31. – El diámetro tubular es variable sobre todo en los tercios más externos.

a.- En el tercio externo las medidas son heterogéneas, en esta zona se pueden apreciar túbulos que miden desde 0 hasta 6 μ m de diámetro.

b.- En el tercio medio sucede lo mismo.

c. – Sin embargo, en el tercio pulpar, el lumen es más homogéneo. También se puede notar que el diámetro mínimo aumenta a mayor profundidad.

Así pues, en el grupo I el mayor diámetro se mantuvo idéntico en todos los tercios, pero en la mínima se logra percibir que el lumen va aumentando a medida que se acerca a la pulpa. Sucedió lo mismo para el grupo II, el diámetro máximo no vario en ninguno de los tercios, pero el diámetro mínimo fue incrementándose del tercio externo al pulpar. Ahora bien, al comparar al grupo I con el II, el diámetro mínimo es el que se mantiene igual o similar entre un grupo y otro, mientras que el diámetro máximo es el que cambia disminuyendo una micra en todos los tercios por igual.

Como sucedió en la obtención de los resultados para la densidad, en el grupo de dientes obtenidos de personas de más de 50 años, fue donde se presento la disminución más marcada, pero nuevamente se presento únicamente en los tercios externo y pulpar, sin embargo, en el medio se mantuvo similar a los diámetros obtenidos de este mismo tercio en los grupos I y II, a pesar que al MEB se alcanza a observar depósitos minerales en la pared tubular. (Tabla 23).

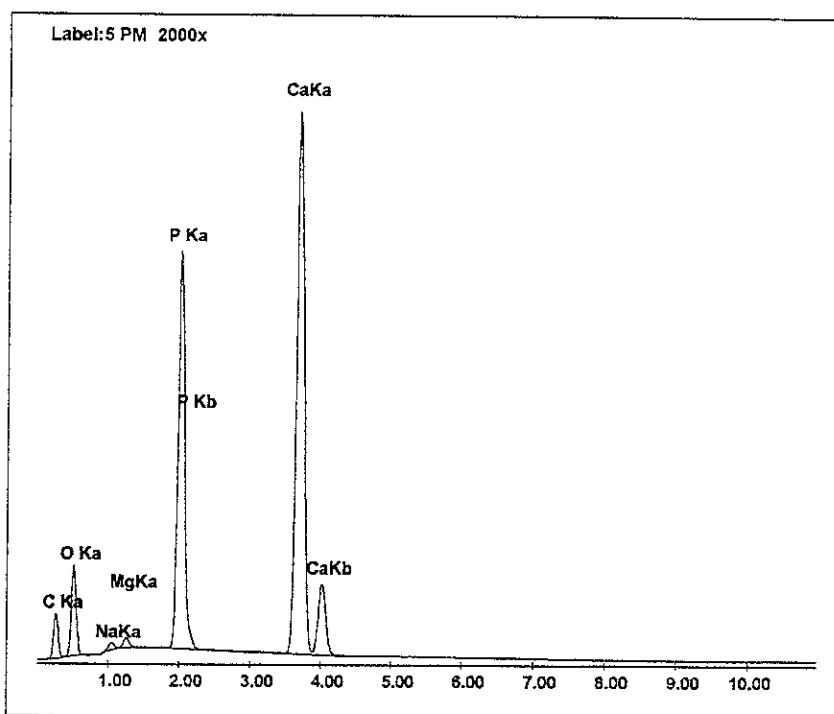
Grupo	Tercio Externo	Tercio Medio	Tercio Pulpar
I	0-6 μm	1-6 μm	1.5-6 μm
II	0-5 μm	1-5 μm	1.5-5 μm
III	0-3 μm	1-5 μm	0.5-3 μm

Tabla 23. – Diámetro tubular es muy variable, de ahí que las siguientes medidas se tomaron teniendo en cuenta, la medida mínima y la máxima, encontrada en cada tercio, de cada grupo.

Se analizo también la pared tubular punto que no estaba contemplado localizando macrotúbulos de hasta de 10 y 20 μm , (ver fotomicrografías 27, 28 y 29).

Microanálisis

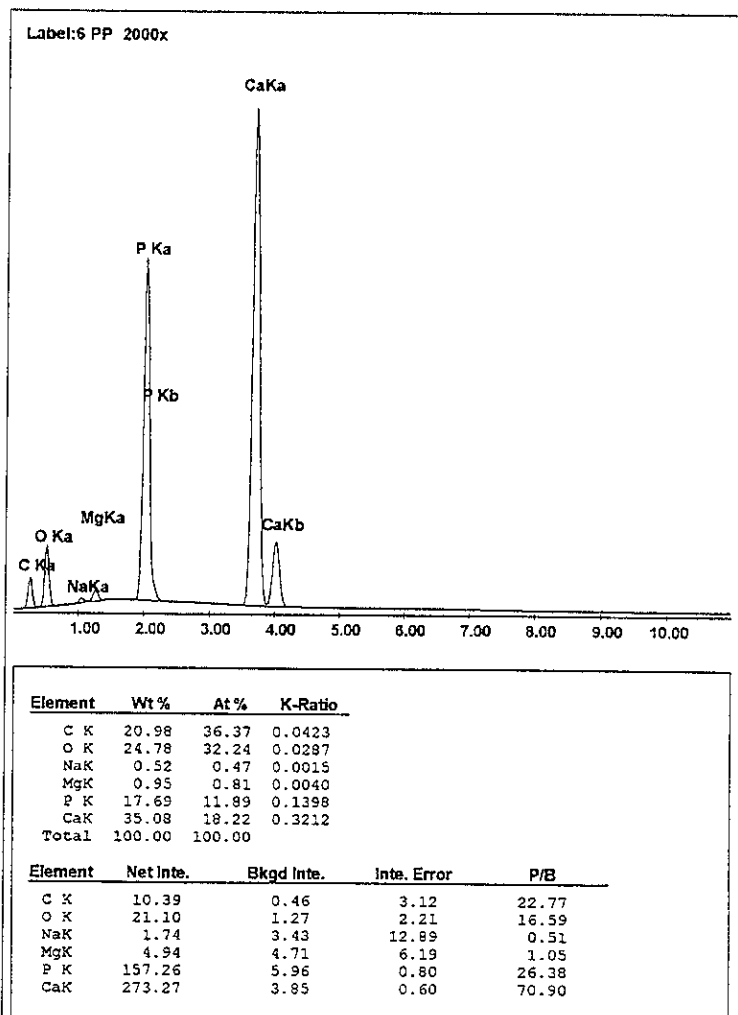
La fase inorgánica de las muestras de dentina muestran que los principales elementos localizados por la sonda EDAX, fueron los mismos en todas las muestras, sin embargo, este vario de acuerdo a la profundidad donde se estaba realizando el estudio. Los elementos encontrados fueron: Carbono (C), Oxígeno (O), Magnesio (Mg), Sodio (Na), Fósforo (P) y Calcio (Ca). Siendo el Ca y P los de mayor presencia, (espectrograma 1). Es importante mencionar que el Mg, y Na, solamente en algunos dientes y muestras están presentes y que más adelante se mencionaran.



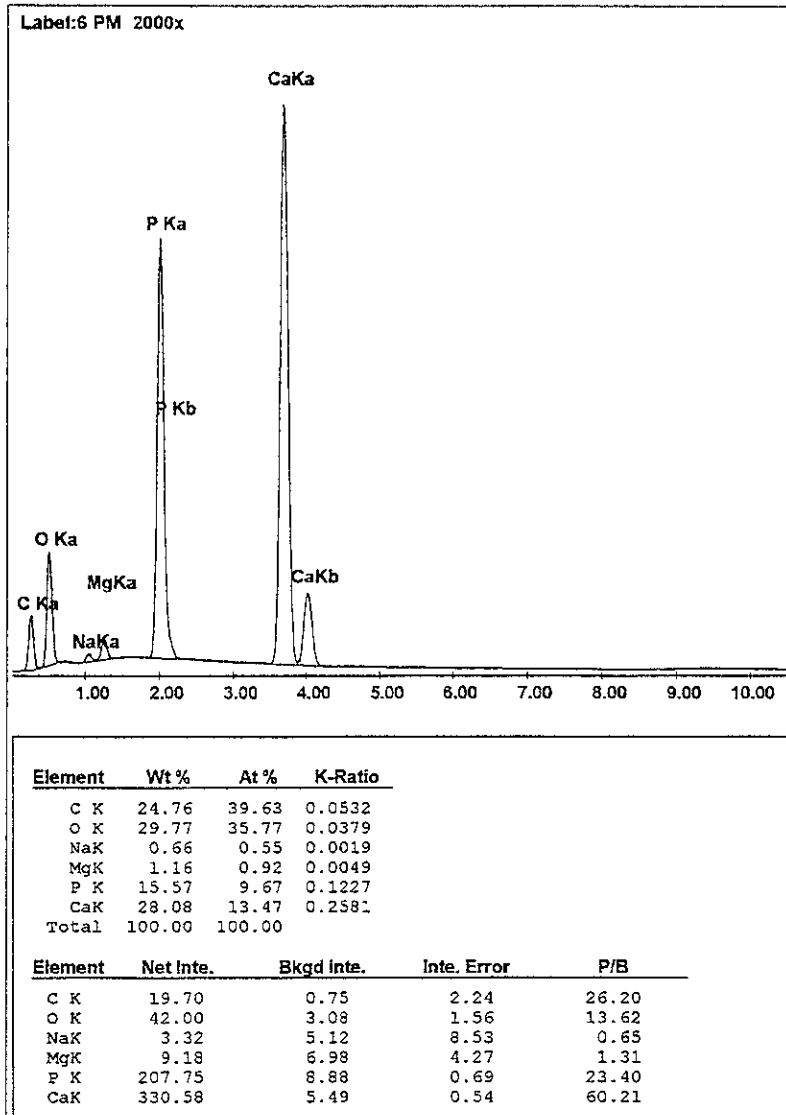
Espectrograma 1. – Se puede notar la presencia del Magnesio (Mg) y Sodio (Na) los cuales solamente hay vestigios.

Algunos especímenes tanto del grupo I, II y III mostraron una tendencia a disminuir el porcentaje elemental del tercio pulpar al externo sobre todo en el Ca^{+2} y el P^{+5} , como son los ejemplos que a continuación se detallan.

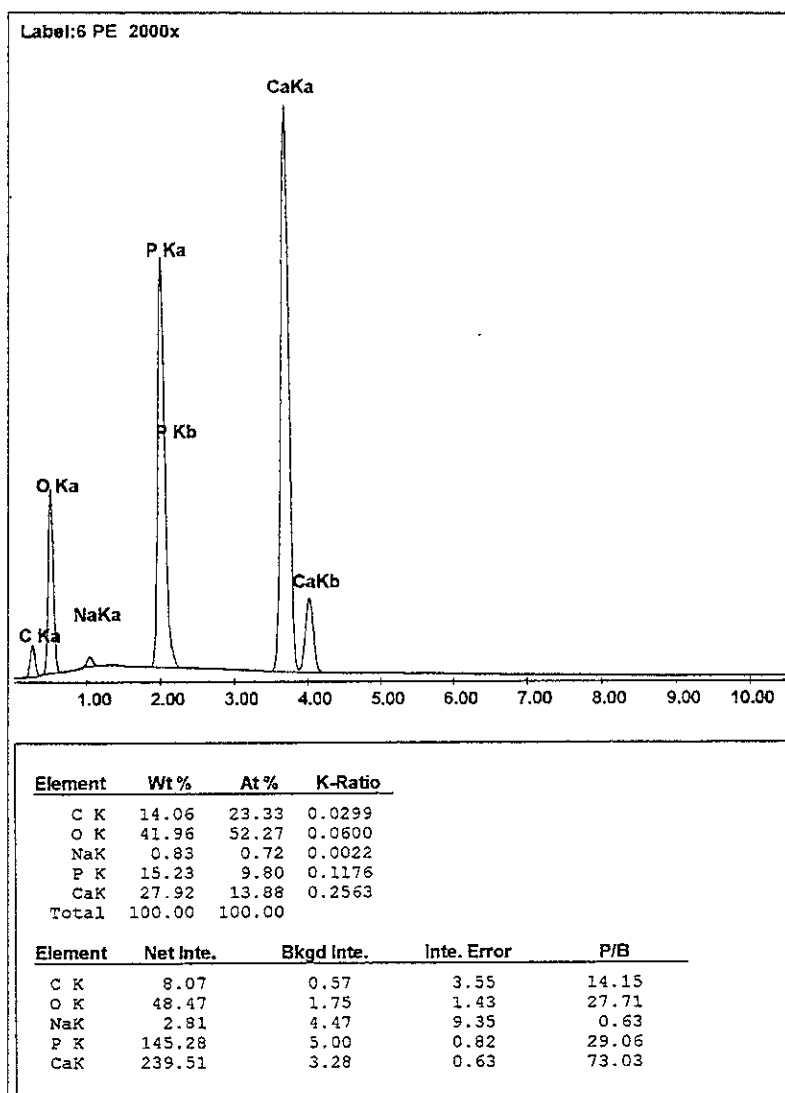
En el grupo I, en las muestras pertenecientes a un mismo espécimen se aprecia que el porcentaje de Ca^{+2} y P^{+5} , fue disminuyendo del tercio pulpar al tercio externo, el C^{+4} esta presente en todos los tercios pero en el externo disminuye notablemente sin embargo el O^{-2} en este tercio se encuentra con mayor porcentaje; el Mg^{+2} también disminuye paulatinamente a medida que se va acercando al tercio externo donde se encontraron vestigios o ausencia de este; en cuanto al Na^{+1} fue más escaso que el Mg^{+2} , solo se encontraron vestigios y en la mayoría de los dientes se noto la ausencia de este, únicamente se localizo en el tercio medio y externo con niveles fidedignos y en el tercio pulpar se encontraron vestigios dando un índice de error alto, no siendo totalmente reales los valores de este elemento en este tercio (espectrograma 2, 3 y 4).



Espectrograma 2. - Tercio pulpar del grupo I, se nota que el Mg^{+2} se encuentra presente con valores menores al 1%, sin embargo el Na^{+1} presenta un índice de error alto, por lo que para efectos estadísticos se considera como 0^{-2} .



Espectrograma 3. – Tercio medio, todos los elementos presentes tienen nivel de error es adecuados por lo cual es confiable el dato porcentual de cada uno de ellos.

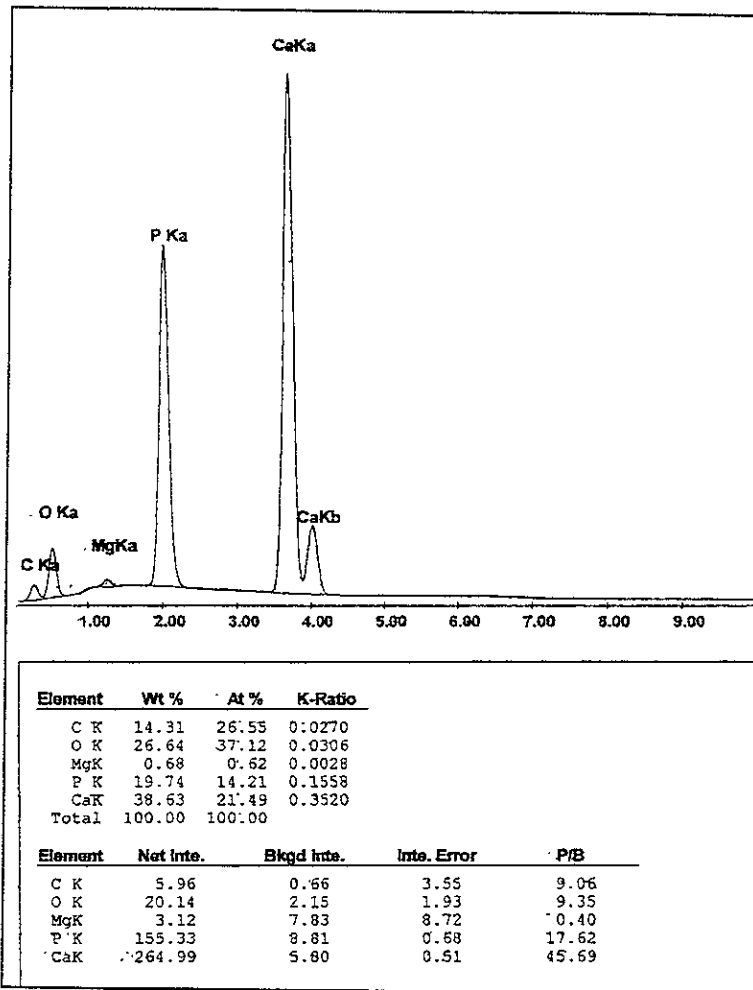


Espectrograma 4. – Tercio externo, nótese que el magnesio desaparece y el sodio se hace más aparente así como el oxígeno, sin embargo el calcio y el fósforo disminuyen.

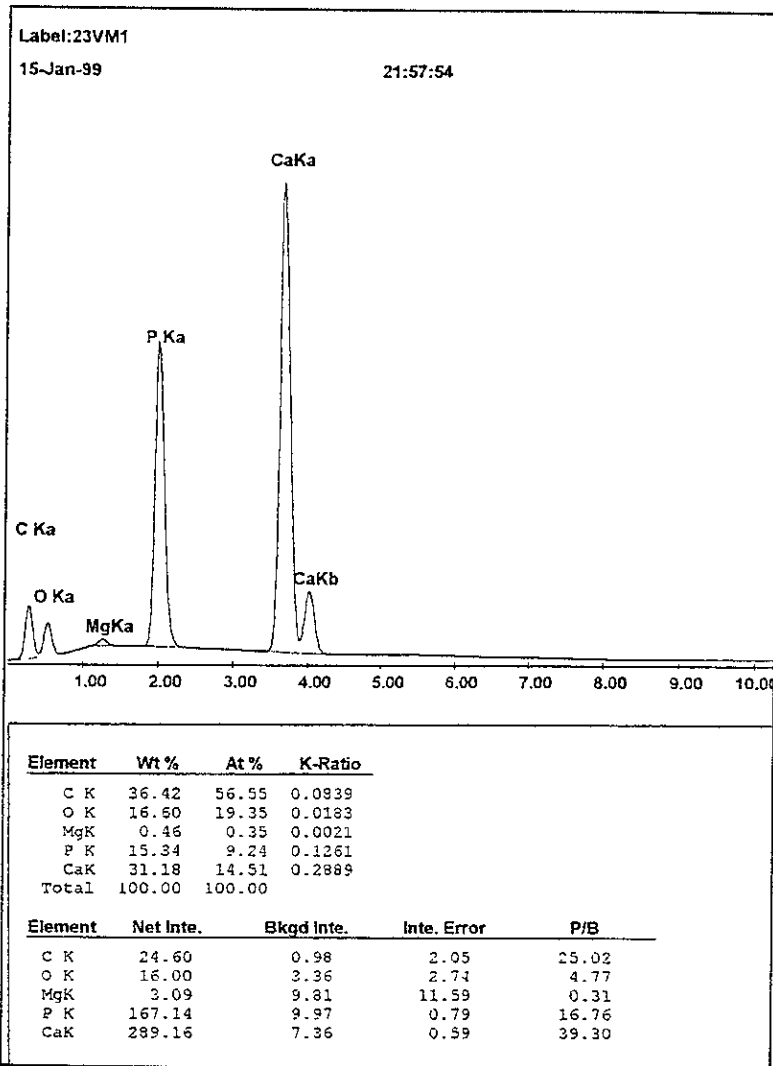
En el grupo II aumento el porcentaje elemental a excepción del Mg^{+2} que solo se encontró presente en el tercio pulpar y el Na^{+1} que desapareció, es importante mencionar que el Mg^{+2} solo se encontró en algunas de las muestras correspondientes al tercio pulpar y medio no siendo muy fidedignas en este último ya que se encontraron vestigios, habiendo en el porcentaje elemental un índice de error alto. Con esto se nota que el Mg solo esta

presente en los dos tercios más profundos tanto en este grupo como en el grupo I.

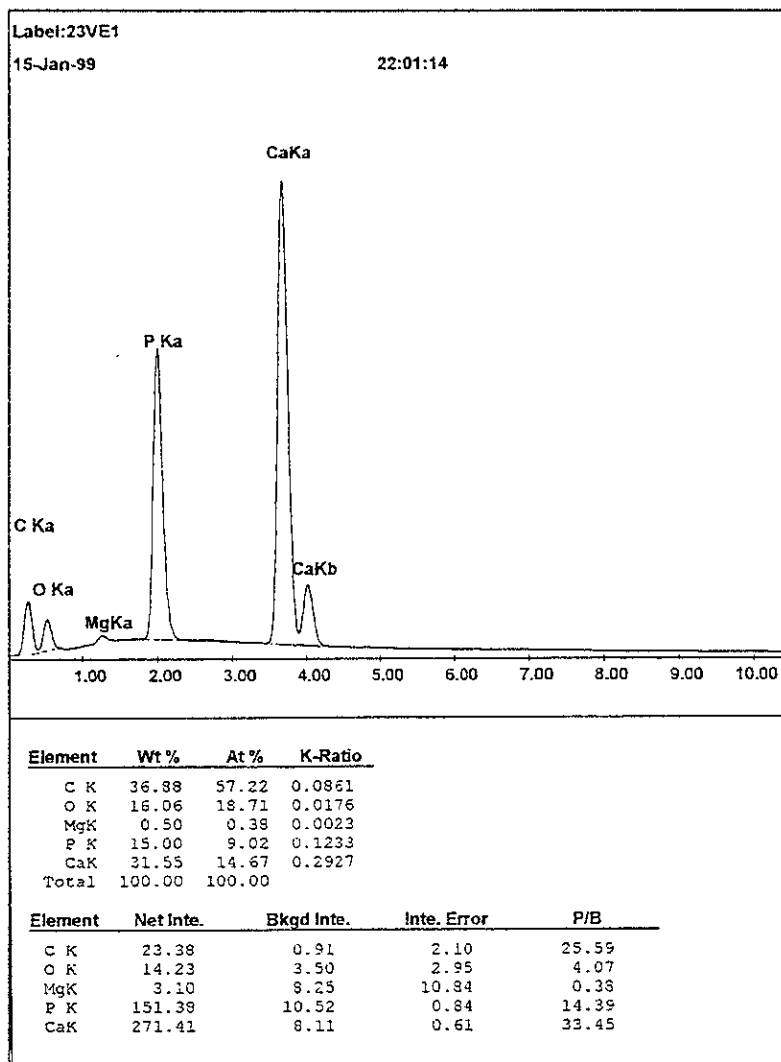
El Ca independientemente que aumento el porcentaje con respecto al grupo I, este se comporto de igual manera que en grupo anterior es decir fue disminuyendo el porcentaje del tercio pulpar al externo, que es exactamente lo mismo que sucedió con el $C^{\pm 4}$ y $P^{\pm 3,5,4}$, (espectrografías 5, 6 y 7).



Espectrografía 5.- Del tercio pulpar, se puede percibir que Mg^{+2} esta presente aunque con valores muy bajos pero sin haber error, de tal manera que se considera el valor como real, por otro lado el Na^{+1} no esta presente.



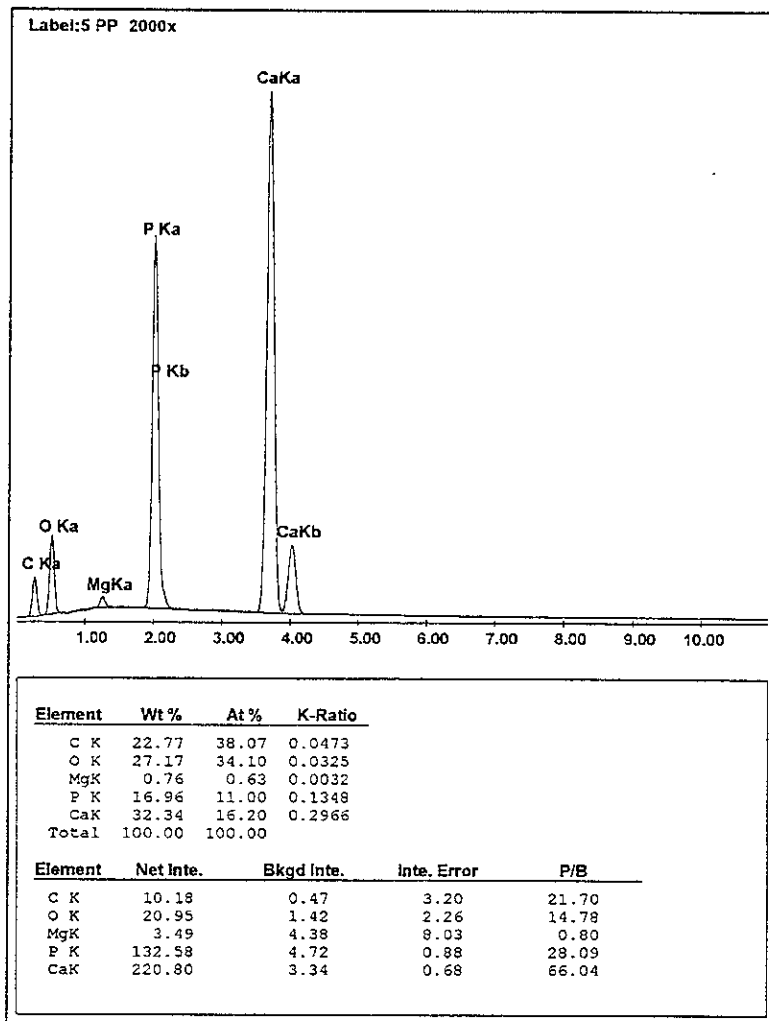
Espectrografía 6.- En el tercio medio el Ca^{+2} por lo menos a lo que a este espécimen corresponde su porcentaje es menor al del tercio anterior al igual que el $\text{P}^{+3,5, 4}$. Sigue apareciendo el Mg^{+2} pero con un índice de error alto por lo que el valor no se considera, es decir se considera como cero.



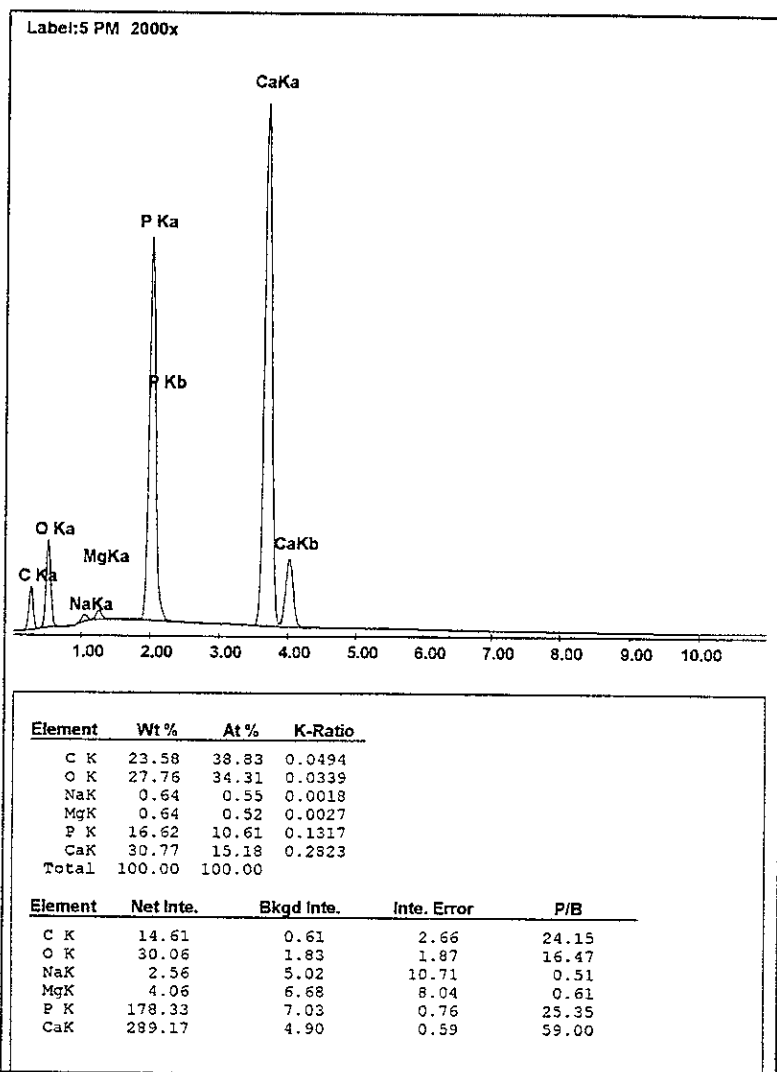
Espectrografía 7.- Tercio externo, se puede decir que los valores del Ca^{+2} y $\text{P}^{\pm 3.5, 4}$ se mantuvieron iguales que en tercio medio, el Mg^{+2} no se considero nuevamente por su índice de error alto.

En el grupo III lo más importante que destacar es la ausencia del Na^{+1} en todos los tercios, únicamente en un espécimen y un tercio que fue el externo se encontraron vestigios de este elemento por otro lado el Mg^{+2} estuvo presente en todos los tercios, sin embargo no en todos los especimenes en cuanto al Ca^{+2} y $\text{P}^{\pm 3.5, 4}$, se percibió un mayor porcentaje de estos elementos

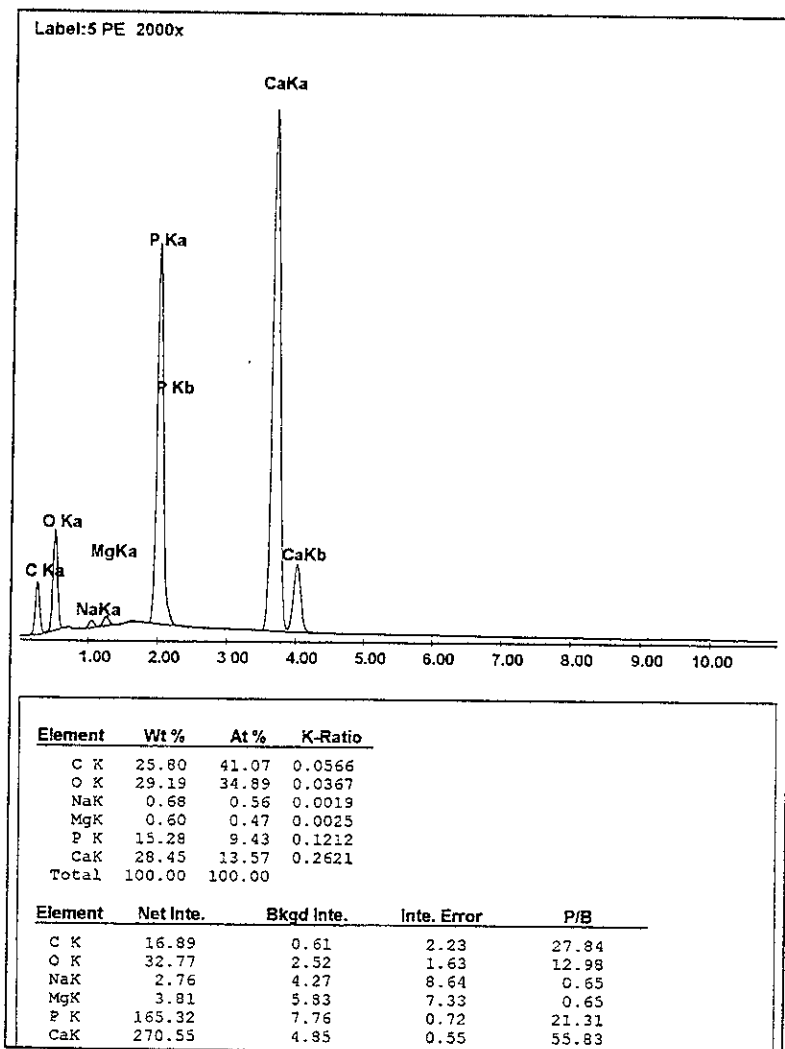
en el tercio pulpar y menor porcentaje en el tercio externo que fue representativo en los tres grupos. El $C^{=4}$ empezó a disminuir en este grupo, (espectrografías, 8, 9 y 10).



Espectrografía 8 .- Tercio pulpar, lo importante que hay que destacar es que el Mg^{+2} presente en este tercio tiene un índice de error aceptable por lo que se tomo en cuenta.



Espectrografía 9.- Tercio medio, nuevamente aparece el Na^{+1} pero con un índice de error alto (no se tomó en consideración), con respecto a los demás elementos no hay datos significativos que difieran con el tercio pulpar.



Espectrografía 10.- Tercio externo, los niveles de C^{+4} y O^{-2} fueron mayores y los del Ca^{+2} y $P^{+3,5,4}$, menores, en este tercio el Na^{+1} y el Mg^{+2} los valores presentes fueron fidedignos.

Sin embargo, al agrupar los resultados de las muestras de los diferentes especimenes del grupo I, no hubo una tendencia central, es decir, los resultados porcentuales de los elementos fueron muy diferentes en cada espécimen mientras unos tenían una tendencia a disminuir del tercio pulpar al tercio externo, como los ejemplos anteriores, otros tendían a ser todo lo contrario, mientras otros presentaban el mayor porcentaje en el tercio medio, esto se presento sobre todo con el Ca^{+2} y $P^{+3,5,4}$, de tal manera que el porcentaje elemental fue diferente en cada muestra, en los diferentes tercios.

Sin embargo, el Mg^{+2} en el tercio pulpar, se noto la presencia en los dos tercios más internos, es de notar que estuvo presente en todas las muestras, pero, en el tercio externo solo se le encontró en una sola muestra, el Na de hecho no tuvo presencia en ninguna muestra. En el tercio medio el Mg^{+2} también estuvo presente en todas las muestras, el Na, empezó a notarse en una sola muestra, ya en el tercio externo el Mg^{+2} empezó a desaparecer, siendo en una sola muestra donde se encontró, sin embargo el sodio aunque también se hizo presente en una sola muestra el valor fue más alto, (tabla 24, 25 y 26).

Elementos del tercio pulpar del grupo I						
	Ca	P	Mg	Na	O	C
1	35.08	17.69	0.95	0.52	24.78	20.98
2	29.61	14.93	0.66	0	17.95	36.84
3	31.21	15.16	0.59	0	15.75	37.3
4	31.78	16.71	1.13	0	15.56	34.83
5	28.46	14.73	0.68	0	20.56	35.57
X	31.228	15.844	0.802	0	18.92	33.104
D.E	2.52104542	1.29440334	0.22884493	0	3.85060385	6.84864439

Tabla 24.- Los valores porcentuales fueron muy diferentes en las diferentes muestra sobre todo en cuanto al Ca^{+2} , $P^{+3,5,4}$ y O^{-2} , sin embargo por lo que respecta a los demás elementos fue más homogéneo los resultados obtenidos, es importante mencionar que el valor del Na^{+1} sombreado tuvo un índice de error muy alto por lo que se considero con valor de cero.

Elementos del tercio medio del grupo I						
	Ca	P	Mg	Na	O	C
1	28.08	15.57	1.16	0.66	29.77	24.76
2	25.91	13.33	0.66	0	18.75	41.34
3	34.22	17.2	0.83	0	13.9	33.84
4	34.65	17.11	0.58	0	16.56	31.1
5	31.63	15.55	0.53	0	17.85	34.42
X	30.898	15.752	0.752	0.132	19.366	33.092
D.E	3.82329308	1.57169335	0.25489213	0.29516097	6.09655066	5.99464094

Tabla 25.- En el tercio medio del grupo I se observo lo mismo que en la tabla anterior, sin embargo, en este tercio los valores obtenidos en cada muestra, muestran que esa heterogeneidad correspondiente mayormente a Ca^{+2} , $P^{+3,5,4}$ y O^{-2} , en el tercio anterior, en este tercio se ve incrementado el C^{+4} .

Elementos del tercio externo del grupo I						
	Ca	P	Mg	Na	O	C
1	27.92	15.23	0	0.83	41.96	14.06
2	28.37	13.81	0	0	17.09	40.98
3	36.82	14.99	0	0	13.36	34.82
4	35.89	18.48	0.73	0	13.34	31.55
5	28.62	27.35	0	0	16.35	41.35
X	31.524	17.972	0.146	0.166	20.42	32.552
D.E	4.42942773	5.52127884	0.32646592	0.37118728	12.1613671	11.141565

Tabla 26.- En este tercio la diferencia de los valores de las muestras muestran una tendencia a ser más homogéneas a excepción del $C^{\pm 4}$.

En el grupo II, en el tercio pulpar estos valores porcentuales de cada uno de los elementos encontrados por la sonda EDAX, empesaron a ser ligeramente más homogéneos, es decir, tendieron a presentar en el caso por ejemplo del Ca^{+2} . Una tendencia más central que estuvo entre el 39.67 que fue el valor más alto y 37.89 que fue el valor más bajo, este fenómeno se percibió también en los demás elementos, a excepción del $C^{\pm 4}$, nótese también que el Mg^{+2} todavía esta presente en todas las muestras a este nivel, mientras que el Na^{+1} no se encuentra en ninguna muestra, (tabla 27).

En el tercio medio, sucedió exactamente lo mismo en todos los elementos, hasta el $C^{\pm 4}$, ya se noto esta tendencia central, es decir, los valores ya fueron más homogéneos, de igual manera el Mg^{+2} también se encuentra pero únicamente vestigios con niveles de error alto por lo cual no se tomaron en cuenta, el Na^{+1} también se encuentra ausente, (tabla 28).

El tercio externo se mantuvo con las mismas características que el tercio anterior aunque con diferentes valores, por otro lado el Mg^{+2} al igual que el Na^{+1} presentan valores de 0^{-2} en todas las muestras. (tabla 29).

Elementos del tercio pulpar del grupo II						
	Ca	P	Mg	Na	O	C
1	38.63	19.74	0.68	0	26.64	14.31
2	39.67	21.45	1.15	0	25.94	34.76
3	38.54	19.31	1.08	0	26.61	33.17
4	38.75	20.17	0.38	0	26.86	36.89
5	38.3	18.94	0.22	0	25.97	36.14
X	38.778	19.922	0.702	0	26.404	31.054
D.E	0.52523328	0.97060291	0.41233482		0.42122441	9.46704442

Tabla 27.- Los valores de los elementos obtenidos en las diferentes muestras tuvieron ya en este grupo una tendencia a tener valores más centralizados, independientemente del C^{±4} en el cual se observan todavía valores muy descentralizados.

Elementos del tercio medio del grupo II						
	Ca	P	Mg	Na	O	C
1	31.18	15.34	0.46	0	16.6	36.42
2	32.11	16.1	0.33	0	16.78	34.97
3	29.21	15.94	0	0	15.51	36.04
4	31.52	14.58	0	0	17.13	35.59
5	30.13	15.54	0	0	17.47	35.88
X	30.83	15.5	0	0	16.698	35.78
D.E	1.15665466	0.59732738	0	0	0.74335052	0.54300092

Tabla 28.- En el tercio medio, la relación de los valores de cada elemento fueron más homogéneos incluyendo al C^{±4}, pero el Mg⁺² presente en el grupo anterior de hecho desapareció en este tercio, ya que los valores encontrados (sombreados) tienen un alto índice de error.

Elementos del Tercio externo del grupo II						
	Ca	P	Mg	Na	O	C
1	31.55	15	0	0	16.06	36.88
2	33.47	14.97	0	0	16.36	36.78
3	32.12	15.02	0	0	15.94	35.98
4	31.95	15.27	0	0	16.49	36.92
5	32.58	14.6	0	0	16.6	37
X	32.334	14.972	0	0	16.29	36.712
D.E	0.73466319	0.23993749			0.28124722	0.41679731

Tabla 29.-El tercio externo fue muy similar al medio en cuanto a sus valores, estos fueron todavía más homogéneos, es importante mencionar que el Mg⁺² y el Na⁺¹ desaparecieron ya totalmente en este tercio, es decir, ya ni vestigios como en el tercio anterior.

En el grupo III, al analizar al tercio pulpar, en algunos elementos se volvió a la tendencia descentralizada, en cuanto a los valores elementales encontrados en cada muestra como es caso del O⁻² y el C⁺⁴, sin embargo, los demás elementos se mantuvieron con las mismas características que el grupo anterior, es decir, más centralizados los valores, el Mg⁺² se encontró en todas las muestras con índices de error bajo, el Na⁺¹ no estuvo presente en ninguna muestra, (tabla 30).

El tercio medio se mantuvo con la misma tendencia aunque con una ligera tendencia a la descentralización y con diferentes valores, el Mg⁺² empezó a perderse en algunas muestras y en otras no, (tabla 31).

El tercio externo, se caracterizo por tener en este grupo los valores más descentralizados en todos sus elementos, por otro lado, la presencia del Mg⁺² fue muy similar al tercio anterior aunque con valores más bajos, el Na⁺¹ solamente estuvo presente en una de las muestras con un limite de confiabilidad adecuado, (tabla 32).

Elementos del Tercio pulpar del grupo III						
	Ca	P	Mg	Na	O	C
1	32.34	16.96	0.76	0	27.17	22.77
2	31.51	16.63	1.01	0	18.5	32.43
3	31.96	16.57	0.79	0	22.44	28.07
4	32.02	16.82	0.91	0	23.15	27.43
5	31.53	16.97	0.89	0	22.9	27.3
X	31.872	16.79	0.872	0	22.832	27.6
D.E	0.35237764	0.18452642	0.10009995	0	3.07586898	3.42773978

Tabla 30.- En este grupo y en especial este tercio los valores son más centralizados el Mg⁺² como en todos los grupos, se encuentra sobre todo en este tercio.

Elementos del Tercio Medio del grupo III						
	Ca	P	Mg	Na	O	C
1	30.77	16.62	0.64	0	27.76	23.58
2	31.9	12.52	0	0	6.75	48.57
3	31.41	18.64	0.75	0	19.05	23.79
4	37.75	16.05	0.91	0	15.72	25.79
5	35.52	16.37	0	0	19.97	27.81
X	33.47	16.04	0.46	0	17.85	29.908
D.E	3.02156416	2.21335718	0.43075515	0	7.61395758	10.5724084

Tabla 31.- Se nota como valores de todos los elementos inician una descentralización, el Mg^{+2} se empieza a perder en algunas muestras.

Elementos del Tercio Externo del grupo III						
	Ca	P	Mg	Na	O	C
1	28.45	15.28	0.6	0.68	29.19	25.8
2	19.76	10.39	0.64	0	21.73	47.47
3	32.11	16.29	0	0	18.51	32.54
4	26.21	13.53	0.68	0	22.31	35.37
5	27.32	14.41	0	0	23.97	35.17
X	26.77	13.98	0.384	0.136	23.142	35.27
D.E	4.50261591	2.25286484	0.35168167	0.30410524	3.91807606	7.84209475

Tabla 32.- Se puede notar la descentralización todavía mayor en este tercio de los valores de los elementos, menor proporción en los valores del Mg^{+2} y la aparición del Na^{+1} en una muestra.

Al agrupar los valores de la media por tercios en forma general, es decir de todos los grupos, se observó una tendencia a disminuir del tercio pulpar al externo, el porcentaje de Ca^{+2} , en los tres grupos aunque no es muy aparente en el grupo I; el $P^{+3,5, 4}$ no tuvo la característica del elemento anterior sus valores fueron muy variados para poder establecer la tendencia de este elemento en los diferentes tercios y grupos; el Mg^{+2} , en todos los grupos apareció con mayor porcentaje en el tercio pulpar aparentemente declinando su porcentaje hacia el externo, el Na^{+1} solamente estuvo presente en los tercios más externos; el O^{-2} al igual que el $P^{+3,5, 4}$, sus valores en los tercios y grupos, no presentaron una tendencia para poder definir exactamente el porcentaje por tercio o por grupo, lo mismo paso con el C^{+4} , sin embargo, se nota que este disminuye del grupo I al III, (tabla 33, 34 y 35).

Tercios	Grupo I					
	Ca	P	Mg	Na	O	C
Pulpar	31.228	15.844	0.802	0	18.92	33.104
Medio	30.898	15.752	0.752	0.132	19.366	33.092
Externo	31.524	17.972	0.146	0.166	20.42	32.552

Tabla 33.- Valores promedio de los elementos que se encuentran en los dientes de personas de entre los 18 y 28 años en cada uno de sus tercios.

Tercios	Grupo II					
	Ca	P	Mg	Na	O	C
Pulpar	38.778	19.922	0.702	0	26.404	31.054
Medio	30.83	15.5	0	0	16.698	35.78
Externo	32.334	14.972	0	0	16.29	36.712

Tabla 34.- Valores promedio de los elementos que se encuentran en los dientes de personas de entre los 29 y 49 años en cada uno de sus tercios.

Tercios	Grupo III					
	Ca	P	Mg	Na	O	C
Pulpar	31.872	16.79	0.872	0	22.832	27.6
Medio	33.47	16.04	0.46	0	17.85	29.908
Externo	26.77	13.98	0.384	0.136	23.142	35.27

Tabla 35.- Valores promedio de los elementos que se encuentran en los dientes de personas de los 50 años en adelante en cada uno de sus tercios.

Ahora bien, si se analizan estos mismos datos pero ahora en tercios entre grupos, se observara que:

El Ca^{+2} en el tercio pulpar tuvo mayor presencia en el grupo II, en el tercio medio este elemento tuvo mayor presencia en el grupo III mientras que en los otros dos casi fueron similares; en el tercio externo se observo una disminución del contenido Ca^{+2} del grupo I al grupo III, sin embargo, aunque con diferentes valores, la tendencia es muy similar entre el tercio pulpar y el tercio medio.

En cuanto al $\text{P}^{3.5. 4}$ en el tercio pulpar, se logra apreciar que hay mayor presencia en el grupo II y menor en el grupo I; en el tercio medio, los valores

son muy similares para los tres grupos; mientras que en el tercio externo hay una disminución en el porcentaje del grupo I al III.

El Mg^{+2} la característica de este es que estuvo presente sobre todo en los tercios más profundos, importantemente en el tercio pulpar y por otro lado, se noto más su presencia en el grupo I.

En cuanto al Na^{+1} fue todo lo contrario que el elemento anterior, tuvo más presencia en los tercios más externos sobre todo en el tercio externo.

En O^{-2} tuvo una variabilidad muy importante por lo que no se pudo establecer, donde tenia mayor presencia.

Casi similar sucedió con el C^{+4} únicamente que en el tercio pulpar hay una disminución que se da del grupo I al III, (tabla 36, 37 y 38).

Grupo	Tercio Pulpar					
	Ca	P	Mg	Na	O	C
I	31.228	15.844	0.802	0	18.92	33.104
II	38.778	19.922	0.702	0	26.404	31.054
III	31.872	16.79	0.872	0	22.832	27.6

Tabla 36.- Valores promedio de los elementos que se encuentran en el tercio pulpar en cada uno de los grupos.

Grupo	Tercio Medio					
	Ca	P	Mg	Na	O	C
I	30.898	15.752	0.752	0.132	19.366	33.092
II	30.83	15.5	0	0	16.698	35.78
III	33.47	16.04	0.46	0	17.85	29.908

Tabla 37.- Valores promedio de los elementos que se encuentran en el tercio medio en cada uno de los grupos.

Grupo	Tercio Externo					
	Ca	P	Mg	Na	O	C
I	31.524	17.972	0.146	0.166	20.42	32.552
II	32.334	14.972	0	0	16.29	36.712
III	26.77	13.98	0.384	0.136	23.142	35.27

Tabla 38.- Valores promedio de los elementos que se encuentran en el tercio externo en cada uno de los grupos.

Estequiometria

Estequiometricamente después de haber sido agrupados los valores de cada una de las muestras de los diferentes grupos se determino la media y los resultados fueron los siguientes:

Todos los grupos mantuvieron muy similares los valores tanto en el tercio externo, medio y pulpar, no con esto se quiere decir que son iguales o casi iguales ya que cuando se habla de estequiometria un décima influye mucho en el resultado de ahí que no se realizo el análisis de varianza. Así pues, si se analiza a cada uno de los grupos en cada tercio se tiene que en el grupo I, estequiometricamente se va reduciendo desde el tercio pulpar con 1.97, al externo con 1.86, sucediendo lo mismo en el grupo II pero con valores más altos, en los tercios medio y externo; en el grupo III el valor más alto se obtuvo en el tercio medio, independientemente que el tercio externo resulto tener un valor superior al tercio pulpar.

Ahora bien, si se analiza estos mismos resultados pero por tercios en cada grupo, se puede decir que los valores en el tercio pulpar va decayendo del grupo I al III, teniendo el primero un valor de 1.97 y el grupo III 1.89; en el tercio medio sucede lo contrario, es decir, va de menos a más, en el grupo I se tiene un valor de 1.95 mientras que en el grupo III 2.12; en el tercio externo el valor más alto se encuentra en el grupo II con 2.15 y el más bajo en el grupo I con 1.86. al analizar todos los valores se encontró que el valor

más alto perteneció precisamente al tercio externo del grupo II con 2.15 y el más bajo también al tercio externo pero del grupo I con 1.86, (tabla 39).

Grupos	Tercios		
	Pulpar	Medio	Externo
I	1.9714	1.9588	1.8662
II	1.9486	1.9914	2.1598
III	1.8976	2.1226	1.913

Tabla 39.- Valores promedio de los diferentes grupos y tercios.

Análisis Infrarrojo (FT-IR)

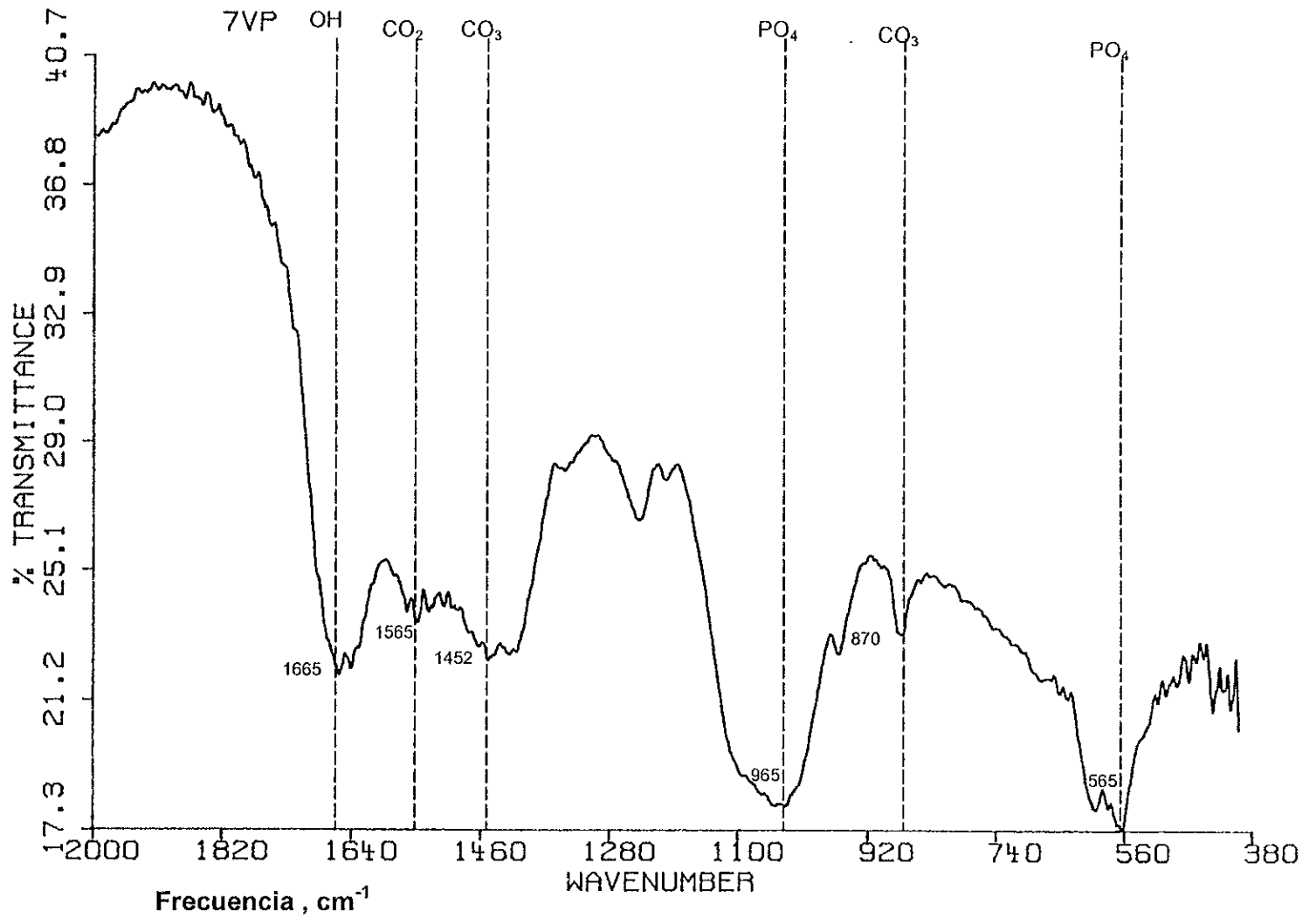
En este estudio los espectrogramas analizados identificaron bandas de absorción determinando a grupos funcionales, correspondientes a hidróxidos (OH), dióxido de carbono (CO₂), carbonatos (CO₃) y fosfatos (PO₄) que en si algunos de estos son parte de fases cristalinas. Todas fueron muy similares tanto en profundidad (tercios) como en grupo variaron si acaso en una mayor o menor resolución, según el tercio o grupo analizado.

En el grupo I las bandas de vibración identificadas, expresadas en centímetros recíprocos (cm⁻¹), correspondieron en el tercio pulpar por ejemplo, al PO₄, en la banda de vibración 565- 570 cm⁻¹ I; 870 = C-O (CO₃ AP); 965 = PO₄; 1265 = H PO₄; 1,452 = CO₃-AP; 1565 = CO₂ y finalmente la banda 1615 = OH, todas estas bandas se observaron en todas las espectrografías de los diferentes grupos, es decir coincidían con estas bandas de vibración, lo que los hacia diferentes era su resolución, aumentando hacia el tercio externo, (espectrografías 11, 12.y 13).

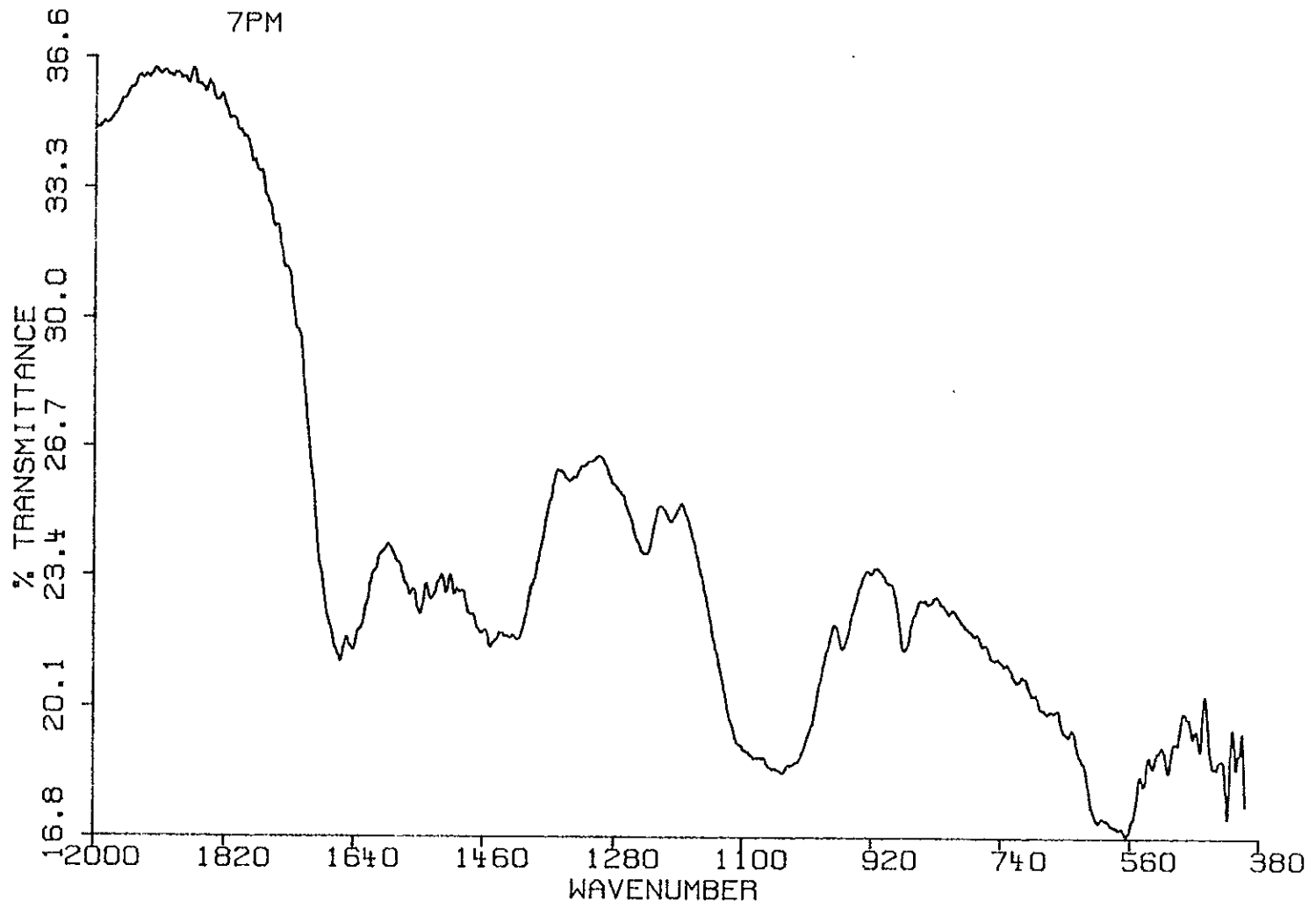
Se puede observar que las bandas correspondientes a los grupos PO₄, incrementan su resolución del tercio pulpar al externo, muy importante es de notar la presencia del OH en la banda de vibración 640 cm⁻¹ en el tercio externo, espectrografía 13. Mientras que en ningún tercio de este grupo y de los otros grupos aparece.

En los otros grupos sucede lo mismo que en este grupo, es decir, hay un incremento en su resolución del tercio pulpar al externo y del grupo I al III, (espectrogramas 14-17).

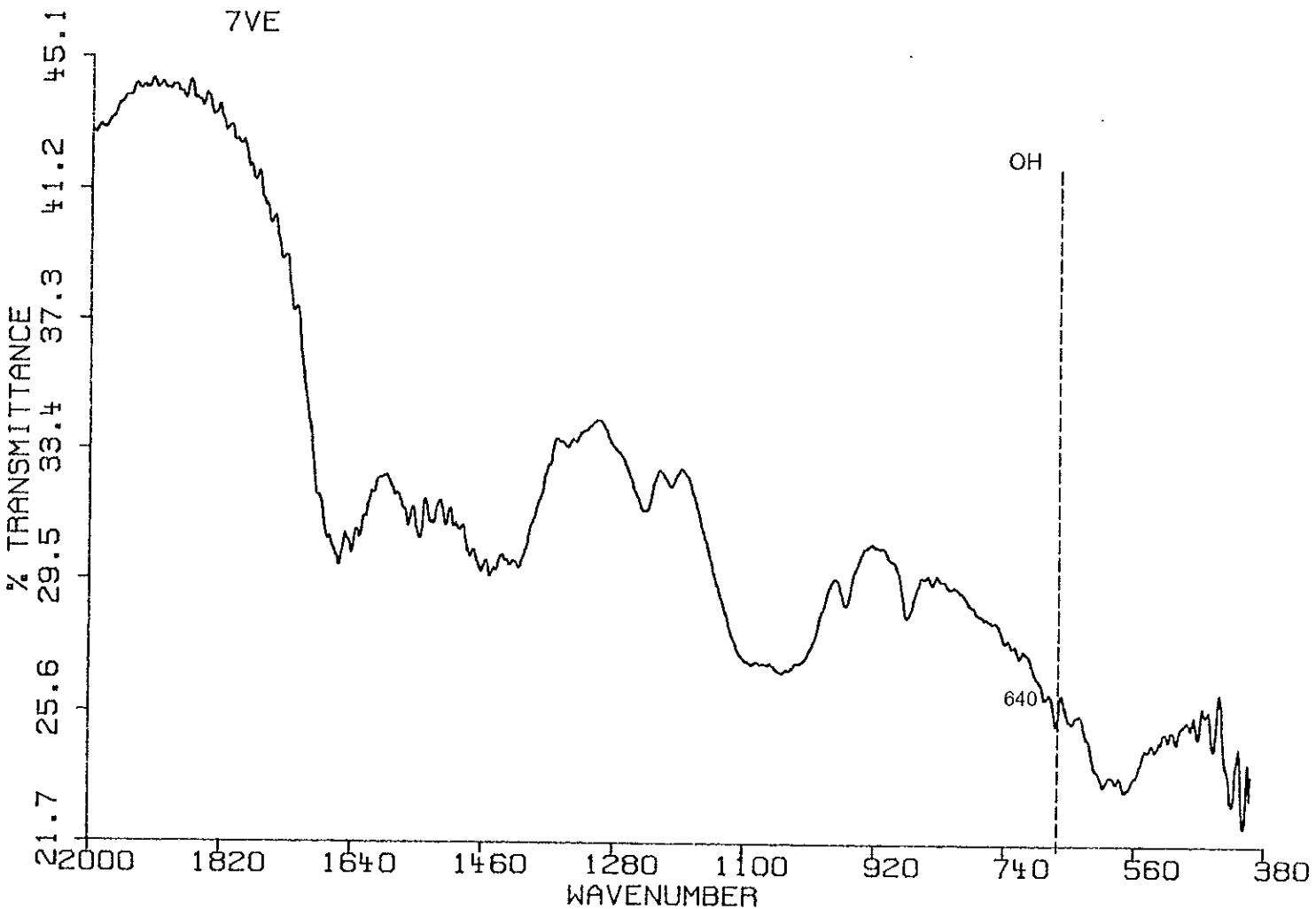
Espectrografía 11.- Del grupo I terció pulpar.

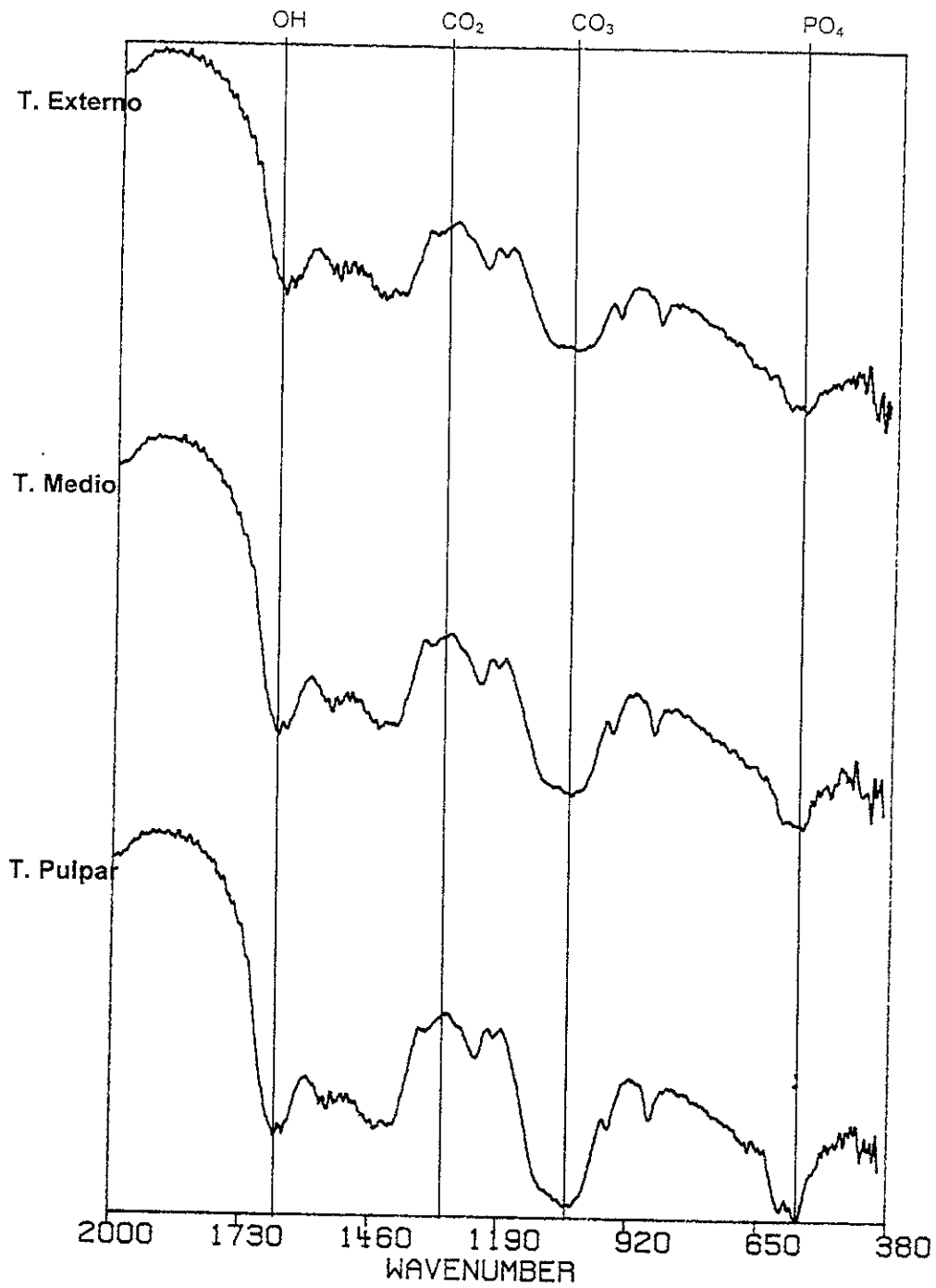


Espectrografia 12.- Del grupo I tercio medio.

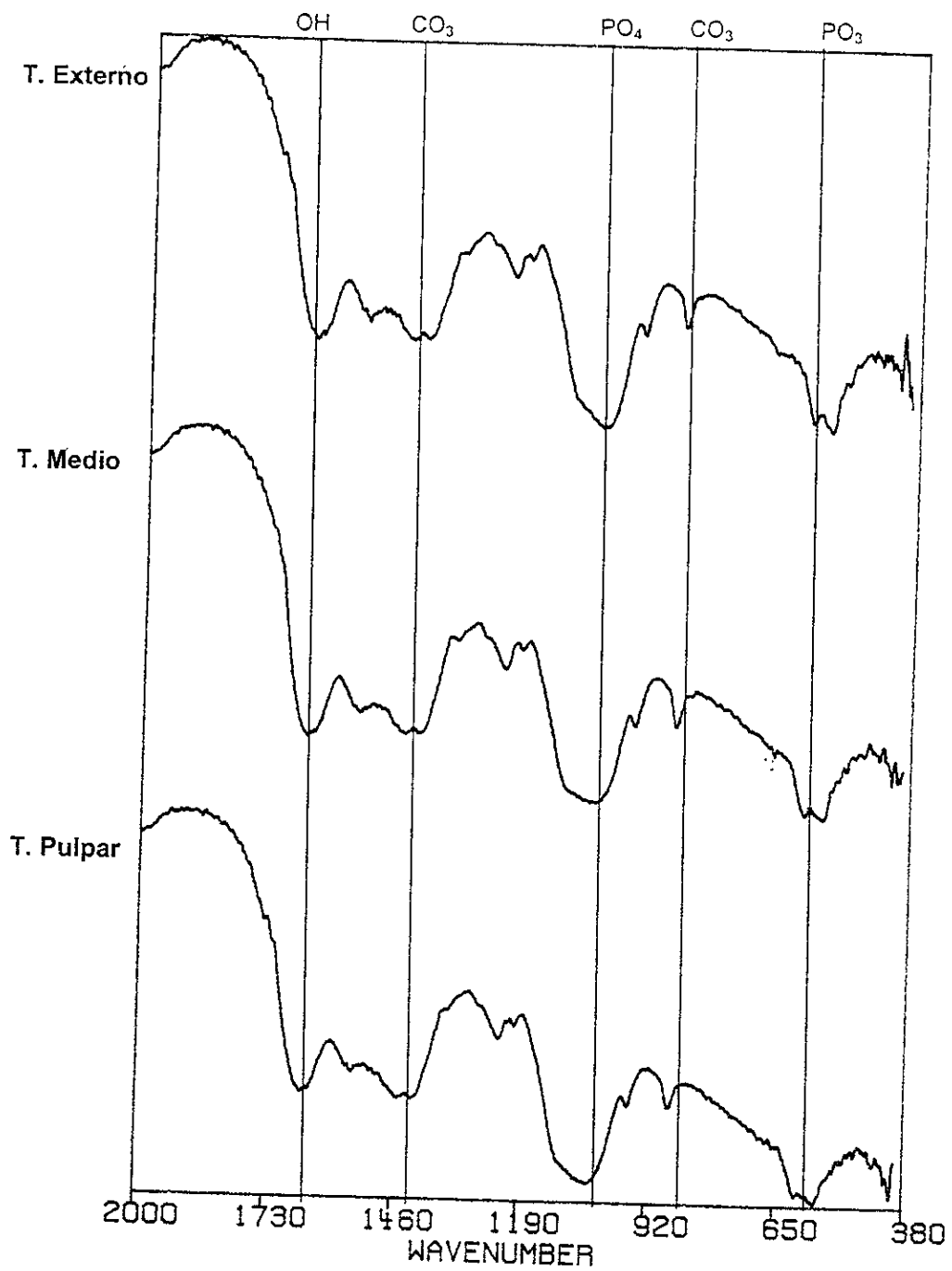


Espectrografia 13.- Del grupo I tercio extamo.

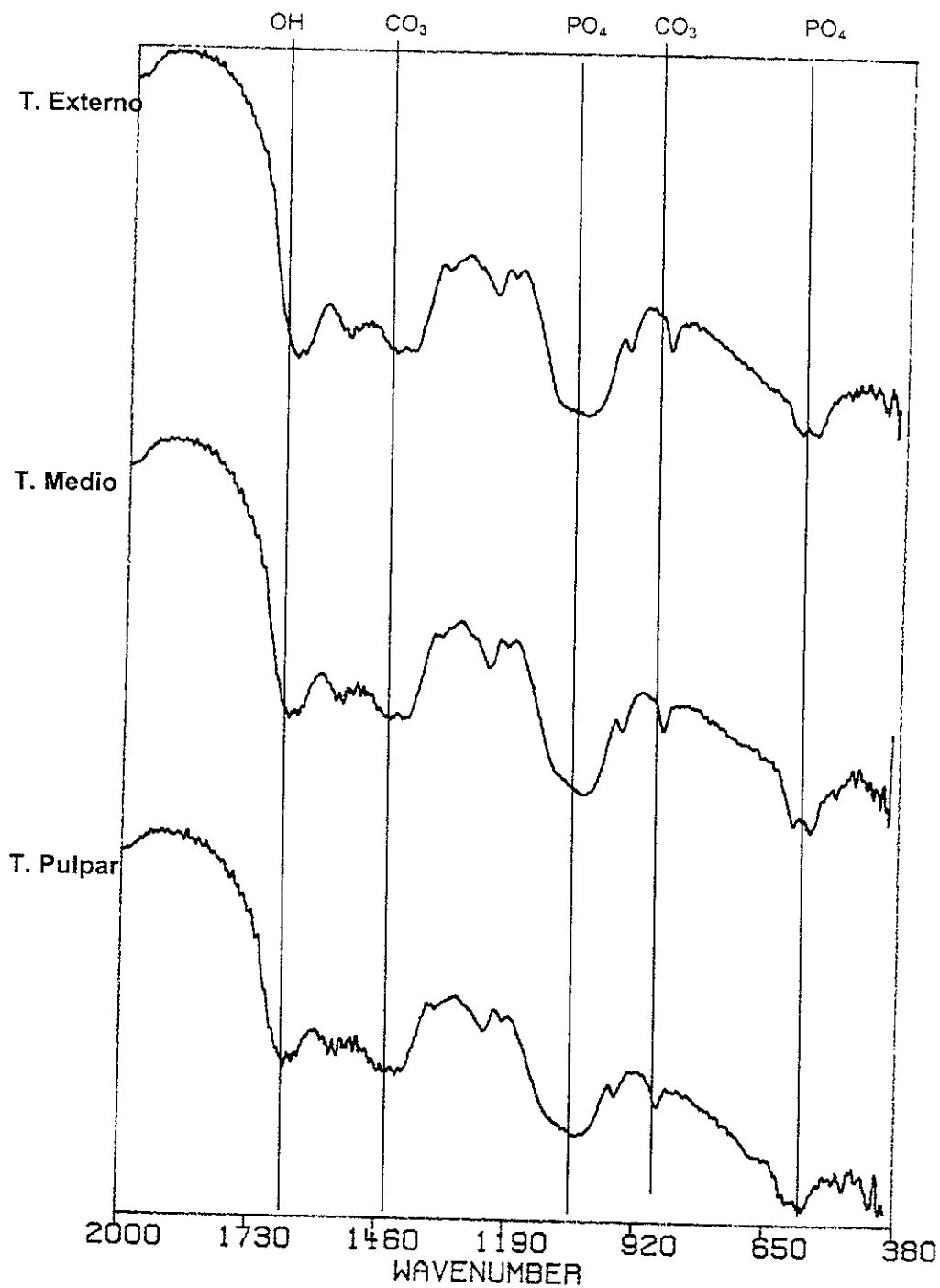




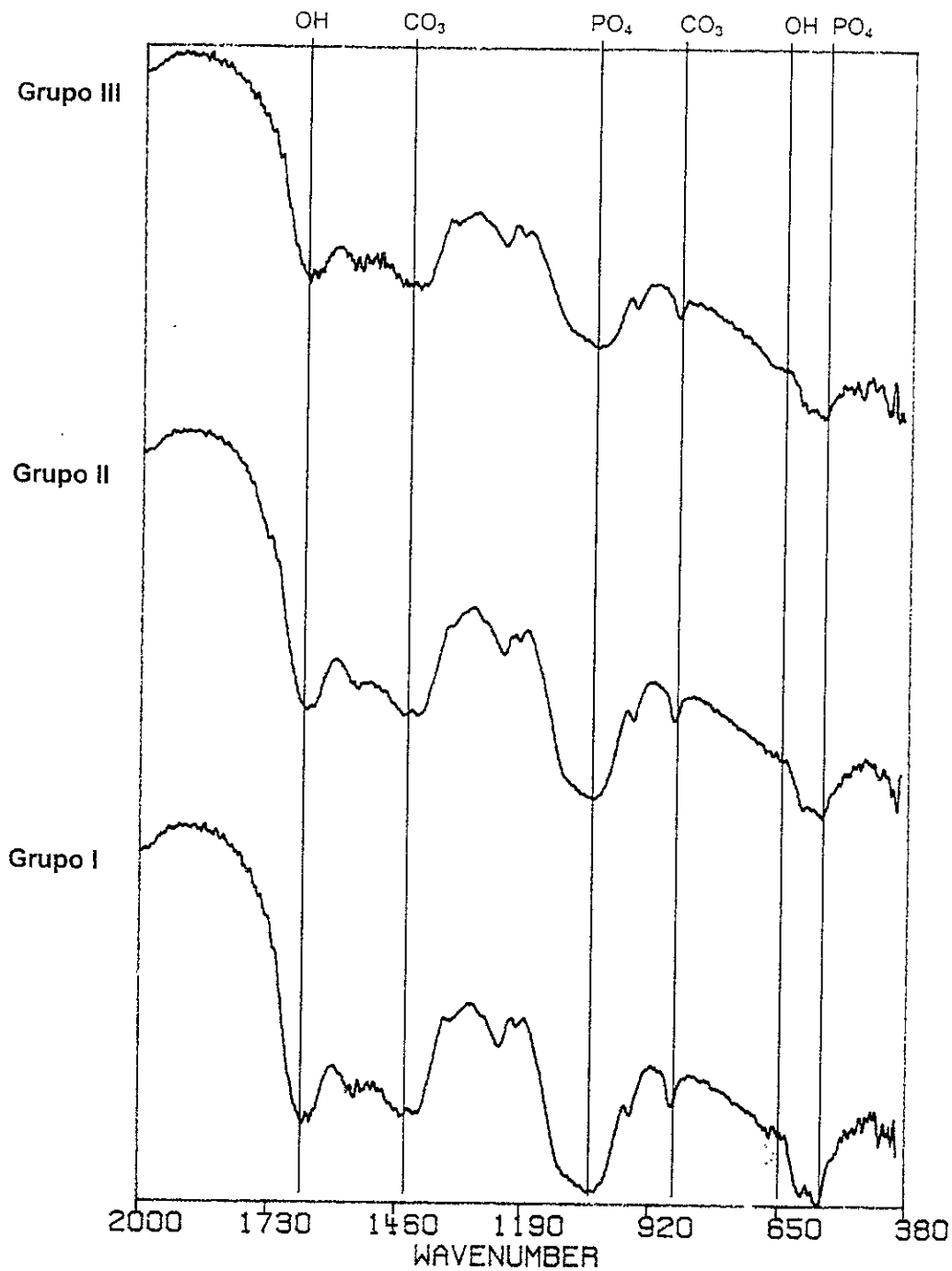
Espectrografía 14.- De personas entre los 18 y 28 años, tercio pulpar, medio y externo.



Espectrografia 15.- De personas de entre 29 y 49 años, tercio pulpar medio y externo



Espectrografía 16.- de personas de más de 50 años, tercio pulpar, medio y externo



Espectrografía 17.- Del tercio pulpar de los grupos I, II y III.

Cuando se compararon los espectros del terció pulpar de los grupos se pudo determinar lo que se ha venido dando todas las bandas de absorción coinciden en la misma, solo que su resolución es mayor hacia el grupo III.

De igual manera la banda de vibración 640 cm^{-1} , solo se encuentra en el grupo I, que es la correspondiente al OH, (espectrografía 17).

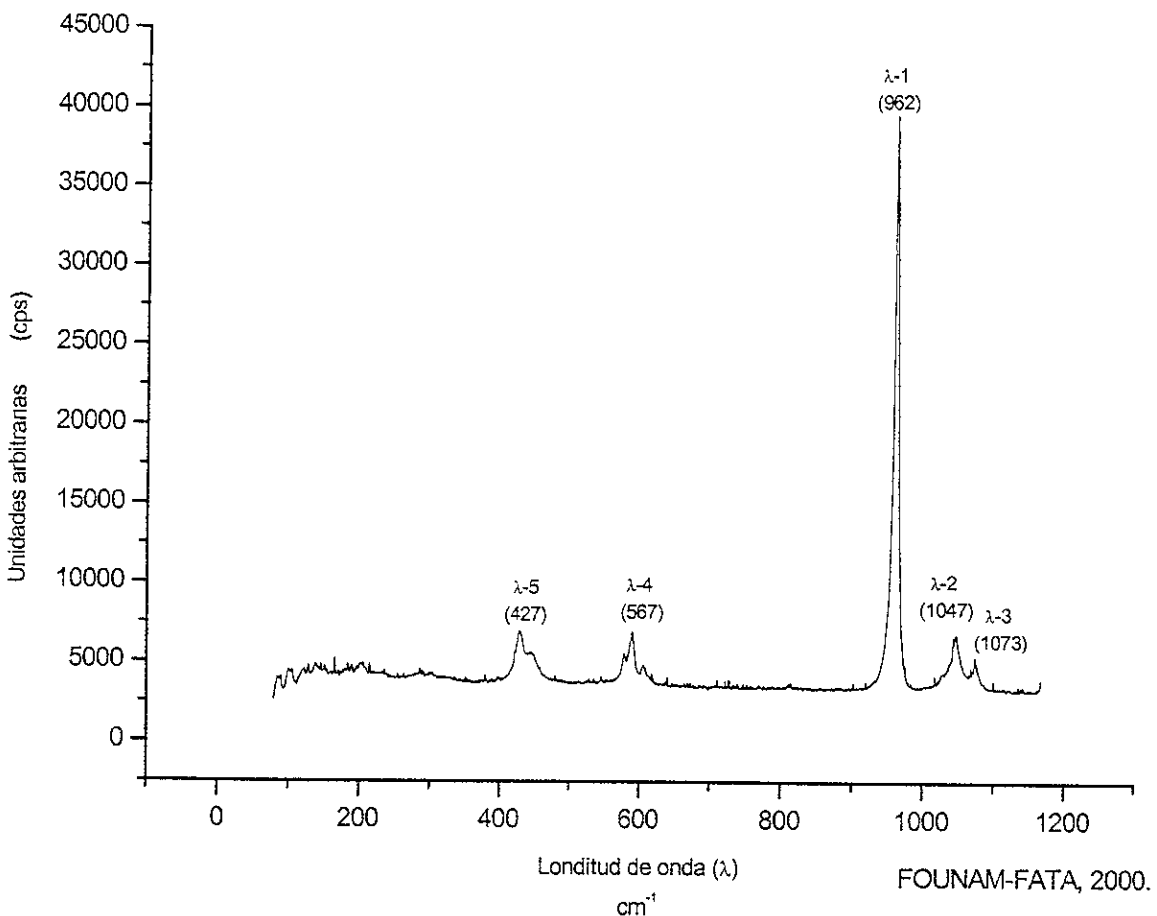
Espectroscopía de micro-Raman.

Diez muestras que cumplieron con los criterios de participación establecidos en la metodología, fueron analizadas en un espectrómetro de μ -Raman. Con la finalidad de estandarizar el registro de cada una de las muestras se realizaron 8 barridos en cada una de las zonas por revisar (tercio externo, interno e intermedio), es decir 24 por cada uno de los dientes. En total se realizaron 240 barridos, empleando para ello tiempos de integración de 15 segundos para las primeras 4 corridas y de 60 segundos para las otras cuatro corridas en cada una de las zonas de la muestra, dejando un lapso de registro entre barrido y barrido de 5 minutos. Esto quiere decir que se empleó un total de 1350 minutos (22 horas, 30 minutos) de tiempo en el espectrómetro de μ -Raman, utilizando 150 minutos (2 horas 30 minutos) de tiempo de trabajo de barrido efectivo y 1200 minutos (20 horas) en los lapsos entre cada registro.

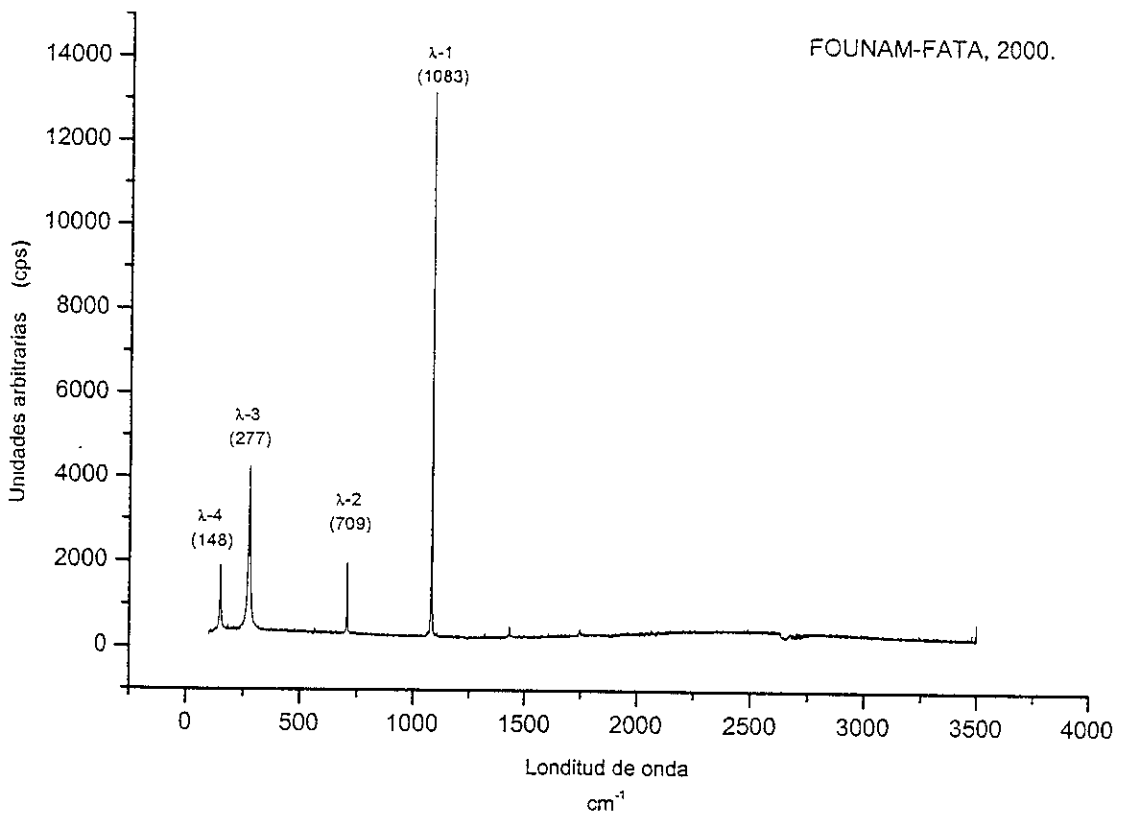
En el espectrograma 18 se observan los picos identificados como característicos de las intensidades (cps) de la hidroxiapatita (HA) empleada como patrón para la identificación de las bandas de absorción de mayor intensidad. Considerando que la composición química de la dentina puede contener fases minerales diferentes a la HA, se corrieron patrones de carbonato cálcico (CaCO_3) para establecer diferencias en la composición. La HA (H0252, Sigma USA), así como el de CaCO_3 fueron proporcionados por el Laboratorio de Caracterización de Materiales del Centro de Investigación y Estudios Avanzados (Cinvestav) del Instituto Politécnico Nacional. Las bandas de absorción de mayor expresión en la hidroxiapatita patrón fueron: $\lambda 1$ (962), $\lambda 2$ (1047), $\lambda 3$ (1073), $\lambda 4$ (567) y $\lambda 5$ (427), se determinaron en función de la intensidad de las cuentas por segundo (cps) absorbidas en la longitud de onda (λ) expresadas en centímetros inversos (cm^{-1}) en cada uno de los especímenes.

Para el la identificación de las bandas en el carbonato de calcio, se consideraron únicamente las intensidades más representativas, estas fueron determinadas, tal como aparece en el espectrograma 19, por las siguientes bandas: $\lambda 1$ (1083 cm^{-1}), $\lambda 2$ (709 cm^{-1}), $\lambda 3$ (277 cm^{-1}) y $\lambda 4$ (148 cm^{-1}).

Los espectros obtenidos fueron procesados en el programa Origin V.5 (Microcalc, USA) para la identificación de las bandas y las intensidades en cada uno de los espectros.



Espectrograma 18.- Intensidades principales de la señal hidroxiapatita [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$] utilizada como patrón y corrida en un espectroscopio de efecto μ -Raman. Las principales bandas de absorción se encuentran identificadas de $\lambda 1$ a $\lambda 5$

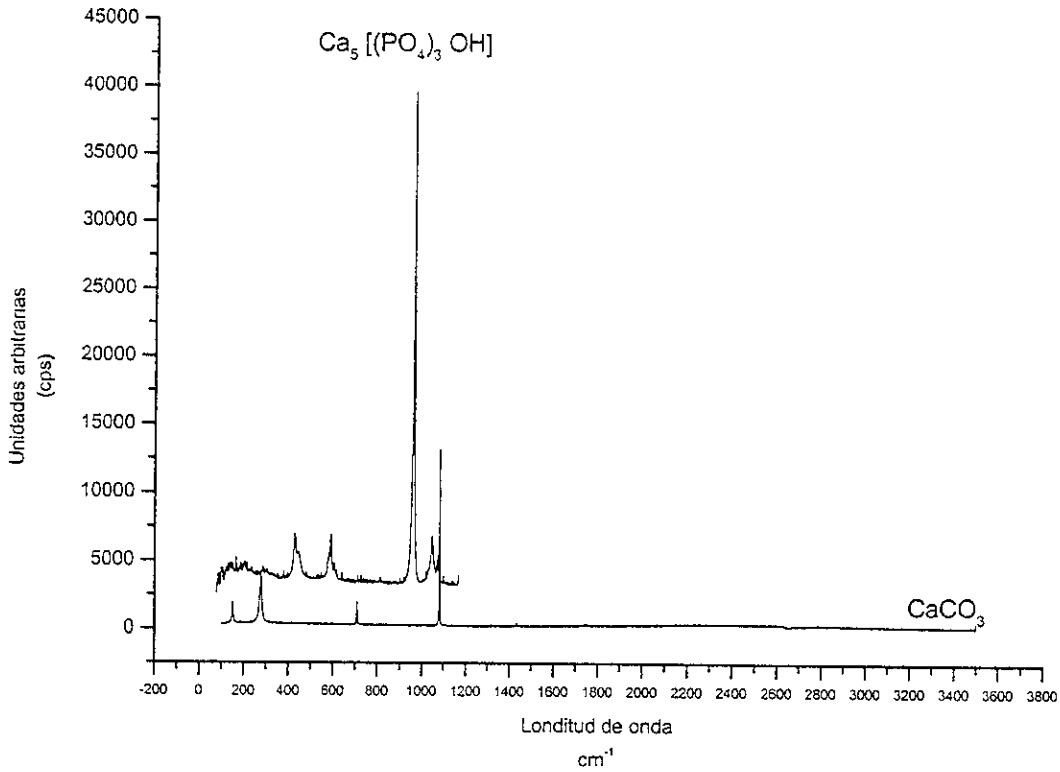


Espectrograma 19.- Espectro de las intensidades observadas en el carbonato de calcio al ser corridas en un espectrómetro de efecto μ -Raman., Las principales bandas de intensidad se identifican de λ_1 a λ_4 .

En cada uno de los barridos realizados en la muestra se identificaron las bandas de intensidad (λ) ya establecidas en los patrones de la HA y el CaCO_3 . Después de realizar el barrido final en cada una de las zonas de cada muestra, se registraron las bandas representativas para esa zona y los datos obtenidos se organizaron (tabla 40) para posteriormente aplicar las pruebas estadísticas.

En el espectrograma 20 se encuentran representadas las bandas identificadas para la hidroxiapatita y el CaCO_3 .

Espectro de las señales de Carbonato de calcio
e hidroxiapatita



FOUNAM-FATA, 2000

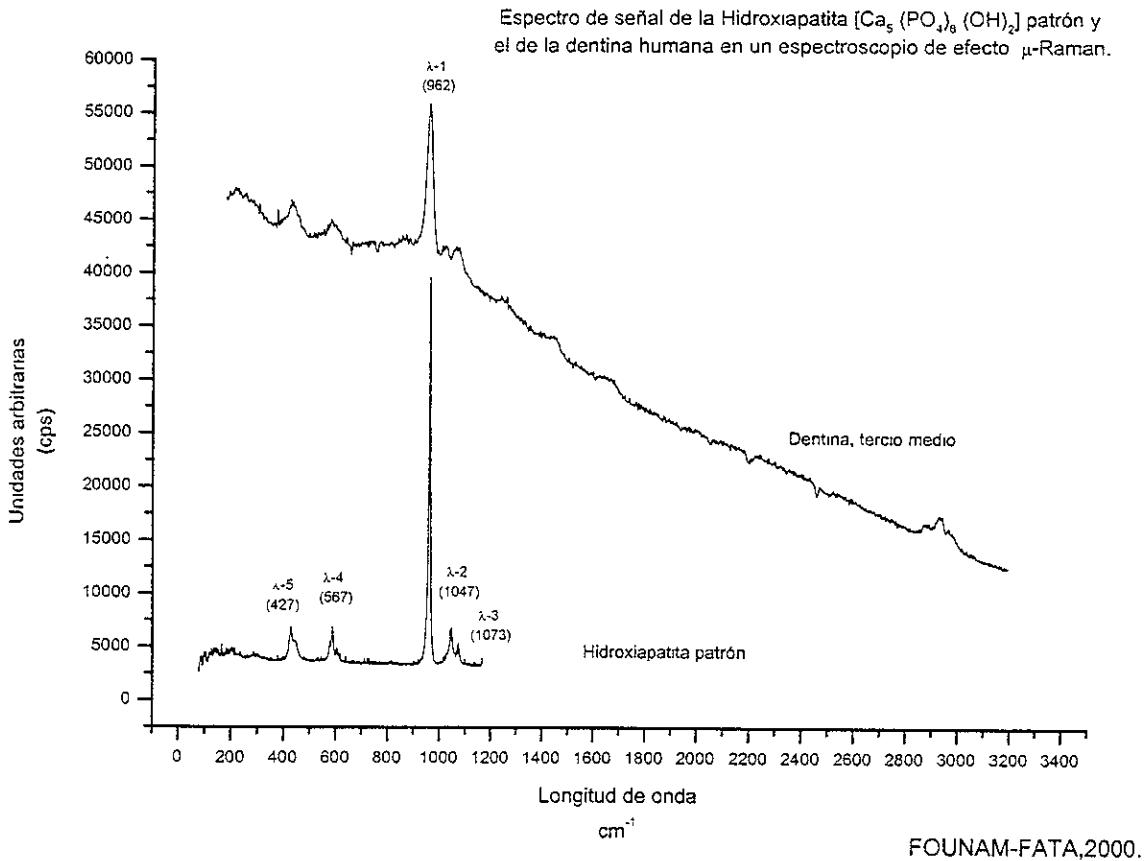
Espectrograma 20.- Identificación de las intensidades características de la Ca₅ [(PO₄)₃ OH]

Con la finalidad de conocer las posibles asociaciones o diferencias entre las intensidades de las bandas de absorción determinadas en cada uno de los grupos (aspecto vestibular, medio y pulpar), los datos fueron tratados estadísticamente mediante la aplicación del análisis de varianza (Andeva) para determinar si existían diferencias estadísticamente significativas, encontrando que únicamente podían ser identificadas cuando se les consideraba en la comparación global por grupos. En los espectrogramas 20 a 23 se encuentran los espectros correspondientes a la comparación e identificación de las bandas de absorción especimenes de dentina en los tercios vestibulares, medios y pulpares y la superposición con los espectros de los materiales utilizados como patrón, hidroxiapatita y carbonato de calcio.

Tabla 40.- Intensidades determinadas en las muestras corridas en el Micro-raman (cm^{-1}).

λ	λ 1 (962)	λ 2 (1047)	λ 3 (1073)	λ 4 (567)	λ 5 (427)	c λ 1 (1083)	c λ 2 (709)
1 externo	30400	14929	16384	20242	21476	16952	17539
1 interno	24327	17346	30357	19385	20313	16139	17929
1 medio	27501	18402	17760	19968	20761	17445	18374
2 externo	39608	30357	29608	31876	32342	29407	30456
2 interno	26220	19845	19477	21632	21794	19094	20025
2 medio	42282	26624	25292	28667	29160	25275	26608
3 externo	45824	33629	33062	38589	42021	32643	35564
3 interno	36675	26876	26231	29152	32190	25594	27024
3 medio	45824	33629	33062	38589	42021	32643	35564
4 externo	33706	24844	24766	28561	31230	23888	26561
4 interno	43197	33367	33240	36796	39730	32329	34795
4 medio	37514	27256	27052	31879	35052	26351	29577
5 externo	54268	38205	38778	43072	46647	37425	40337
5 interno	42616	29693	29646	33848	37695	28745	31352
5 medio	37170	26377	26760	29765	33417	25508	27334
6 externo	41158	28724	28314	35485	39119	27671	31396
6 interno	55099	42137	42066	45026	46346	41351	42635
6 medio	40648	24290	24715	28328	31796	24892	25050
7 externo	30830	24755	24793	26029	26397	24283	25251
7 interno	43327	38381	38039	39453	39436	37565	38649
7 medio	30343	23878	24017	25735	26310	23651	24673
8 externo	19078	14233	14137	15954	16234	14104	14740
8 interno	55972	48830	48099	58187	58405	47848	55871
8 medio	36378	32615	32512	33879	33657	32121	33130
9 externo	28165	22283	22227	24340	25490	22040	23374
9 interno	28113	22938	22860	24219	24600	22687	23707
9 medio	23790	17972	17966	19534	20468	17573	18622
10 externo	31322	18737	19232	20702	21787	18058	18767
10 interno	28933	23892	23687	26474	27181	23214	25589
10 medio	22949	16068	16167	17427	18226	15641	16377
x	36108	26703	27010	29759	31376	26071	27895

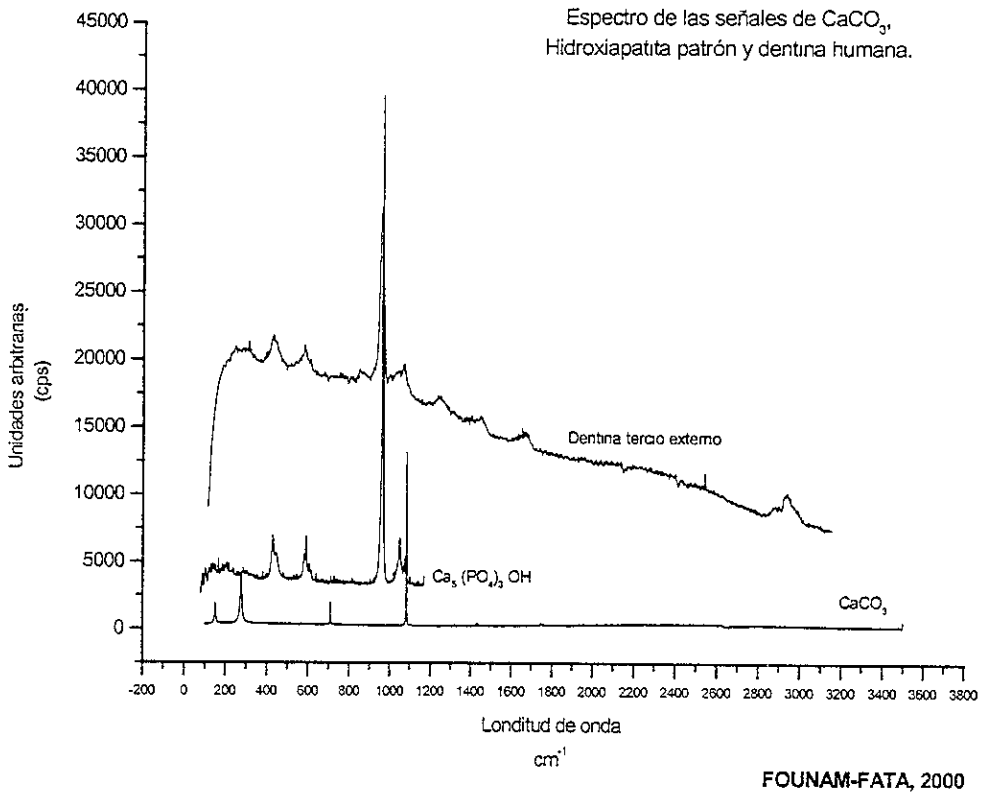
En el espectrograma 21 se encuentra la comparación e identificación de las bandas de absorción características de la hidroxiapatita y las encontradas en la dentina humana. En este caso la zona de la cual se obtuvo el barrido fue el tercio medio de la dentina.



Espectrograma 21.- Identificación de bandas en dentina humana y la comparación con las determinadas en la hidroxiapatita patrón.

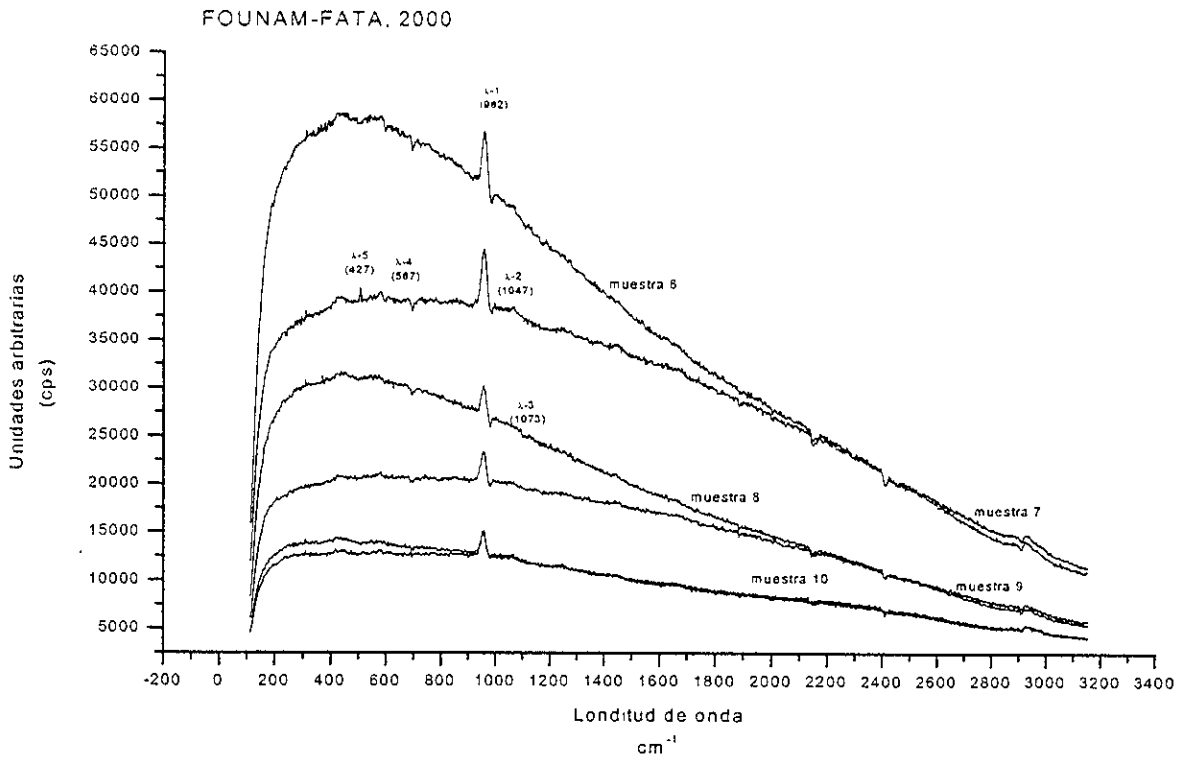
En el espectrograma 22 se encuentra la identificación de las bandas de absorción de la porción externa (vestibular) de una de las muestras, y la comparación con las que se encuentran en la HA y el $CaCO_3$. La expresión de las bandas en este espécimen fue bastante marcada y la ubicación con la HA correspondió adecuadamente. Sin embargo, cuando se identificaron las

bandas representativas del carbonato empleado como patrón [$\lambda_1 = 1083 \text{ cm}^{-1}$, $\lambda_2 (709 \text{ cm}^{-1})$], estas eran poco apreciables.



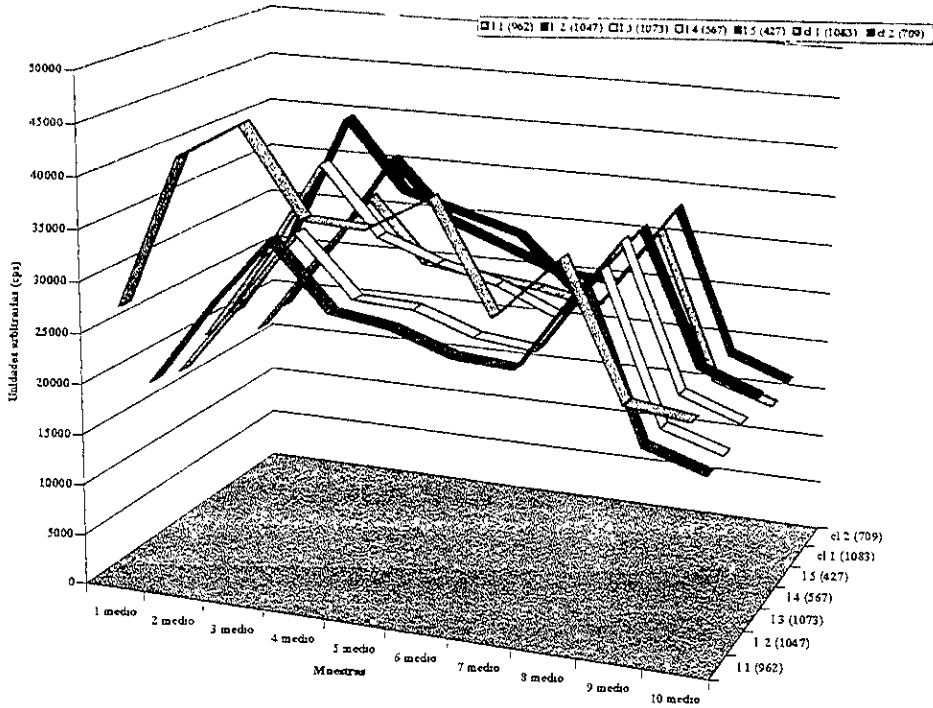
Espectrograma 22.- Identificación de las bandas e intensidades de absorción en muestras del tercio externo (vestibular) de la dentina humana.

En el espectrograma 23 se observan barridos obtenidos del tercio pulpar de diferentes muestras. La identificación de las intensidades se realizó tal como se describió anteriormente y aunque la intensidad de los picos se apreciaba diferente con respecto a los obtenidos en los tercios externo e intermedio, el análisis de varianza no determinó diferencias entre los grupos.



Espectrograma 23.- Intensidades detectadas en el tercio pulpar de las muestras 6 a la 10.

La distribución de las intensidades en cada grupo se encuentra representada en la gráfica 11. En todos los casos se observa que la distribución de las intensidades es similar en los tres grupos.



Gráfica 11.- Distribución de las bandas de absorción (l1 a l4 y cl1 y cl3) de todas las muestras analizadas.

En el tratamiento estadístico de los resultados se determinó que no existían diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes tercios, cuando se analizaron en cada una de las longitudes de onda identificadas en las muestras patrón (HA y CaCO₃). En las tablas 41 a 43 se encuentran concentrados los datos de acuerdo al tercio analizado y los resultados del análisis estadístico.

Tabla41.- Distribución de las intensidades obtenidas en el análisis del tercio interno.

Muestra λ	λ 1 (962)	λ 2 (1047)	λ 3 (1073)	λ 4 (567)	λ 5 (427)	c λ 1 (1083)	c λ 2 (709)
1 interno	24327	17346	30357	19385	20313	16139	17929
2 interno	26220	19845	19477	21632	21794	19094	20025
3 interno	36675	26876	26231	29152	32190	25594	27024
4 interno	43197	33367	33240	36796	39730	32329	34795
5 interno	42616	29693	29646	33848	37695	28745	31352
6 interno	55099	42137	42066	45026	46346	41351	42635
7 interno	43327	38381	38039	39453	39436	37565	38649
8 interno	55972	48830	48099	58187	58405	47848	55871
9 interno	28113	22938	22860	24219	24600	22687	23707
10 interno	28933	23892	23687	26474	27181	23214	25589
\bar{x}	38447.9	30330.5	31370.2	33417.2	34769	29456.6	31757.6
D.E.	11534.941	10234.158	9101.5018	11940.316	11984.274	10212.643	11598.900
E.E.	3647.6687	3236.3252	2878.1475	3775.8595	3789.7602	3229.5213	3667.8943

\bar{x} = Media

D.E= Desviación estándar

E.E= Error estándar.

Tabla42.- Distribución de las intensidades obtenidas en el análisis del tercio medio.

muestra λ	λ 1 (962)	λ 2 (1047)	λ 3 (1073)	λ 4 (567)	λ 5 (427)	c λ 1 (1083)	c λ 2 (709)
1 medio	27501	18402	17760	19968	20761	17445	18374
2 medio	42282	26624	25292	28667	29160	25275	26608
3 medio	45824	33629	33062	38589	42021	32643	35564
4 medio	37514	27256	27052	31879	35052	26351	29577
5 medio	37170	26377	26760	29765	33417	25508	27334
6 medio	40648	24290	24715	28328	31796	24892	25050
7 medio	30343	23878	24017	25735	26310	23651	24673
8 medio	36378	32615	32512	33879	33657	32121	33130
9 medio	23790	17972	17966	19534	20468	17573	18622
10 medio	22949	16068	16167	17427	18226	15641	16377
\bar{x}	34439.9	24711.1	24530.3	27377.1	29086.8	24110	25530.9
D.E	7892.96885	5922.7083	5845.9628	6787.4769	7594.8072	5821.63284	6350.0386
E.E.	2495.9759	1872.9248	1848.6557	2146.3886	2401.6889	1840.96195	2008.05853

\bar{x} = Media

D.E= Desviación estándar

E.E= Error estándar.

Tabla 43.- Distribución de las intensidades obtenidas en el análisis del tercio externo.

Muestra λ	λ_1 (962)	λ_2 (1047)	λ_3 (1073)	λ_4 (567)	λ_5 (427)	$c\lambda_1$ (1083)	$c\lambda_2$ (709)
1 externo	30400	14929	16384	20242	21476	16952	17539
2 externo	39608	30357	29608	31876	32342	29407	30456
3 externo	45824	33629	33062	38589	42021	32643	35564
4 externo	33706	24844	24766	28561	31230	23888	26561
5 externo	54268	38205	38778	43072	46647	37425	40337
6 externo	41158	28724	28314	35485	39119	27671	31396
7 externo	30830	24755	24793	26029	26397	24283	25251
8 externo	19078	14233	14137	15954	16234	14104	14740
9 externo	28165	22283	22227	24340	25490	22040	23374
10 externo	31322	18737	19232	20702	21787	18058	18767
\bar{x}	35435.9	25069.6	25130.1	28485	30274.3	24647.1	26398.5
D.E.	9998.0424	7855.5981	7602.4360	8718.6715	9854.3001	7305.2743	8184.4595
E.E.	3161.6586	2484.1582	2404.1013	2757.0860	3116.2033	2310.1305	2588.1533

\bar{x} = Media

D.E= Desviación estándar

E.E= Error estándar.

DISCUSIÓN

GROSOR

El estudio de los tejidos del diente ha sido un tema de interés no sólo por ser parte constitutiva del sistema masticatorio, sino también por los procesos patológicos que ocurren en él (p. Ej. caries y enfermedad periodontal) y la interacción de los materiales utilizados para devolverle su función y forma (resinas, amalgamas, etc).

En un hecho importante que tanto los procesos de caries, así como la respuesta que tendrá ante los materiales restauradores, dependerán de las cualidades de composición y estructura del tejido involucrado, es decir que el conocimiento de estas características permitirá diseñar mejores materiales y comprender los procesos que ahí ocurren (Linde A, 1992).

El conocimiento de tales características fue el motivo del presente estudio y en él se abordó el grosor, estructura y composición de la dentina humana.

Hasta el momento son pocos los estudios relacionados con la determinación del grosor de la dentina, siendo este uno de ellos, donde además se analizó la sección intermedia de la dentina. Varios autores han establecido el concepto de que dentina aumenta su grosor en función del avance de la edad, es decir que hay una relación directa entre el grosor dentinario y el envejecimiento, y que puede ser influido por factores traumáticos y alteraciones patológicas, que provocan un aumento temprano en el grosor dentinario como una medida de autoprotección (Thomas HF, Carella P, 1983; Sigal MJ, 1984; Alcántara CM, 1993, Linde A, 1992).

En este trabajo se comprobó lo que varios autores han mencionado a este respecto, ya que se determinó que en sujetos de 18 a 28 años y de 29 a 49

años se obtuvieron medidas de más de 2.5 mm. en el aspecto vestibular y de 2.4 mm. en palatino. Un aspecto importante fue el comportamiento mostrado entre los grupos I y II con respecto del grupo de sujetos de más de 50 años, ya que en este último se encontró la casi obliteración total del espacio de la cámara pulpar, interpretándose como una mayor actividad odontoblástica y presencia de factores extrínsecos (oclusión) e intrínsecos (degeneraciones), que pueden llevar a la producción de dentina terciaria (Tagami J, et al., 1992).

Así pues, un factor que influye directamente en el grosor es la *actividad de la superficie o cara*. Desde la erupción del diente, el aumento en el grosor es continuo a lo largo de toda la vida del individuo (Foreman PC, Soames JV, 1989; Linde A 1992), pero este grosor en algunas zonas se ve influenciado por la actividad de cada diente y por factores traumáticos (Linde A 1992). Es decir, el aumento en el grosor no se da de manera simultánea e igual en todas las superficies del diente, alguna de estas superficies se ve más influenciada que las otras, esta influencia es directamente proporcional a la actividad de cada superficie, como es el ejemplo de las cúspides estampadoras.

En forma general, la cara oclusal resultó ser la de mayor grosor en los tres grupos en sentido cervico-oclusal, esto puede ser explicado por la dirección de las fuerzas de la masticación sobre esta cara o superficie, coincidiendo específicamente a lo que correspondería la ubicación de las cúspides, siendo mayor en la cúspide palatina donde alcanzo un grosor de hasta 10.30 mm. en el grupo III. Es importante mencionar que en este estudio se consiguieron básicamente dientes premolares superiores, por lo cual el aumento antes mencionado sobre las cúspides palatinas, obedeció a las leyes de oclusión. Si se recuerda, las bases de la oclusión orgánica estipula que una cúspide estampadora o de trabajo es aquella que ocluye sobre una fosa, y que estas pueden ser las vestibulares en inferiores y palatinas en superiores (Martínez R.E.,1978). De acuerdo a esto, las cúspides en los dientes posteriores

superiores analizadas en el estudio son las cúspides de trabajo y por lo tanto las de mayor actividad.

El *factor hereditario*, así como *factores externos*, tales como tipo de alimentación (Blanda o fibrosa) y los internos (temperatura, traumas oclusales y accidentales) son aspectos importantes que influyen en el grosor de la dentina, afectando no sólo las características anatómicas individuales a cada diente, sino también el tamaño del mismo, sin embargo, por las limitaciones del estudio, esta variable no pudo ser analizada.

ESTRUCTURA

Densidad

La densidad de los túbulos dentinarios, de acuerdo a información existente, es menor en el tercio externo y mayor en el pulpar (Garberoglio R, Bränström M, 1976), de acuerdo al análisis estadístico de los resultados obtenidos en este trabajo, se comprobó que efectivamente la menor densidad se da en el tercio externo, lo que hace suponer que ésta disminuye por la obliteración de los túbulos en las zonas más distantes a la pulpa. Este cierre del lumen de los túbulos dentinarios, comprobado mediante la observación de las muestras en el MEB, fue un hecho consistente que en los grupos I y II, el comportamiento era congruente con lo reportado en la literatura, pero en el grupo de los 50 años en adelante la densidad tubular fue mayor en el tercio medio, este aspecto no había sido reportado previamente, ya que si se sigue el comportamiento normal de la mineralización de la dentina, el tercio medio debería tener menor densidad que el pulpar por lo cual se presume de acuerdo a las observaciones realizadas en este trabajo, la mayor densidad del tercio medio quizá se deba al hecho de la formación incrementada de la dentina terciaria en la cámara pulpar, obliterando de tajo a los conductillos o

túbulos dentinarios que se encontraban en preentina, representando la función reparadora que se le ha atribuido (Linde A, 1992). La formación de este tipo de tejido posiblemente está relacionada a la presencia de alguno de los tres factores siguientes: 1.- Pérdida parcial de dientes, ya que a partir de esta edad (+50 años), algunas personas han perdido uno o más dientes incrementando la función sobre los dientes remanentes 2.- Las parafunciones o los factores irritativos traumáticos se hacen presentes (Martínez RE, 1978) y 3.- La mineralización y el aumento en la densidad de la dentina intertubular aunado a la pérdida de irrigación tubular de las zonas más externas de la dentina hace que las fuerzas de la masticación se transmitan más directamente hacia el centro del diente (Martínez RE, 1978; Gisle F, 1992; Linden LA, 1995; Schilke R, 2000). La presencia de este tipo de dentina se logró determinar durante las observaciones al MEB de la preentina, quedando los túbulos intermedios totalmente aislados de nutrientes y minerales, que son descritos por otros estudios (Nagai N, Frank RM, 1974; Pashley DH, et al, 1981; Jenkins GN, 1983; Seltzer S, Bender JB, 1990). De esta manera, podemos pensar que la obliteración del tercio medio no se da debido a la presencia de la dentina terciaria, no permitiendo así la obliteración, en condiciones fisiológicas, del tercio medio dentinario.

Diámetro

El diámetro tubular de acuerdo a algunos autores varía de acuerdo a la edad y a su localización (profundidad). De esta manera, se menciona que el diámetro de los túbulos es de 1 μm en el tercio externo, de 1.2 a 1.5 μm en el medio y en preentina de 2 a 2.8 μm , (Garberoglio R., Bränström M., 1976; Maniatopoulus C., Smith D., 1983). Sin embargo, los datos obtenidos en este estudio no coinciden con los datos anteriores, además de que se consideró una medida más, que fue la pulpar (establecida en la superficie del tercio pulpar en la unión del tercio medio con el pulpar). De manera general, tomando en cuenta a los tres grupos, el diámetro encontrado en el tercio

externo fue de 0 a 6 μm , en el tercio medio de 1 a 6 μm y en el tercio pulpar de 1.5 a 6 μm . Como se puede apreciar, la máxima distribución del diámetro se mantuvo pero la mínima fue aumentando del tercio externo al pulpar. Mucho más diferente fue el diámetro establecido en la predentina donde se encontraron túbulos desde 2 hasta 20 μm . La presencia de estos macrotúbulos en la predentina posiblemente se deba, a que en ellos se alojan dos o más odontoblastos que inicialmente venían separados, y que en la confluencia de estos hacia el centro del diente durante la formación de dentina secundaria, llegaron a unirse en este punto para posteriormente quedar uno solo, lo que hace pensar que hubo lisis de uno o más odontoblastos, dando paso a la formación de deltas o bi o trifurcaciones que se han venido observando al MEB por varios investigadores, (Kraus B., et al, 1972; Maniatopoulus C, Smith D., 1983; Ten Cate AR., 1986; Gisle F., 1992; Tagami J., et al, 1992; Us Bureau, 1994; Linden LA, 1995).

Por otro lado, el diámetro tubular decrece con el aumento en la edad, (Mjör IA., 1987; Kvaal SI., 1994), esto se determinó al establecer en cada uno de los grupos las medidas del diámetro tanto en profundidad en un mismo grupo como por edad. Se observó que el depósito de las sales minerales sobre la pared tubular en el grupo I era mayor en el tercio externo que en el pulpar. En el grupo II, la mayor precipitación sobre la pared tubular fue en el tercio externo, seguido por el pulpar y medio respectivamente. En el grupo III se observó la obliteración total de los túbulos en el tercio externo; en el medio se observaron depósitos de aspecto vítreo, pero a la vez petroso, sin llegar a obliterar los túbulos; el tercio pulpar se observó con una obliteración total de los túbulos, permaneciendo algunos todavía abiertos, observando que su pared tubular tenía las mismas características que las del tercio medio.

De acuerdo a las observaciones a magnificaciones a partir de 4,000X, la obliteración de los túbulos dentinarios es en base a lo descrito por varios autores, donde la red de colágena ejerce la función importante de ser depositaria de sales minerales en la manutención de la estructura dentinaria

(Thomas HF, Carella P, 1983; Sigal MJ, 1984; Alcántara CM, 1993). Pero la manera de cómo se lleva a cabo la obliteración tubular, de acuerdo a las observaciones realizadas, se presume que la matriz de colágena donde se depositan las sales minerales crean un especie de anillos que circunscriben al túbulo, separados unos de otros, donde en la cresta se observan elevaciones y depresiones, los cuales con el continuo depósito de estas sales en la red de colágena, se unen estas elevaciones y depresiones formando anillos continuos, más nítidos pero a la vez continuando separados, para que posteriormente estos espacios entre los anillos se rellenaran para formar una superficie densa, petrosa y continua, sobre la cual se volvía a repetir la misma mecánica cerrando cada vez más el lumen del túbulo hasta obliterarlo, esta dentina la describen muchos autores como dentina esclerótica, (Sigal MJ., 1984; Kvaal SI., 1994), o dentina secundaria, de esta manera, este trabajo posiblemente sea el primer estudio que describa la forma en que se lleva a cabo la obliteración tubular.

Composición

La dentina está constituida por material orgánico, inorgánico y agua, donde la fase inorgánica esta constituida por 35.1% de Ca, 16.9% de P, 5.6% de C, 1.23% de Mg, 0.6% de Na, 0.05% de K, 0.06% de F, 0.01% de Cl y 0.10% de pirofosfatos (PO_5), (LeGeros RZ, 1991). Sin embargo, este porcentaje elemental tiene sus variaciones, ya que en este estudio el microanálisis de Rayos X, por medio de la sonda EDX, fue incapaz de determinar la presencia de K, F^{-1} y $Cl^{\pm 1}$, pero si en el caso de Ca^{+2} , $P^{\pm 3.5, 4}$, Mg^{+2} , $C^{\pm 4}$ y O^{-2} , pero en diferentes porcentajes de los reportados por LeGeros.

En el caso del Mg^{+2} , solamente se encontró en los tercios más profundos de los diferentes grupos, sobre todo en el tercio pulpar, tendiendo a desaparecer hacia el tercio externo. Tal vez su presencia a estos niveles de profundidad este ligado, a la presencia de una fase cristalina diferente a la hidroxiapatita

(por ejemplo la β -Whitlockita). Por esta razón, en los tercios más externos o a medida en que avanza la edad, la presencia de Mg^{+2} empieza a descender su porcentaje o desaparece de la parte más externa hacia la zona más pulpar, lo cual le confiere propiedades diferentes en la estructura, observándose como un tejido más denso, (Araiza TMA, 2001).

Hay algunos estudios que avalan esto, es decir, que tanto el Mg^{+2} como también el CO_3 , influyen en el tamaño y calidad del cristal de Hidroxiapatita (HA), (LeGeros RZ, 1991). En este estudio se logró determinar la presencia de Mg^{+2} en los diferentes tercios, con mayor porcentaje en los tercios pulpares, declinando su concentración hacia el tercio externo. De esta manera, la presencia Mg^{+2} trae como consecuencia un efecto sinérgico en la síntesis de apatita, concluyendo de acuerdo a estudios sobre la formación de hidroxiapatita en la dentina y el hueso, que el tamaño y calidad de los cristales son menores cuando el Mg^{+2} forma parte en la composición de la apatita (LeGeros RZ, 1991).

En las observaciones al MEB se pudo establecer que las zonas más distantes a la pulpa son más densas y de aspecto vítreo, mientras que en las zonas más próximas a la pulpa el tejido era menos denso, tal vez precisamente por la presencia del Mg^{+2} , lo mismo sucede con la edad, es decir a mayor edad el tejido es más denso.

El Na^{+1} únicamente se encontró en el tercio medio y externo del grupo III, y en el tercio externo del grupo I, algunos autores describen la función del Na junto con el K, que es la de permitir el transporte de fluidos y de Ca^{+2} sobre todo en la parte más externa de la dentina (Coffey CT, 1970).

Por lo demás, todos los tercios están compuestos por lo mismo siendo los elementos de mayor presencia el calcio (Ca^{+2}) y el fósforo ($P^{\pm 3.5, 4}$), donde al establecer su relación Ca/P (estequiometría) sobre pasan los niveles normales máximos de 1.67 (LeGeros RZ, 1991), para que puedan

considerarse como apatita, así pues, los datos arrojados en el estudio establecen una mínima de 1.86 y una máxima de 2.15 , por cual es obvio pensar que la estructura dentinaria no solo esta formada por hidroxiapatita, sino que también hay presencia de alguna otra fase cristalina (LeGeros RZ, 1991), corroborado esto con los resultados obtenidos con IR y μ -Raman donde se observaron picos característicos de CO_3 , CaCO_3 y PO_4 .

Espectroscopía de Micro-Raman

Tal como se conoce en la actualidad, la composición química de los dientes tiene fundamentalmente una base de apatita, es decir que puede contener diversos elementos en una estructura de calcio y fosfato (LeGeros RZ, 1991). En los fenómenos de adhesión dental, los agentes modificadores de la superficie (silanos y huretanos) juegan un papel determinante para mejorar los fenómenos de retención y adhesión. Sin embargo, el sustrato dentina puede aumentar o disminuir el resultado final del procedimiento, por lo tanto al conocer la composición química del sustrato se podrá mejorar o modificar el desempeño de los materiales restauradores.

El análisis de compuestos inorgánicos en los tejidos dentales no es un hecho totalmente novedoso, sin embargo lo que comenzó como un intento de modificación de la pared dentinaria mediante el uso de un láser para obtener ambientes y superficies estériles (Tsuda H, Arends J, 1997) ha permitido desarrollar una técnica de caracterización que con el tiempo se ha convertido en una herramienta muy útil en la caracterización de los componentes inorgánicos que componen los tejidos calcificados (Nashino M, *et.al.*, 1981). Es importante mencionar que en este estudio se aplicó la caracterización inorgánica de la dentina por medio de la interpretación de las bandas de absorción en el espectro infrarrojo, este es uno de los pocos reportes existentes en el estudio de la dentina humana, ya que los publicados con anterioridad únicamente han sido relacionados con la identificación de componentes inorgánicos en el esmalte dental, como en el reporte publicado

por Kuroda y Fowler en 1984, donde hacen un análisis de los cambios estructurales y de cambio de fases del esmalte humano sometido a radiación láser en un modelo *in vitro* utilizando la espectroscopía infrarroja. Otro reporte relacionado con la aplicación del Raman se relaciona con el estudio del cálculo dental humano: Sin embargo, a pesar de que el desarrollo y aplicación de la espectroscopía de Raman es cada día más utilizada, la aplicación del micro-Raman es relativamente reciente, esta característica permite el análisis de áreas tan pequeñas como de 1 μm , a diferencia del Raman normal, en donde el punto de enfoque es cercano al ciento de micras. La utilidad de esta técnica en la identificación de cambio de fases esta bien establecida para el caso de sustancias ya calcificadas como el caso de esmalte y cálculo dental (Tsuda H, Arends J, 1993), pero su aplicación en casos de dentina está muy poco explorada, y por ello es necesario aprovechar las ventajas que representa la aplicación de esta técnica no sólo en la determinación de la composición y los cambios que ocurren cuando se le aplica un adhesivo o primer en su superficie, sino también para determinar los eventos que ocurren con el empleo de los diversos materiales dentales empleados en la práctica diaria.

De hecho ya hay un primer estudio realizado en esmalte humano, obteniendo resultados muy importantes (Aminzadeh A, Shahabi S, Walsh LJ, 1999), en el caso de la dentina humana este es el primer trabajo realizado bajo esta técnica.

CONCLUSIONES

Grosor

El grosor de la dentina puede ser afectado por diferentes factores, entre ellos podría mencionarse la edad y la función masticatoria.

La mayor variabilidad de grosor se observó en el grupo III con respecto de los demás, no estableciendo diferencia entre el I y II.

Estructuralmente

Las características superficiales: textura, densidad y diámetro tubular son diferentes entre los grupos.

En cuanto a profundidad, aunque se observan los mismos elementos (túbulos, dentina intertubular, pared tubular, etc.) la distribución, densidad y diámetro son distintas, lo cual podría influir directamente en los fenómenos de adhesión.

El estudio de la dentina a partir de grupos de edad permite la diferenciación de las estructuras que desaparecen con el tiempo (túbulos dentinarios) y otros que incrementan su presencia (dentina intertubular), siendo más notable en los grupos I y II.

Este es el primer estudio donde se describe la obliteración total y parcial de los túbulos en el tercio externo y pulpar respectivamente, sin obliteración del tercio medio en el grupo de personas de los 50 años en adelante.

La obliteración no se lleva a cabo de manera homogénea en la pared tubular, sino por la aposición en forma de crestas y después de anillos

Este es el primer estudio en describir la presencia de macrotúbulos en la pared tubular de hasta 20 μ m.

Composición

El análisis elemental encontrado difiere de los reportados debido a condiciones de manejo de muestras y origen de las mismas. En este trabajo se identificó la fuente y características de los especímenes empleados.

La relación estequiométrica de Ca/P excedió la determinada para la hidroxiapatita, lo cual se explica por la presencia de carbonatos (Ca CO₃).

No existe diferencia de grupos funcionales con respecto a la edad y profundidad de la dentina.

Este es el primer trabajo de aplicación de la técnica de μ Raman para el estudio de la dentina humana

Como punto final, se considera que la estructura y la composición química de la dentina a diferente edad y profundidad es variable en cada grupo, y esta condición puede influir en los fenómenos de adhesión.

RECOMENDACIONES FUTURAS DE INVESTIGACIÓN

- Estructura y composición de la dentina dependiendo de la función masticatoria de las cuspides (trabajo y balance).
- Características estructurales y de composición de la dentina humana en dientes de la primera dentición.
- Caracterización de la interfase de unión entre la dentina y los sistemas adhesivos.
- Comportamiento de la interfase de unión a diferentes profundidades.
- Determinación de los Ca CO_3 en dentina.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alcántara C. M. *Caracterización del Esmalte Dental Humano por Microscopía Electrónica de Transmisión*. Tesis UNAM. , Mar. 1993.
2. Agullo-Rueda F, *Espectroscopía de Raman*, capítulo 16.2 en *Introducción a la Ciencia de Materiales, Técnicas de preparación y Caracterización*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, España, 1993: 691-702.
3. Aminzadeh A, Shahabi S, Walsh L.J, "Raman spectroscopic studies of CO₂ laser-irradiated human dental enamel", *Spectrochimica Acta Part A*; 55; 1999: 1303-1308.
4. Araiza TMA., Comunicación personal; 2001.
5. Bartelstone H.J. "Radioiodine Penetration Through Intact Animal with Uptake by Bloodstream and Thyroid Gland". *J Dent Res*, 1951; 30: 728-733.
6. Barrio-Paredes R.A. *Formación de Imágenes en el Microscopio Electrónico*. México D.F. Universidad Autónoma de México. 1982, pp: 94.
7. Berkovitz BKB, Holland GR, Moxham BJ. *Dentine. En: Oral Anatomy, Histology and Embriology*. 2ª Ed. Londres, Wolfe Publishing Ltd., 1992: 130-145.
8. Begue-Kirn C., Smith A.J., Ruch J.V., Wozney J.M., Purchio A., Hartmann D., Lesot H. "Effects of Dentine Proteins, Transforming Growth Factor β_1 (TGF β_1) and Bone Morphogenetic Protein 2 (BMP2) on the differentiation of Odontoblast in Vitro", *Int J Dev Biol*, 1992; 36; 491-503.
9. Begue-Kirn C., Smith A.J., Loriot M., Kupferle C., Ruch J.V., Lesot H. "Comparative Analysis TGF β_s , BMP s , IGF1, msxs, Fibronectin, Osteonectin and Bone Sialoprotein Gene Expression During Normal and in Vitro-induced Odontoblast Differentiation", *Int J Dev Biol*, 1994; 38; 405-420.
10. Bjørndal L, et al, " Automated Image Analysis Applied to the Odontoblast-Predentine Region in Undemineralized Sections of Human Permanent Third Molars", *Archs Oral Biol*, 1997; 4. 329-332.
11. Castaño MV. "Notas" Comunicación personal 2001
12. Coffey C.T., et. al.; "Analysis of Human Dentinal Fluid", *Oral Surg*, 1970; 30: 835-837.

13. Colthup N.B, et al. *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy* 3rd Edition San Diego CA. , Academic Press, Inc, 1990, pp: 547.
14. Cullity B.D. *Elements of X-Ray Diffraction*. Adisson-Wesley Pub. Co., Inc.1978.
15. Davis W.: "Histología y Embriología Bucal". Interamericana. McGraw- Hill, México D.F., 1988: 117- 146 pp.
16. Di Renzo M. : "Adhesive Bonding to Human Dentin", Aug 31 1995 Internet. S/P.
17. Fessenden R.J. and Fessenden J.S. *Química Orgánica. Cap.8, Espectroscopía I: Infrarrojo y Resonancia magnética nuclear*. México D.F. Grupo Editorial Ibero- América, 1984, pp: 320-382.
18. Foreman PC, Soames JV, "Comparative Study of the Composition of Primary and Secondary Dentine", *Caries Res*, 1989; 23: 1-4.
19. Forssell-Ahlberg K, Brdnstrvm M, Edwall L. "The Diameter and Number of Dentinal Tubules in Rat, Cat, Dog and Monkey. A Comparative S.E.M. Study". *Acta Odontol Scand*, 1975; 33: 243-244.
20. Frank R.M.: "Attachment Sites Between the Odontoblast Process and the Intradentinal Nerve Fibre", *Arch Oral Biol*, 1968 b, 13: 833-834.
21. Frank R.M.: "Ultrastructural Relationship Between the Odontoblast, its Process and the Nerve Fibre". In: *Dentine and Pulp: Their Structure and Reactions*, N.B.B. Symons, Ed., London: Livingstone, 1968 a, pp. 115-145.
22. Garberoglio R., Bränström M. "Scanning Electron Microscopic Investigation of Human Dentinal Tubules. *Arch Oral Biol*. 1976; 21: 355-362.
23. Gisle Fosse, et al. : "Numerical Density and Distributional Pattern of Dentin Tubules", *Acta Odontol Scand*, 1992; 50; pp 201-210.
24. Goldstein J.I. et.al. *Scanning Electron Microscopy and X Ray Microanalysis*. New York. , Plenum Press. 1981, pp: 663.
25. Grayson W, Marshall Jr, "Dentin: Microestructure and Characterization" in: *Dental Composites and Adhesives in the 21st Century The Gunnar Ryge Memorial Symposium (Adhesives Symposium)*, Quintessence Int., 1993; 9: 606-617.
26. Gysi A.: "An Attempt to Explain the Sensitiveness of Dentine", *Br J Dent Sci*, 1900; 43: 865-868.

27. Heimendhal M.V. *Electron Microscopy of Materials*. New York. Academic Press 1980.
28. Hendra P.J. *Fourier Transform Raman Spectroscopy*, in: *Modern Techniques in Raman Spectroscopy*, J.J. Laserna (Ed), Wiley, Chichester, UK, 1996, 73-108.
29. Huw F. Thomas. : "The Extent of the Odontoblast Process in Human Dentin", *J Dent Res.* ,1979, 58 (D): 2207-2218.
30. Isokawa S, et. al. : "A Scanning Electron Microscopic Observation of Etched Human Peritubular Dentine", *Arch Oral Biol*, 1970, 15; 1303-1306.
31. Jenkins G.N. *Permeabilidad y Cambios de los Tejidos Dentales en el Envejecimiento*. En: *Fisiología y Bioquímica Bucal*. México, Limusa, 1983: 179-212.
32. Jenkins R. *An Introduction to X-Ray Spectrometry*. London, Great Britain. Ed. Heyden. 1976, pp: 123.
33. Jimenez SS, "Micro-Raman spectroscopy: a powerful technique for materials research", *J Microelectronics*, 2000; 31: 419-427.
34. Jones S.J., Boyde A. *Ultrastructure of Dentin and Dentinogenesis*. En *Linde A.(Ed.): Dentin and Dentinogenesis*. Vol. I. Boca Raton, CRC Press, 1984: 17-36.
35. Kraus B., Jordan R., Abrams L. : *Anatomía Dental y Oclusión*. Ed. Interamericana 1972, 133-188 pp.
36. Kuroda S, Fowler BO: Compositional, structural, and phase changes in *in vitro* laserirradiated human tooth enamel. *Calcified Tissue Int*, 36(4):361-9, 1984.
37. Kvaal S.I, et al.: "Relationship Between Age and Deposit of Peritubular Dentine. *Gerodontology*, Dec. 1994, 11 (12), pp. 93-8.
38. LeGeros. R. Z; *Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine*. Ed. Karger 1991. Pag. 1-44, 108-129.
39. Lesot H., Smith A.J., Tziafas D., Begue-Kirn C., Cassidy N., Ruch J.V., "Biologically Active Molecules and Dental Tissue Repair: a Comparative Review of Reactionary and Reparative Dentinogenesis with the Induction of Odontoblast Differentiation in Vitro", *Cells and Materials*, 1994; 3, 199-218.

40. Linde A, "The Extracellular Matrix of the Dental pulp and Dentin" In; Session II: Cells and Extracellular Matrices of the Dental pulp; C.T. Hanks, Chairman, J Dent Res, 1985; Spec Iss: 523-529.
41. Linde A.: "Structure and Calcification of Dentin". In: Bonucci E. Calcification in Biological Systems., Boca Raton, FL: CRC Press, 1992: 269- 301pp.
42. Linde A., Goldberg M.: "Dentinogenesis", *Crit Rev Biol Med.*, 1993, 4; 679-728.
43. Linde A.: "Dentin Mineralization and the Role of Odontoblast in Calcium Transport", *Connect Tissue Res.*, 1995, 33:163-170.
44. Linden L.A., Ö. Källskog and M. Wolgast. : "Human Dentin as a Hydrogel", *Archs oral Biol.* 1995, 40 (11):991-1004.
45. McCreery RL, *CCD array detectors for multichannel Raman spectroscopy*, in: J. Sweedler, K Ratzlaff, M Denton (Eds), *Charge Transfer Devices in Spectroscopy*, VCH, New York, 1994: pp 227-279.
46. Maniatopoulos C. and Smith D. C.: "A Scanning Electron Microscopic Study of Odontoblast Process in Human Coronal Dentine", *Archs Oral Biol.* , 1983, 28 (8):701-710.
47. Martínez R. E. *Oclusión*; Vicova Editores; México D.F., 1978: 271-328.
48. McCreery R.L. *Instrumentation for Dispersive Raman Spectroscopy*, in: *Modern Techniques in Raman Spectroscopy*, J.J. Laserna (Ed), Wiley, Chichester, UK, 1996, 41-72.
49. Mjör I.A.: *Reaction Patterns of Dentin in Dentinal and Dentin Reactions in the Oral Cavity* , Eds by Thylstrup A. Leachs S.A and Quist V., 1987 pp.27-31
50. Mjör I.A.; "The Density and Branching of Dentinal Tubules in Human Teeth", *Archs Oral Biol.*, 1996; Vol 41, No. 5: 401-412.
51. Nagai N. and Frank R.M.; " Electron Microscopic Autoradiography of ⁴⁵Ca During Dentinogenesis", *Cell Tissue Res*, 1974; 155: 513-524.
52. Nashino M, Yamashita S, Aoba T, Okazaki M, Moriwaki Y. The Laser spectroscopic studies on human enamel and precipitated carbonate-containing apatites. *J. Dental Research*, 60(3):751-5, 1981.
53. Oatley C.W. *The Scanning Electron Microscope. Part I, The instrument.* Great Britain. 1972, pp: 205.

54. Parker F.S. *Applications of Infrared, Raman and Resonance Raman Spectroscopy in Biochemistry*. New York, Plenum Press, 1983, pp: 550.
55. Pashley D.H., Nelson R., Pashley E.L. "In Vivo Fluid Movement Across Dentin in the Dog". *Arch Oral Biol*, 1981; 26: 707-710.
56. Pashley D.H. et al. "Scanning Electron Microscopy of the Substructure of Smear Layers in Human Dentin", *Archs Oral Biol.*, 1988, Vol 33 (4), pp; 265-270.
57. Pashley D.H. "Dentin: A Dynamic Substrate-A Review". *Scan Microsc*, 1989; 3: 161-176.
58. Pashley DH, Matthews WG, Zhang Y, Johnson M, "Fluid Shifts Across Human Dentine *In Vitro* in Response to Hydrodynamic Stimuly", *Archs Oral Biol*, 1997; 41: 1065-1072.
59. Reyes J. *Difractometria*. Reunión Nacional de Difractometria, Asociación Mexicana de Microscopia. 1996.
60. Rowles SL; *Chemistry of the Mineral Phase of Dentine*; in Miles AEW (ed): *Structural and Chemical Organization of Teeth*. New York, Academic Press, 1967, vol.II, pp 201-246.
61. Sabsay B., Stetler-Stevenson W. G, Lechner J.H, Veis A, "Domain Structure and Sequence Distribution in Dentin Phosphophoryn". 1991 *Biochem J.*; 276: 699-707.
62. Schilke R, Lisson JA, Baub O, Geurtsen W, "Comparasion of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation", *Archs Oral Biol.*, 2000, vol 45: 355-361
63. Seltzer S, Bender JB. *The Dental pulp. Biologic Considerations in Dental Procedures*. 3^a Ed. San Luis, Ishiyaku EuroAmerica, Inc., 1990.
64. Shellis R.P. " Structural Organization of Calcosforites in Normal and Rachitic Human Dentin". *Archs Oral Biol*. 1983, 28, pp; 85-95.
65. Sigal M. J., et. al.; "A Combined Scanning Electron Microscopy and Immunofluorescence Study Demonstrating that the Odontoblast Process Extends to the Dentino-enamel Junction in Human Teeth", *Anat. Rec.*, 1984 b, 210: 453-462.
66. Sloan A.J., Smith A.J. "Stimulation of Dentine-Pulp Complex of Rat Incisor teeth by Transforming Growth Factor- β Isoforms 1-3 in Vitro" *Archs Oral Biol.*, 1999, 44; 149-156.

67. Smith A.J., Cassidy N., Perry H., Begue- Kirn C., Ruch J.V. Lesot H. "Reactionary Dentinogenesis", *Int J Dev Biol*, 1995; 39, 273-280.
68. Tagami J, et al. "Effect of aging and Caries on Dentin Permeability". *Procc Pin Dent Soc.*, 1992; 88: 149-154.
69. Ten Cate A.R. *Histología Oral. Desarrollo, Estructura y Función*. 2ª Ed. Buenos Aires, Editorial Médica Panamericana, 1986.
70. Thomas H. F. and Carella. P."A Scanning Electron Microscope Study of Dentinal Tubules from Un-Erupted Human Teeth". *Archs Oral Biol.* , 1983, 28 (12):1125-1130.
71. Thomas H. F. and Carella P.: "Correlation of Scanning and Transmission Electron Microscopy of Human Dentinal Tubules", *Arch Oral Biol.* , 1984; 29; 641-646.
72. Thomas H.F.: "Session V: Dentin-Predentin Complex and Its Permeability" W.R. Cotton, Chairman, *J Dent Res*. 1985, 64 (Sec Iss):607-612.
73. Trautz Or. : Crystalline Organization of Dental Mineral; in Miles AEW (de): Structure and Chemicals Organization of Teeth. New York, Academic Press 1967, pp. 165-200.
74. Tsuda H, Arends J: Raman spectra of human dental calculus. *J Dental Research*, 72(12): 1609-13, 1993.
75. Tsuda H, Arends J: Raman spectroscopy in dental research: a short review of recent studies. *Adv Dent Res*, 11(4):539-47, 1997.
76. Us Bureau of Health Professions Model Education Projet HHS. : "Dentin Microstructure", 1994. Internet S/P.
77. Valdrè G. et al."La Microscopia Elettronica a Scansione (SEM) e Microanalisi (EDS) Aplicata allo Studio dei Biomateriali per Uso Odontostomatologico. Nota 6". *Minerva Stomatol*. 1995, Vol. 44, (1-2), pp: 55-68.
78. Veis A.: *Dentin Composition*; in Lazzari E P (de); Handbook of Experimental Aspect of Oral Biochemistry. Boca Raton CRC Press.
79. Willard HH, Merrit LL, Deam JA, *Espectroscopía de Raman; en: Metodos Instrumentales de Análisis*, 1991; Grupo Editorial Iberoamericana Settle F.A.: 313-330.
80. Wise G.E., Fan W. "Immunolocalisation of Transforming Growth Factor Beta in Rat Molars", *J Oral Pathol Med.*, 1991; 20; 74-80.

81. Yacamán M.J., Reyes J. *Microscopia Electrónica, Una Visión del Microcosmos*. México D.F., Fondo de Cultura Económica, 1995.
82. Yamada T., et al. : "The Extent of the Odontoblast", *J Dent Res.*, 62 (7):798-802.