

01475

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**“LÍNEAS INCREMENTALES DEL CEMENTO DENTAL
HUMANO Y SU RELACIÓN CON LA EDAD
CRONOLÓGICA”**

TESIS

**que para obtener el grado de
Maestro en Ciencias Odontológicas Básicas**

presenta

LUIS ALBERTO REGALADO RUIZ

**Tutor: Dr. Carlos Serrano Sánchez
Asesor: Antrop. Andrés del Ángel Escalona**

México, D. F.

2005

m343948



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.

“En lo tocante a la ciencia, la autoridad de un millar no es superior al humilde razonamiento de una sola persona”

Galileo

A la memoria del Ing. José Regalado Ruiz,
“unas flores para San Vicente y que en Juchitán perdonen mi muerte”

A Noemi, solo por su estoica complicidad

A naa' Nati y taá Feli
diuxhi gapaa latuú

A mis hermanos por toda su confianza y apoyo

A mi maestro Andrés del Ángel E., por su paciencia
y conocimientos compartidos

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por su apoyo al otorgarme la beca para estudios de maestría (número 172618).

A la Facultad de Odontología,
al Instituto de Investigaciones Antropológicas
y a la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM

Agradezco la confianza del Dr. Carlos Serrano Sánchez al aceptar la responsabilidad de este proyecto, además de su fina disposición para atenderme.

Fue una suerte contar con la ayuda del Antrop. Andrés del Ángel E., su talento fue determinante para la realización de este trabajo y para comprender muchos de los textos relacionados con el tema y con la carga académica.

Gracias, Andrés

Quiero mencionar a las demás personas que hicieron posible esta realidad.

Del Posgrado de Odontología

Dr. Higinio Arzate
Dr. Luis Gaitán Cepeda
Dra. Elba Leyva Huerta
Lic. Francisco Soto
Sr. Teodomiro Pérez
Luz, Laura, Lorena y Anita

Del Instituto de Física

Dr. José Reyes Gasga
Dr. Jesús Arenas
Pedro Mexía

De Antropológicas

Dra. Linda Manzanilla
Dra. Emily McClung
Ing. Luis A. Torres Montes
Pas. Rafael Reyes
Quím. Manuel Reyes
Ing. Patricia Peláez

De la FES Iztacala

C. D. Carlos Matiella Pineda
Mtro. Francisco Gómez Clavel

Los doctores Luis Felipe Jiménez, de la Facultad de Ciencias, y Jorge Guevara, del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, junto con Higinio Arzate y José Reyes fueron mis profesores durante la maestría, quienes me brindaron un espacio y un tiempo en sus laboratorios.

Guillermo Goussen me ayudo con la corrección del texto. Gracias a todos.

Índice

Agradecimientos

Resumen.....	7
<i>Abstract</i>	9
I. Introducción.....	11
II. Antecedentes	12
Los dientes como medio para estimar la edad.....	12
El cemento dental como medio para estimar la edad	18
Generalidades del cemento dental	23
Líneas incrementales	38
III. Planteamiento del problema	40
IV. Justificación	41
V. Objetivos e hipótesis.....	42
VI. Material y método.....	43
VII. Resultados	47
VIII. Discusión.....	57
IX. Conclusiones.....	60
Bibliografía	62
Anexos	67

Índice de cuadros

- Cuadro 1. Pruebas de los métodos de estimación de edad en sujetos adultos
- Cuadro 2. Variantes probadas en la estandarización de un procedimiento histológico para la observación de las líneas incrementales.
- Cuadro 3. Resumen de la metodología empleada para la observación y conteo de las líneas incrementales.
- Cuadro 4. Relación de casos estudiados.

Índice de figuras

- Figura 1. Cementocito dentro de una laguna incluidos en la matriz del cemento.
- Figura 2. Clasificación del cemento.
- Figura 3. Cemento acelular de fibras extrínsecas (AEFC).
- Figura 4. Cemento celular mixto estratificado (CMSC).
- Figura 5. Cemento celular de fibras intrínsecas (CIFC).
- Figura 6. Cemento intermedio.
- Figura 7. Unión cemento-esmalte.
- Figura 8. Líneas incrementales del cemento.
- Figura 9. Diagrama de dispersión de la correlación entre las líneas incrementales y la edad cronológica.
- Figura 10. Regresión lineal que expresa la relación edad/conteo ajustado.
- Figura 11. Entierro 73 de la colección osteológica de Coapa, Chiapas.
- Figura 12. Líneas incrementales de cortes longitudinales de un incisivo lateral derecho pertenecientes a un espécimen con una antigüedad aproximada de 500 años.
- Figura 13. Corte transversal de un canino sin desmineralizar. Imagen obtenida del SEM de bajo vacío (500x).
- Figura 14. Mayor acercamiento (1000x) del espécimen de la figura anterior.
- Figura 15. Seguimiento de la imagen anterior (SEM de bajo vacío 2000x).
- Figura 16. Corte desmineralizado teñido con fluoresceína a 1%, observado con microscopía fluorescente (50x).

Resumen

Uno de los problemas relevantes y cotidianos de la biología esquelética es la dificultad de lograr buenas estimaciones de la edad del individuo a partir de sus restos. Tomando en cuenta la capacidad de conservación de los dientes en diferentes contextos (arqueológico, paleontológico y forense), resulta interesante estudiar los cambios ontogenéticos de los tejidos que lo constituyen, con la finalidad de obtener indicadores cuantificables que sirvan de base en la construcción de un método de estimación de la edad, que sustituya, por precisión a los métodos hasta hoy empleados.

El cemento dental es un tejido conectivo mineralizado que cubre la raíz de los dientes, cuya función principal es la de servir como medio de fijación de las fibras provenientes del ligamento periodontal. Este tejido tiene la peculiaridad de mostrar en su microestructura una serie de líneas superpuestas periódicamente, que resultan de su incremento inducido por el estrés masticatorio. Con base en esto, se han sugerido varias técnicas para contar dichas líneas y emplearlas en el diseño de un modelo que relacione este proceso biológico con la edad cronológica. Nuestro objetivo es corroborar dicha relación mediante el estudio de varios factores involucrados.

Inicialmente se realizaron pruebas técnicas preliminares en cinco dientes unirradiculares encaminadas a establecer la manera óptima de observar y contar las líneas incrementales. Se observó que la alternativa consistente en desmineralizar los dientes y cortarlos en grosores de 5 a 7 micras, teñidos con cristal violeta mostró mejores resultados en cuanto a la visibilidad de las líneas. A partir de estas observaciones, se analizó una muestra de 17 dientes obtenidos de sujetos de edad conocida. Se encontró una buena correlación entre el número de líneas y la edad; el análisis de regresión simple entre la edad

cronológica y el conteo ajustado (no. de líneas + edad de brote) mostró una pendiente de 1.916 y una intersección en y de -5.139 ; el error estándar fue de 6.37 años, por lo que nuestro modelo de regresión para la estimación de la edad es: $y = -5.139 + 1.91x$. Como otro de nuestros objetivos es verificar la posibilidad de observar las líneas incrementales en especímenes antiguos, aplicamos el mismo procedimiento en dos dientes cuya cronología data de la época colonial; en uno de ellos las líneas fueron visibles y en el otro se observó una extensa destrucción del cemento.

Por último, y con la finalidad de encontrar una explicación microscópica del fenómeno de las líneas incrementales, se emplearon dos técnicas: la microscopía fluorescente y la microscopía de barrido. En la primera sólo se observó una estructura reticular que al parecer corresponde a las fibras de colágena, mientras que en la de barrido se observó una discontinuidad en la zona del cemento que se relaciona con una línea incremental; lo que sugiere que las líneas observadas en el microscopio óptico son en realidad pequeños surcos en la superficie del cemento.

Con base en estos resultados, se concluye que el conteo de las líneas incrementales puede, en efecto, servir de base en la elaboración de una técnica de estimación de la edad aplicable tanto en especímenes contemporáneos como en antiguos, aunque para validarlo es necesario abundar en el estudio de los factores biológicos involucrados en la formación de las líneas, y realizar además estudios con un mayor número de casos que permitan establecer los niveles de confianza.

Abstract

One of the relevant and every day problems of skeletal biology consist of obtaining good estimations of an individual's age based on its remains. Taking into account the properties of conservation of teeth in different contexts — archaeological, paleontological and forensic— it is of interest to study the ontogenetic changes of their tissues in order to develop quantitative indicators age estimation than the current ones based on other skeletal traits.

The dental cementum is a mineralized connective tissue that covers the dental roots, with the main function of fixing the fibers of the periodontal ligament. In its microstructure this tissue shows a series of periodically superimposed lines, induced by masticatory stress. Various techniques have been proposed to count such lines and use them in the design of an analytical model that relates this biological process with chronological age. Our objective consists of evaluating that relationship through the observation of various factors involved.

Initially, a preliminary technique was tested in five single rooted teeth in order to establish the optimum method of observation and counting of the incremental lines. An alternative technique consisting of thin sections of 5-7 μm , demineralized and stained with cresil violet showed the best visibility of lines. Based on these observations, a sample of 17 teeth belonging of individuals of known age was analyzed. We found a good correlation between the number of lines and age, because the single regression analysis of chronological age versus the adjusted count (number of lines + eruption age) yielded a slope of 1.916 and an intercept of -5.139 , with an standard error of 6.37 years ($y = -5.139 + 1.91x$). In order to achieve our other objective, that is to observe incremental lines in ancient specimens, we applied the same procedure in two

teeth of the colonial period; lines were visible in one of them, and extensive damage of the cementum was observed in the other. Lastly, we carried out two techniques to find a microscopic explanation of the incremental lines: fluorescent microscopy and scanning electron microscopy. In the first case, only a reticular structure was observed just that apparently corresponds to the collagen fibers. In the second case, a discontinuity was observed in the cementum zone corresponding to an incremental line, that suggests that the lines visible in light microscopy are in fact little grooves in the cementum surface.

Based on these results, we conclude that counting the incremental lines can indeed provide a basis for the elaboration of an age estimation of technique, applicable in ancient and contemporary specimens. Nevertheless we point out the necessity of more detailed study of the biological factors involved in the process of line formation, and the establishment of confidence levels based on larger samples.

I. Introducción

Uno de los problemas relevantes y cotidianos de la biología esquelética es la dificultad de lograr buenas estimaciones de la edad del individuo a partir de sus restos óseos. Tomando en cuenta la pertinencia que tiene este dato en varios campos de la actividad científica, tanto básica como aplicada, y considerando la propiedad de conservación de los dientes en diferentes contextos (arqueológico, paleontológico y forense), hemos decidido abordar este problema desde el campo de la biología bucal.

En efecto, comparado con el resto, los tejidos dentales muestran una clara diferencia en cuanto al gradiente de deterioro observado debido a su composición química; además de su reducido tamaño y su ubicación anatómica que convierten al órgano dental en un recurso apreciable para estudiar los cambios ontogenéticos.

Con base en estas propiedades algunos autores han planteado una variedad de métodos basados en la histología dental, entre ellos el que se realiza a partir del conteo de las líneas incrementales del cemento radicular de los dientes permanentes, el cual constituye —en edades avanzadas del sujeto— una alternativa más precisa que la fundamentada en el examen macroscópico del esqueleto —cambios óseos de las articulaciones de la pelvis, sínfisis púbica y carilla articular, el extremo esternal de la cuarta costilla y el cierre de las suturas craneales (por ejemplo Genovés 1962, Iscan 1989, Iscan y Kennedy 1989, White 1991, Schwartz 1995).

II. Antecedentes

Los dientes como medio para estimar la edad

El proceso de envejecimiento induce una serie de cambios en todos los niveles de organización biológica que constituyen los organismos; tales cambios son producto de su propia *ontogenia*, la cual ha sido definida por Maturana y Varela (1999) “como la historia de la continua transformación estructural de los organismos, sin que exista una pérdida de organización, proceso que tiene lugar en ellos como resultado de su dinámica interna, sea o no inducido por sus interacciones con el medio donde se encuentra, y que ocurre sin interrupción de su identidad ni de su acoplamiento estructural a su medio”. Estos cambios han sido estudiados con la finalidad de obtener indicadores que sean empleados en la elaboración de un método confiable para la estimación de la edad de muerte en el ser humano y en otras especies de mamíferos. Varias propuestas en ese sentido han surgido con base en el análisis de los tejidos óseo y dentario principalmente.

Con respecto a los cambios que se presentan en los tejidos dentarios, éstos han sido clasificados en tres categorías: formativo, degenerativo e histológico. Los cambios formativos o de desarrollo son buenos indicadores de la edad hasta los primeros 12 años de vida; se dividen en las siguientes etapas: inicio de la mineralización, formación completa de la corona, erupción de la corona y la formación completa de la raíz. Algunos investigadores han asignado valores a cada uno de estas etapas con la finalidad de estimar la edad.

Por su parte, los cambios degenerativos son más frecuentes en la etapa adulta y también pueden servir de referencia para estimar la edad, entre los que se encuentran: los cambios de color, la atrición y los cambios en el nivel

de adherencia periodontal. Los cambios de coloración son muy variables y se relacionan con la dieta y la higiene oral. La atrición es el resultado de la función masticatoria y un fenómeno natural asociado con la edad. La abrasión, en cambio, que en ocasiones se confunde con la atrición, es una condición anormal que se caracteriza por un desgaste acelerado del esmalte, el cual puede ser provocado por varios factores: alimentos muy abrasivos, bruxismo o desgaste intencional por razones culturales. El nivel de adherencia periodontal puede ser también un factor relacionado con la edad, ya que la altura de la inserción de la encía tiende a disminuir con los años, aunque la enfermedad periodontal y la abrasión gingival pueden influir en la medición de este parámetro.

Por su parte, a los cambios histológicos se les conoce también como cambios internos del diente. Entre éstos se incluyen la formación de dentina secundaria, la aposición del cemento, y la resorción y transparencia radiculares.

Sustentado en lo anterior, se han propuesto varios métodos para estimar la edad, los cuales se clasifican en cuatro grupos: morfológicos, fisicoquímicos, epidemiológicos y combinados.

Métodos morfológicos. Se basan en mediciones antropométricas y en la observación de la macro y microestructura de los tejidos dentarios. Los criterios tomados en cuenta con mayor frecuencia se refieren a la erupción dental, el tamaño del ángulo mandibular, el peso de la mandíbula, la distancia del foramen mandibular a su propio borde, la distancia entre el borde incisal y el ápice de la raíz, el tamaño de la corona dental (mediciones mesiodistal y bucolingual), la abrasión del esmalte dental, la atrofia de la mandíbula y el maxilar, la cantidad de dentina secundaria y terciaria, la resorción de la superficie radicular, la aposición del cemento y la transparencia de la raíz.

Métodos físicos y químicos. Se basan en el análisis de la composición mineral de los tejidos dentarios y sus propiedades físicas; la búsqueda se enfoca principalmente a establecer la concentración de calcio y fosfato de los tejidos duros y su densidad.

Métodos epidemiológicos. Se basan en la evaluación estadística de varios cambios en el diente, los cuales tienen una relación directa o indirecta con la edad individual. Se incluyen, por ejemplo, la caries dental, el número de dientes obturados, el número de dientes extraídos, el número de dientes desvitalizados, el número y tipo de restauraciones protésicas y la presencia de enfermedad periodontal.

Métodos combinados. Son más complejos e incluyen varios criterios relacionados con la edad. Los métodos más conocidos fueron elaborados por Gustafson (1950), Johanson (1971), Falter (1974), Hiemers (1975) y Kilian (1986).

A. G. Gustafson, estomatólogo sueco, fue el primero en publicar un método para estimar la edad individual a partir de los dientes, tomando en cuenta seis criterios relacionados con los cambios que se presentan en los tejidos duros, los cuales se incrementan conforme avanza la edad —desgaste oclusal, capas de dentina secundaria y terciaria, grosor del cemento, extensión de la resorción radicular, longitud de la transparencia radicular y altura de la inserción gingival. A través del microscopio, él observaba los dientes cortados en plano sagital y les asignaba un valor en puntos que iba de 0 a 3. Asimismo, consideraba que la suma de estos puntos tenía un valor correspondiente en años. Inicialmente examinó un total de 41 dientes de personas de edad conocida, especificando el número de puntos para cada uno de los cambios.

Para estimar la edad de un individuo desconocido, Gustafson sumaba primero los puntos a partir de la observación de los cambios y después calcu-

laba la edad correspondiente en un diagrama de regresión. Como el error estándar fue calculado en 3.6 años para una sola observación, el autor decidió emplear un método de doble observación; si el grado de alguno de los cambios no se definía claramente, entonces el valor era únicamente alto o bajo. De esta manera, realizó dos observaciones en un intervalo de tiempo definido, por lo que el error estándar se redujo a 2.3 años. La precisión de la estimación, según Gustafson, se podría incrementar mediante la medición de varios dientes de un mismo individuo. El error promedio de una sola medición era de 3.6 años; con la medición de dos dientes el error promedio disminuía a 2.6 años, y con la medición de tres dientes este valor se reducía a 2.1.

El método de regresión lineal de Gustafson fue adoptado en algunos países como medio de identificación individual en casos forenses, aunque también fue cuestionado y modificado por otros investigadores. Por ejemplo, Pilin (1981) eliminó los criterios de altura de la inserción gingival y la transparencia radicular, debido a que éstos son muy difíciles de medir en especímenes antiguos. Una inconsistencia del método de Gustafson radica en el hecho de considerar que todos los parámetros tienen el mismo valor y no hacer una diferenciación de aquellos que tienen mayor relación con la edad o que son medibles de manera más objetiva.

Por otro lado, los criterios considerados en el método Johanson son los mismos que los planteados por Gustafson, sólo que el primero sugirió una estimación a través de una regresión múltiple, en el cual cada uno de los cambios fuesen medido de manera independiente y en relación con la edad; observó cortes microscópicos en un total de 162 dientes obtenidos de 31 hombres y 15 mujeres, y encontró que la regresión múltiple arrojó mejores resultados. Los valores calculados de cada uno de los cambios con base en estas observaciones fueron los siguientes:

$$\text{Edad} = 11.02 + 5.14A + 2.30S + 4.14P + 3.71C + 5.57R + 8.98T$$

Donde: A = abrasión, S = dentina secundaria, P = cambios periodontales, C = cemento secundario, T = transparencia radicular.

Johanson recomendaba el uso de incisivos para realizar la estimación y, de ser posible, observar varios de este tipo de diente para obtener mejores resultados.

Por su parte, Falter y Hiemer usaron los criterios de la transparencia radicular y la longitud de la cámara pulpar para estimar la edad. La técnica consistía en incluir dientes sin caries o enfermedad periodontal en cubos de plástico para, posteriormente, realizar cortes longitudinales y observarlos con microscopía de luz reflejada. Después se medía con un calibrador la longitud de la transparencia así como la longitud de la cámara, y los valores observados se confrontaban con el diagrama de Hiemer para tener una aproximación a la edad cronológica. Según los autores, los límites de confiabilidad y tolerancia eran sorprendentemente bajos, y consideraban además que con este método era posible estimar la edad de individuos de entre 20 y 60 años, con un error estándar de cinco años.

Kilian (1986) también se basó en la observación de seis cambios histológicos para desarrollar una técnica para estimar la edad. En su estudio realizó cortes de 0.1 a 0.25 mm con un instrumento rotatorio; posteriormente los cortes fueron montados en un portaobjetos con bálsamo de Canadá. Observó un total de 281 cortes obtenidos de 116 dientes anteriores sin enfermedad periodontal, extraídos de individuos de edad conocida. Antes de procesamiento histológico, se determinaron el grado de abrasión del esmalte y la altura de la inserción gingival, debido a que los dientes prácticamente fueron destruidos y estos dos rasgos no podían medirse. Se tomaron fotografías en blanco y negro de cada uno de los cortes con una técnica creada por el mismo autor. A cada

uno de los cambios se le asignó un puntaje con base en la clasificación de puntos de Kilian (0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 y 3). En un momento posterior, se realizó una segunda medición de todos los cambios, excepto de la abrasión y la inserción periodontal, ya que éstos no se podían medir en esta etapa. Por tal motivo, la segunda medición tenía menor valor, pero el autor demostró que sí valía la pena realizarla, ya que aumentaba los niveles de confiabilidad.

Otra alternativa interesante para estimar la edad cronológica es la que se basa en la medición de la transparencia de la dentina radicular de los dientes permanentes. Se sabe que el fenómeno de la transparencia es originado por la esclerosis de los túbulos dentinarios, la cual comienza al final de la segunda década de la vida en el extremo apical de la raíz y avanza de manera gradual hacia la corona. Una manera de monitorear este rasgo es transmitiendo luz a través de la raíz del diente en cuestión; las áreas escleróticas aparecen transparentes, y las normales, opacas. Esto da pie al nombre alternativo de “transparencia radicular”. Con base en lo anterior, Bang y Ramm (1970) observaron un total de 1,013 dientes entre incisivos, caninos y premolares, que en conjunto sumaban 1,132 raíces. Con la ayuda de un calibrador midieron la longitud de cada uno de estos especímenes, posteriormente indagaron sobre la correlación que existía entre la longitud de la transparencia y la edad cronológica, encontrando coeficientes mayores a 0.8 para los tres tipos de dientes. Finalmente, mediante varios análisis de regresión simple establecieron un modelo de estimación de la edad para casos desconocidos, con especificación para cada tipo de diente. Este método sirvió de principio para estimar la edad en especímenes antiguos; Bang (1993), por ejemplo, mediante la medición de la longitud de la transparencia de un canino y un segundo premolar de la arcada superior, estimó la edad de un espécimen de aproximadamente 7000 años de antigüedad. Beyer-Olsen *et al.* (1994) aplicaron la misma técnica para estimar

la edad de 248 individuos pertenecientes a la época medieval. Sus estimaciones fueron comparadas con otras obtenidas mediante la aplicación de métodos antropológicos, hallando una diferencia significativa ($p = <0.001$) entre ambos métodos. Esta técnica también ha sido empleada en casos forenses, como el que reportaron Kvaal y Doring (1999), en el que se estimó la edad cronológica de 25 sujetos que fallecieron en un accidente marítimo; aunque la edad cronológica real no se conocía, ellos consideran que los datos obtenidos son una buena aproximación.

El Cuadro 1 muestra un resumen de algunas técnicas para estimar la edad a partir de los tejidos dentarios, comparados con otros basados en la medición de los cambios que se presentan en otros tejidos.

El cemento dental como medio para estimar la edad

El método de estimación de la edad individual con base en la aposición de capas de cemento dental consiste básicamente en relacionar la edad cronológica del sujeto con la adición del número de capas depositadas que conforman este tejido y la edad de erupción del diente en cuestión. Esta técnica fue aplicada primero en mamíferos de vida marina (Laws 1952); posteriormente, a principios de los ochenta se realizó el primer estudio en seres humanos (Stott, Sis y Levy 1982), aunque sólo se observaron tres especímenes; más adelante el mismo Stott (1987), en su trabajo doctoral, analizó un mayor número de casos con el propósito de probar la hipótesis de que el número de líneas, sumado a la edad de erupción del diente, se aproximaba a la edad cronológica real. El principal aporte de este trabajo fue el procedimiento histológico y la técnica microscópica planteados que sirvieron de base para estudios posteriores. Con la finalidad de observar la variabilidad en el conteo de las líneas incrementales entre caninos y premolares, y de comparar la técnica de desmineralización con

la de no desmineralización, Douglas *et al.* (1986) observaron en una muestra de 42 dientes la diferencia en el número de líneas entre estos tipos de dientes, y descubrieron que el tejido mineralizado facilitaba la observación. Una de las primeras evaluaciones de la precisión de este método de estimación de la edad las realizaron Condon *et al.* (1986) con el análisis de 80 dientes provenientes de individuos con edad conocida; la correlación entre la edad real y la estimada fue 0.78 y el error estándar de entre 4.7 y 9.7 años, según la clase de diente. Una innovación importante en la técnica de observación y conteo de las líneas incrementales residió en la obtención de imágenes en tiempo real a través de un software (Wittwer *et al.* 2002), la cual facilitó la búsqueda del sitio ideal de conteo en el campo microscópico. Esta técnica reduce costos y tiempo de trabajo en el estudio de muestras grandes ($n = 433$), como las analizadas por Wittwer *et al.* (2003).

Con el propósito de comprender las características ultraestructurales de las líneas incrementales, Renz *et al.* (1997) analizaron el cemento radicular mediante varias técnicas microscópicas —de luz en campo claro, electrónica de barrido, confocal y electrónica de transmisión. Los resultados fueron confusos, de tal manera que los autores plantearon la posibilidad de que estas líneas fueran sólo un espejismo que se confundía con la estructura real del cemento radicular, por lo que concluyeron que no había explicación microscópica del fenómeno de las líneas incrementales (Renz *et al.* 1998). Asimismo, en su momento, Kvaal y Solheim (1995) cuestionaron lo planteado acerca del ritmo de formación de estas líneas. Por su parte Hillson (1996), después de realizar una revisión bibliográfica del tema, consideraba que el conteo de las capas del cemento podría servir de base para la elaboración de un método para estimar la edad, aunque también planteó varias dificultades:

Cuadro 1. Pruebas de los métodos de estimación de edad en sujetos adultos (tomado de Hillson 1996: 208, con modificaciones).

<i>Método</i>	<i>Correlación (r de Pearson) entre edades conoci- da y estimada</i>	<i>Diferencia media entre edades cono- cida y estimada (años)</i>	<i>Error estándar de la diferencia para la estimación de la edad</i>
Sínfisis púbica de Acsadi/Nemeskeri		10.8	7.9
Sínfisis púbica de Todd/Brooks		18.2	12.5
Sínfisis púbica de McKern/Stewart		22.5	15.0
Edad sumaria modificada	0.85	5.2	
Sínfisis púbica de Todd (modificada)	0.78	6.5	
Carilla auricular revisada	0.71	7.3	
Fémur proximal	0.53	9.3	
Suturas (revisada)	0.53	9.9	
Desgaste dental	0.71	7.9	
Desgaste dental de Miles		0.10-2.35	
Edad histológica ósea lamelar de Kerley	0.82	12.5	8.3
Edad histológica ósea promedio de Kerley	0.88	10.1	8.9
Mediciones del grosor del cemento	0.31-0.72		
Puntuación del grosor del cemento de Gustafson	0.07-0.40		
Puntuación del grosor del cemento de Johanson	0.22-0.48		
Conteos de capas de cemento	0.78	6.0	9.7
Puntuación de la translucidez de la dentina radical	0.86		7.1
Mediciones del volumen de la translucidez de la dentina radical	0.87	3.5	
Mediciones de la translucidez de la dentina radical	0.67		
Puntuación de la dentina secundaria de Johanson	0.59-0.74		
Anchura de la pulpa cervical/anchura dental (es decir, rellenas de dentina secundaria)	-0.46-0.77		
Método de Gustafson recalculado			11.28
Método de Gustafson, puntuación ST ponderada por diente			9.1
Método de Johanson		4.52	
Método de Gustafson modificado por Maples y Rice		5.03	
Método de Johanson con predicción bayesiana		7.0	
Mediciones de la translucidez de la dentina radical		6.5	
Método de la esclerosis de la dentina radicular de Bang y Ramm		5.15	

1. La técnica que involucra la descalcificación de los dientes para ser cortados con el microtomo y teñidos con hematoxilina —la cual es considerada por algunos autores como la mejor para la observación de las líneas —deja de ser funcional para especímenes arqueológicos.

2. Las capas del cemento varían de un lugar a otro dentro del mismo diente.

3. Aunque existen diferentes estrategias para controlar el error en el conteo de las capas, éstas siempre implicarán un elemento subjetivo que puede influir en mayor o menor grado en los resultados.

4. La relación entre las capas del cemento dental y la edad no ha sido claramente establecida.

Las líneas incrementales también están implicadas en estudios realizados en el campo de la arqueozoología y la paleoecología. En lo que respecta al primero, se ha revisado su potencial aplicación en el análisis de restos de animales recuperados de excavaciones arqueológicas. En el segundo se ha indagado sobre la relación que hay entre la pauta de formación de las líneas incrementales y las condiciones climáticas en las que habitaron ciertas especies de animales. Beasley *et al.* (1992) probaron dos métodos histológicos para observar las líneas incrementales en mamíferos modernos y arqueológicos. El procedimiento empleado en dientes procedentes de *Bos taurus* modernos consistió en cortar la raíz mesial de un molar superior, para después descalcificarla con ácido nítrico a 2%; posteriormente se realizaron cortes delgados con un microtomo, que fueron teñidos con hematoxilina de Ehrlich. Se analizó un total de ocho casos de animales de edad conocida. Según los resultados, existe una buena relación entre el número de líneas con la edad y estacionalidad de muerte.

El procedimiento para los especímenes arqueológicos se basó únicamente en incluir los dientes en resina y realizar cortes longitudinales de la raíz; la descalcificación y la tinción fueron descartadas. Desgraciadamente, en la mayoría de los casos las líneas no fueron visibles. Burke y Castanet (1995), por su parte, trabajaron con caballos (*Equus caballus*) con la finalidad de determinar la confiabilidad de las líneas incrementales como medio para estimar la estacionalidad de muerte, tanto en especímenes modernos como en arqueológicos; trabajaron con una muestra de 16 caballos de edad conocida y emplearon la técnica histológica en la que se desinfectan las mandíbulas para después deshidratarlas y fijarlas con alcohol; después, los dientes se extraían junto con el hueso adyacente con ayuda de una sierra manual, y se realizaban cortes en el extremo apical y parte de la corona, con la finalidad de reducir la longitud del diente. Enseguida, fueron incluidos en resina y con ayuda de discos de diamante de alta velocidad se realizaron cortes longitudinales de 2 mm en dirección bucolingual, los cuales fueron desgastados y pulidos hasta conseguir un grosor de 40 micras para, finalmente, observarlos con microscopía de luz polarizada. A pesar de reportar algunas irregularidades en la visibilidad de las líneas, notaron que el depósito de mineral en la matriz es lento en el mes de noviembre y se detiene durante los meses de diciembre y abril, que es cuando se observan las líneas oscuras en la superficie del cemento.

Aplicando la misma metodología, los autores también estudiaron la mortalidad en caballos procedentes de 12 sitios arqueológicos. Los resultados obtenidos muestran una gran variedad de patrones de formación de las líneas incrementales para cada estación del año.

Otro trabajo que tiene que ver con el estudio de la relación que hay entre la pauta de formación de las líneas incrementales y la estacionalidad de muerte en animales, lo llevó a cabo Landon (1993), quien observó un total de 61 dien-

tes obtenidos de vacas, cerdos y cabras, con la finalidad de establecer la temporada del año en la que estos animales eran sacrificados, dato que revela algunos aspectos del comportamiento cultural de cierta población antigua.

Generalidades del cemento dental

Cementum, o simplemente cemento, proviene de latín *caementum* (piedra de cantera), componente del diente y del periodonto. Los primeros estudios detallados de esta estructura fueron realizados por los alumnos del fisiólogo clásico Jan Evangelista Purkinje y por otro clásico, Anders Adolf Retzius.

El cemento es un tejido conjuntivo mineralizado que recubre la raíz de los dientes, presenta varias similitudes estructurales con el hueso compacto, sin embargo, y a diferencia de él, no está vascularizado, por lo que normalmente no sufre los procesos de reabsorción y remodelado. De esta manera, la cantidad de cemento aumenta de modo gradual durante el transcurso de la vida (Mjör 1990).

Como constituyente del aparato de inserción, el cemento sirve para fijar las fibras periodontales al diente. De manera análoga a como se unen al hueso alveolar. El cemento posee una distribución y una estructura menos constantes que el esmalte y la dentina; forma una capa de 10 a 15 micras en la región cervical y su espesor aumenta hasta 200 micras en dirección apical. Por regla general, tiende a ser más grueso en los canales mesiales y distales, así como en las zonas de bifurcación, y más delgado en la cara vestibular de la raíz.

La superficie del cemento está formada por una capa de cementoblastos, los cuales producen colágena, y otras proteínas de la matriz o sustancia fundamental; pero al quedar atrapados en esta matriz forman las lagunas del cemento que contienen a los cementocitos y los conductillos. Los cementocitos, por su parte, poseen las mismas características citológicas que los cemento-

blastos; sin embargo, los situados a cierta distancia de la superficie del cemento poseen una cantidad relativamente escasa de citoplasma y pocos organelos, lo cual indica una baja actividad celular. Las lagunas y conductillos se encuentran en el cemento celular y corresponden a sus homónimos del tejido óseo, sin embargo, las primeras se hallan localizadas más lejos y su distribución es más irregular que en el hueso y el sistema de conductillos es menos extenso que éste (Figura 1).

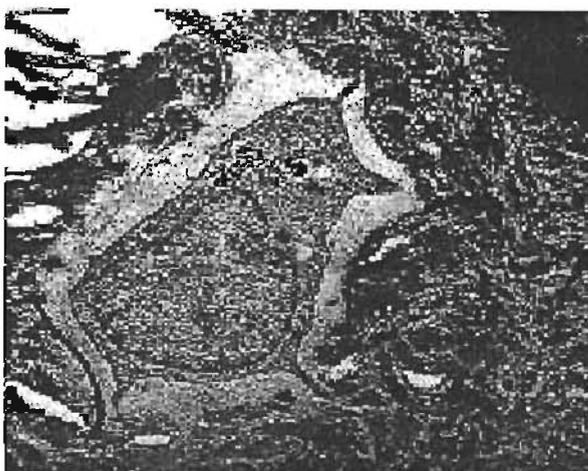


Figura 1. Cementocito dentro de una laguna incluidos en la matriz del cemento (MET 4500X, tomada de Berkovitz 1992).

Otra entidad importante del cemento son las fibras intrínsecas y extrínsecas, que representan dos sistemas con funciones totalmente distintas. Las fibras intrínsecas se inclinan paralelamente a la superficie de la raíz y se cree que pueden ser componentes de reparación primaria, producida por los cementocitos. En contraste, las fibras de Sharpey o fibras extrínsecas se incluyen en un ángulo recto a la superficie de la raíz y son responsables del anclaje del diente. Estas fibras, al parecer, son producidas inicialmente por las células del folículo durante el desarrollo, y después, por los fibroblastos del ligamento periodontal (Bartold y Narayanan 1998).

Tradicionalmente, se reconocen dos tipos de cemento: el celular y el acelular (Schroeder 1986). Se sabe que varias especies de herbívoros, como el elefante, el mastodonte, el caballo, el conejo y la rata, entre otros, muestran una capa de cemento que cubre la corona dental. Por tanto, se le ha denominado “cemento coronal”; aunque también se ha puntualizado la inconveniencia de llamarlo así, porque hay casos, como el del conejo, cuyos dientes crecen permanentemente y no permiten hacer una clara diferenciación anatómica entre la corona y la raíz. En razón de que este tipo de cemento consiste, en su mayor parte, de grandes porciones de sustancia mineralizada sin fibrillas de colágena también ha sido llamado “cemento afibrilar”, en contraste con el “cemento fibrilar”.

No obstante, posteriormente se demostró que, en ocasiones, el cemento coronal incluye porciones fibrilares y celulares y que, en efecto, podía adoptar una gran variedad de características morfológicas (celular fibrilar, acelular fibrilar y acelular afibrilar).

En los primeros intentos de clasificación del cemento se observó la presencia o ausencia del componente fibrilar. Asimismo, e igual que para el cemento coronal, se reconoció que había una enorme variación en la cantidad de los componentes afibrilar, fibrilar y celular del cemento de la raíz, que iba de su ausencia total hasta la gran abundancia. A pesar de estas dificultades, Jones (1981) propuso una clasificación más detallada basada principalmente en este componente fibrilar (Figura 2). Como puede verse, esta clasificación implica el reconocimiento de la importancia capital del componente fibrilar del cemento, pues en ellas se distinguen las fibras intrínsecas y extrínsecas. Desde el punto de vista biológico, esta clasificación es sumamente ventajosa, porque reconoce la importancia del componente fibrilar del cemento, pues en ellas se distinguen las fibras intrínsecas y extrínsecas. Además, reconoce que las célu-

las del cemento (cementocitos) constituyen una forma particular de cemento-génesis. Por esta razón deben estar incluidas y permanecer como la de la clasificación. Se reconocen, entonces, los siguientes tipos de cemento dental:

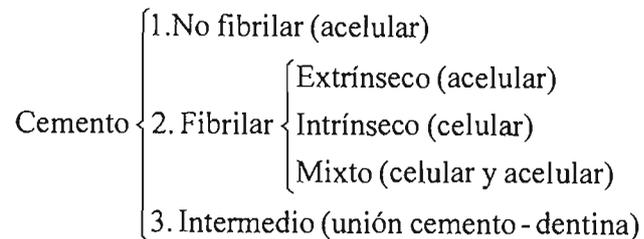


Figura 2. Clasificación del cemento realizada por Jones (1981) en la que considera, además de la presencia de cementoblastos, al tipo de fibras que están presentes en la superficie del tejido.

Cemento afibrilar acelular (CAA). No contiene ni células ni fibras de colágena sino una sustancia fundamental mineralizada. Se cree que es un producto de los cementoblastos y, en los humanos, cubre la superficie del esmalte, así como también constituye parte del cemento fibrilar extrínseco acelular. Su grosor varía entre 1 y 15 micras.

Cemento fibrilar extrínseco acelular (CFEA). Se compone, casi en su totalidad, de paquetes densamente dispuestos de fibras de Sharpey y no tiene células. Podría ser un coproducto de los fibroblastos y cementoblastos al proveer sustancia fundamental. A veces contiene parches o capas de CAA. En los humanos puede encontrarse en el tercio cervical de la raíz, pero puede extenderse en dirección apical. Su grosor va de las 30 a las 230 micras, aproximadamente (Figura 3).

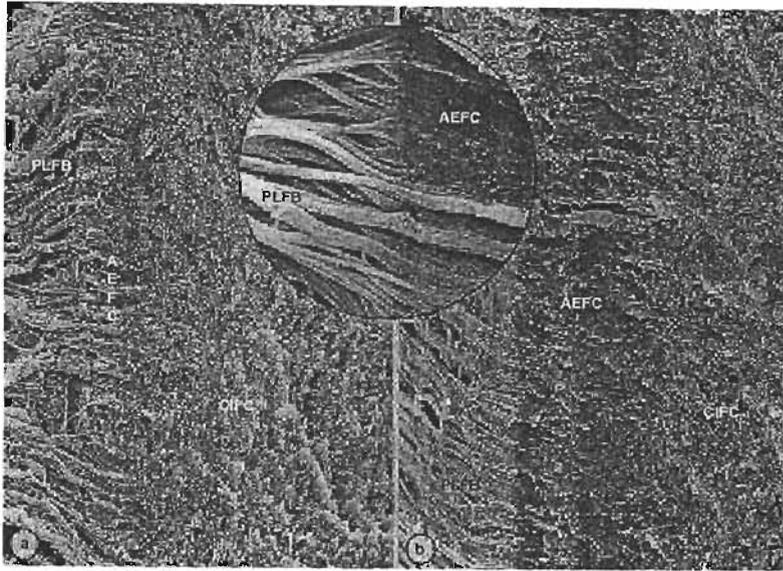


Figura 3. Superficie de la raíz en donde se observa el cemento acelular de fibras extrínsecas (AEFC), la inserción de las fibras del ligamento periodontal (PLFB), y el cemento celular de fibras intrínsecas (CIFC) (SEM 630x, tomada de Schroeder 1986).

Cemento estratificado mixto celular (CEMC). Se compone de fibras extrínsecas e intrínsecas, las cuales varían en proporción de una a capa a la siguiente, y puede contener células con distribución y densidad irregulares. Se trata de un coproducto de los cementoblastos y los fibroblastos. Su disposición en estratos es bastante irregular, algunos de cuyos estratos están formados por CFEA. En los humanos se presenta principalmente en el tercio apical de la raíz y la bifurcación; se forma en el extremo apical y se acumula en las concavidades de la superficie radicular, además de que se extiende coronalmente con extensión variable. Su grosor varía entre 100 y 1,000 micras o más (Figura 4).



ZONE OF TRANSITION

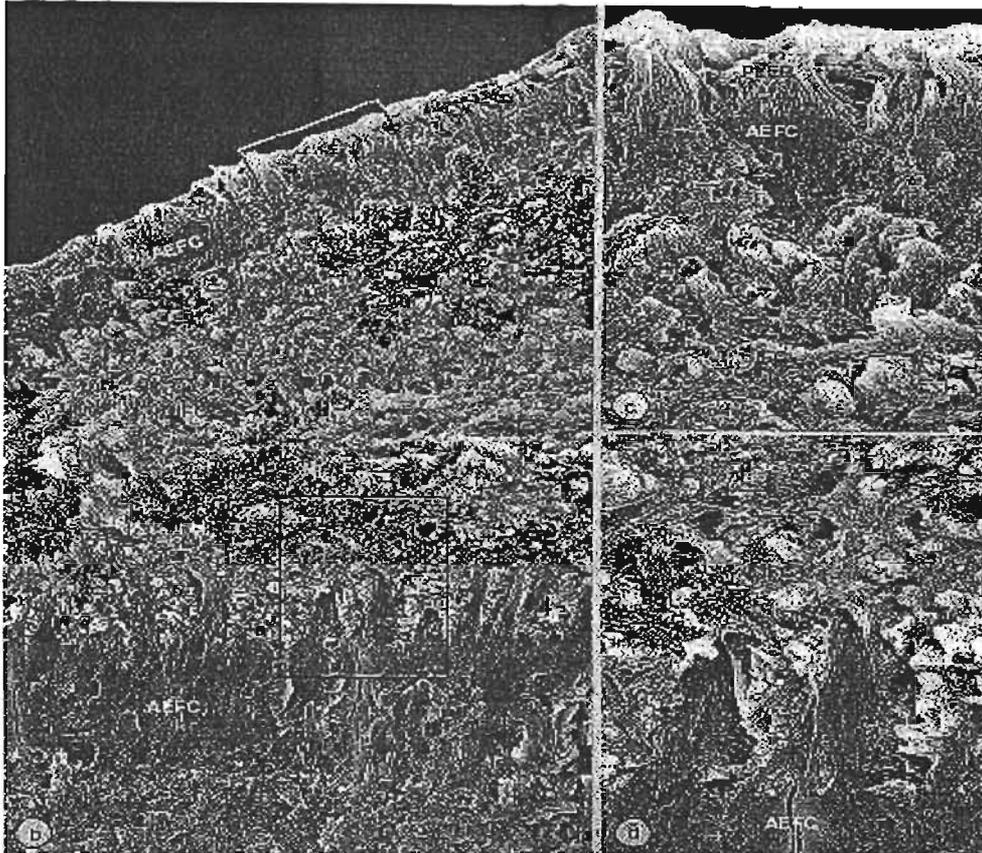


Figura 4. a) Distribución alternante entre el cemento acelular de fibras extrínsecas (AEFC) y el cemento celular de fibras intrínsecas (CIFC), formando el cemento celular mixto estratificado (CMSC). (Microscopía de luz 80x); b), c) y d) el cemento de fibras mixtas; c y d muestran acercamientos de dos zonas de b (SEM 900x, tomada de Schroeder 1986).

Cemento fibrilar intrínseco celular (CFIC). Contiene células, mas no fibras de colágena: se extiende a través y de manera continua con el ligamento periodontal. Es un producto de los cementoblastos y, en los humanos, se encuentra principalmente como una sustancia que llena las lagunas de resorción de la raíz. Su grosor varía con la capacidad de resorción (Figura 5).

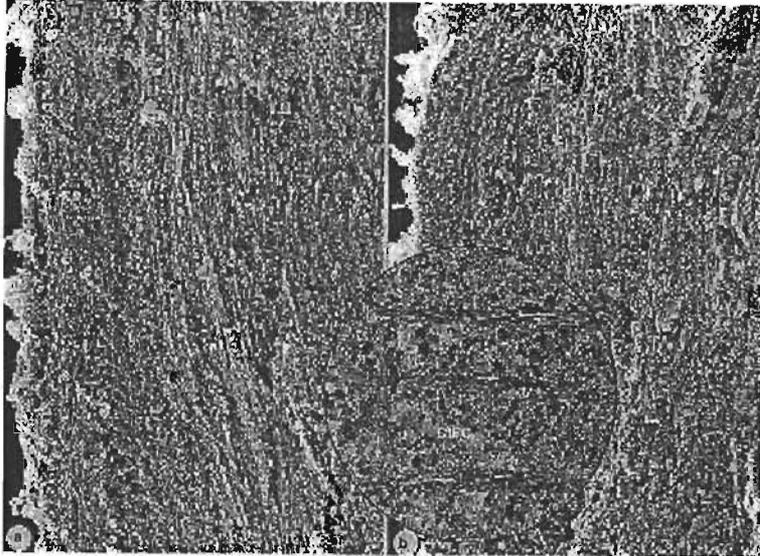


Figura 5. Superficie fracturada de la raíz que muestra la apariencia del cemento celular de fibras intrínsecas (CIFC). Nótese la ausencia de fibras de Sharpey y la distribución paralela de las fibras intrínsecas mineralizadas (SEM 470x, tomada de Schroeder 1986).

Además de los anteriores, está el denominado “cemento intermedio”, el cual parece ser una clase de dentina en desarrollo. La naturaleza de este tipo de cemento es de particular importancia, ya que representa la unión de dos tejidos mineralizados con características distintas que se originan casi de manera simultánea. Al parecer, esta variedad de cemento está involucrada con el anclaje de fibras periodontales a la dentina. La capa intermedia, como también se le ha llamado, consiste en una banda ancha y oscura con irregularidades en sus bordes; se encuentra con mayor frecuencia en la región apical de la raíz. Existen reportes que sugieren que la zona de unión entre el cemento y dentina radicular contiene proteínas semejantes a las que están presentes en la matriz del esmalte, y que esta región podría ser un producto de la vaina epitelial de la raíz, aunque esto no ha sido claramente demostrado. Se ha sugerido, también, que el cemento intermedio funciona como una barrera a la permeabilidad hacia la dentina, y que además puede ser un precursor de la cementogénesis secundaria (Figura 6).

Unión cemento-esmalte. Se han observado de manera microscópica tres patrones de unión entre el cemento y el esmalte. El patrón 1 es cuando el cemento cubre al esmalte a una corta distancia; este patrón es el más frecuente, ya que se presentó en un 60% de los dientes observados. El patrón 2 se da cuando el cemento y el esmalte se unen justo en sus bordes, es decir el cemento no cubre al esmalte. Finalmente, el patrón 3 surge cuando el cemento y el esmalte no se unen, dejando una porción de dentina expuesta (Figura 7).

Cementogénesis primaria. La formación de cemento en el diente en desarrollo va precedida por el depósito de dentina sobre la cara interna de la vaina epitelial radicular de Hertwig. Una vez que está en marcha el proceso de formación de la dentina, se producen grietas en la vaina epitelial de la raíz que permiten que la dentina recién formada se ponga en contacto directo con el tejido conectivo del folículo dental. Las células derivadas de este tejido conectivo son las responsables de la formación de cemento. A nivel ultraestructural, la rotura de la vaina epitelial de Hertwig involucra la degeneración o pérdida de su lamina basal del lado cementario. La pérdida de continuidad de la lámina basal va seguida, muy pronto, por la aparición de fibrillas de colágena y cementoblastos entre las células epiteliales de la vaina radicular. Algunas células de la vaina emigran lejos de la dentina hacia el surco dentario, mientras que otras permanecen cerca del diente en desarrollo y finalmente se incorporan al cemento. Las células de la vaina que emigran hacia el surco dentario se convierten en los restos epiteliales de Malassez, encontrados en el ligamento periodontal de dientes completamente desarrollados.

Después de que la vaina de Hertwig se rompe, las células mesenquimatosas indiferenciadas del tejido conectivo adyacente se diferencian para formar

cementoblastos, los cuales sintetizan colágena y polisacáridos que constituyen la matriz del cemento (Bhaskar 1993).



Figura 6. a) Cemento intermedio cercano a la unión cemento-dentina. b) Capa granular (250x, tomada de Berkovitz 1992).

Composición. El cemento es el menos duro y mineralizado de los tejidos dentarios que tienen esas dos propiedades: el contenido mineral es de aproximadamente 65% de su peso, la matriz orgánica 23% y lo restante está formado por agua, como en el hueso y en la dentina. La porción mineral del cemento está constituida por calcio y fósforo, presentes principalmente en forma de hidroxiapatita. Existen también cantidades variables de diversos oligoelementos, el más notable de los cuales es el flúor. La cantidad presente de este elemento varía con su aporte a la dieta, pero generalmente es más alta que en el hueso, el esmalte y la dentina.



Figura 7. Unión cemento-esmalte, donde el primero(a) cubre ligeramente al segundo(b) (SEM 250x, tomada de Berkovitz 1992).

La mayor parte de la matriz orgánica está compuesta por colágena tipo I y proteoglicanos (Olson *et al.* 1991), los cuales forman una red fibrosa semejante a la que existe en la matriz orgánica del tejido óseo.

Debido a la relación que hay entre algunos de estos componentes con el proceso de biomineralización del cemento dental que da origen a la líneas incrementales, consideramos útil hacer una breve descripción de ellos.

La fase inorgánica de los tejidos normalmente mineralizados, incluido el cemento dental, está formada principalmente por calcio y fosfato. Aunque la estructura cristalográfica, composición química y otras características físicas y morfológicas de esta fase han sido bien establecidas, los mecanismos biológicos que controlan el proceso son aún poco comprendidos. La principal causa de este problema ha sido la dificultad de distinguir claramente cada uno de estos mecanismos a partir de la actividad celular y metabólica involucradas en el proceso. Actualmente, gracias a la disponibilidad de avanzadas técnicas de laboratorio y una mejor comprensión de la biología celular, es posible aplicar nuevos modelos experimentales; lo cual se ha reflejado en algunos avances importantes en este campo (D'Errico *et al.* 2000), entre los que se cuenta el aislamiento de una línea celular a partir de un cementoblastoma (Arzate *et al.* 1992), procedimiento que soluciona las dificultades de clonar subgrupos celulares a partir de ligamento periodontal para obtener las de linaje cementoblástico.

Por su parte, la fase orgánica está formada (como ya mencionamos arriba) por colágena y otro de grupos de proteínas conocidas como no colágenas, entre las que se encuentran la sialoproteína, osteopontina, osteonectina, osteocalcina y elastina.

Colágena. La colágena es el principal constituyente de la matriz orgánica de los tejidos calcificados y una de las proteínas más abundantes en tejidos no

calcificados. El término alude a una familia numerosa de proteínas fibrosas caracterizadas y agrupadas principalmente con base en su estructura. En general, se trata de moléculas largas y rígidas de estructura cuaternaria. El miembro más abundante de esta familia es la colágena tipo I, presente de manera importante en la matriz del cemento dental. Las moléculas de colágena se agregan para dar forma a las fibrillas; las cuales, por su lado, mediante el mismo mecanismo, originan las fibras de colágena, que constituyen un nivel más complejo de organización y cuyo tamaño las hace visibles en el microscopio de luz. Debido a las evidencias encontradas sobre la proximidad de las fibrillas de colágena con el sitio de inicio de la mineralización (Landis *et al.* 1999), se cree que tales estructuras están relacionadas con la inducción y regulación de dicho proceso. De acuerdo con el tipo de tejido conectivo del que formen parte, las fibrillas de colágena pueden tener diferente composición y estructura ya que, inclusive en el mismo tejido, pueden tener diámetros y grados de agregación variados. No se conoce claramente la organización de las fibrillas de colágena en las fibras pero, de acuerdo con el modelo clásico de Hodge y Petrusca (1963), el bandeo periódico de las fibras se debe a que están ensambladas en un arreglo paralelo, mutuamente desplazadas en su cara axial a una distancia más o menos constante cercana a los 67 nm. En este arreglo existen zonas de traslape y agujeros producidos por las variaciones en la proporción longitud/diámetro de las fibras y por las irregularidades en la agregación de las fibrillas de colágena.

Con respecto a la mineralización de estas fibrillas de colágena, Glimcher (1959) fue el primero en sugerir que se debía a un proceso de nucleación heterogénea catalizada por grupos químicos específicos en los agujeros. Los núcleos inorgánicos así formados crecen posteriormente como cristales de hidroxiapatita.

Otras proteínas de la matriz. Un grupo de proteínas presentes en la matriz son las conocidas como no colágenas. Aunque el papel que juegan en la mineralización no ha sido del todo establecido, se sabe que están involucradas en distintos mecanismos como la adhesión, quimiotaxis, proliferación y diferenciación celular (Barkana *et al.* 2000, Tambasco *et al.* 2003, Mc Culloch *et al.* 1986). Para describir estas proteínas nos basamos únicamente en la obra de Bartold y Narayanan (1998: 93-111).

Sialoproteína. Originalmente llamada sialoproteína de hueso II para distinguirla de la sialoproteína I, que ahora es conocida como osteopontina. Se trata de una proteína altamente glicosilada. Forma parte importante de la estructura de la matriz de tejidos calcificados y es semejante a la osteocalcina expresada por los osteoblastos totalmente diferenciados. Esta glicoproteína es una de las predominantes de la matriz de tejidos duros, donde constituye aproximadamente 15% de las proteínas no colágenas. La sialoproteína de hueso humano es codificada por un gen de 15 pb, que origina una molécula de 317 aminoácidos, con una masa de 33 kd, y un péptido señal de 16 aminoácidos. Han sido identificados diversos dominios muy conservados en su estructura; algunos de ellos contienen aminoácidos ricos en ácido glutámico, sitios potenciales de unión a la hidroxiapatita. Además, hay otro dominio hacia el extremo carboxilo terminal que contiene una secuencia de unión celular. Con base en sus características estructurales, la sialoproteína ha sido implicada en varias funciones. En primer lugar, debido a la presencia de un RGD, se piensa que la sialoproteína juega un papel importante en la adhesión de osteoblastos a tejidos mineralizados; también se le ha relacionado con la nucleación de hidroxiapatita durante la formación de *novo* de hueso. Esta proteína es expresada por los odontoblastos y osteoblastos durante la formación temprana de

dentina y hueso alveolar, respectivamente, además de los cementoblastos durante la cementogénesis.

Osteopontina. Fosfoproteína glicosilada con una masa molecular de 41.5 kd, cuya peculiaridad es su alto contenido de serina, asparagina y glutamato. Está presente en cantidad significativa en la frontera de mineralización del hueso y en las líneas incrementales del cemento. Originalmente se le conocía como fosfoproteína 1 (SSP-1) y sialoproteína I, para distinguirla de la sialoproteína II. Contiene en total ocho α -hélices distribuidas en sus dos extremos, las cuales constituyen aproximadamente 41% de sus 301 aminoácidos. En la parte media de la molécula hay una región que contiene un dominio de unión celular RGD flanqueado a ambos lados por β -plegadas. En dirección a su extremo amino hay una región altamente acídica que contiene nueve residuos consecutivos de ácido aspártico. Otras características de esta proteína: puede incluir un bucle de unión a calcio y dos sitios de unión a heparina.

El gen de la osteopontina consiste en siete exones, seis de los cuales contienen la secuencia codificadora, con una extensión de 4.8 Kb. La osteopontina se une al calcio y a la hidroxiapatita a través de la secuencia rica en ácido aspártico localizada en su extremo amino terminal. Está unida de manera covalente a la fibronectina, cuya unión está catalizada por la enzima transglutaminasa. También contiene la secuencia de unión celular (RGD), que es reconocida principalmente por la integrina $\alpha\beta$, receptor abundante en osteoclastos. Sin embargo, no toda la capacidad de unión de la osteopontina depende de la presencia de la secuencia RGD, ya que en las pruebas se han detectado otros factores de adhesión. Otro rasgo de suma importancia reside en la alta regulación de la síntesis efectuada por hormonas osteotróficas, como la vitamina D3. Esta proteína también es secretada durante la cementogénesis.

Inicialmente era considerada exclusiva de tejidos mineralizados, mas hoy se sabe que está presente en otros tejidos no mineralizados, como las arterias, riñones y células epiteliales.

Osteonectina. Glicoproteína presente en la matriz extracelular de varios tejidos, pero más notoriamente en el hueso, en donde se expresa en muy altos niveles durante los procesos de remodelación y reparación. La osteonectina, también conocida como SPARC (*Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine*), es una proteína de 32 kd. El gen de la SPARC humana tiene una longitud 26.5 kb y contiene diez exones y nueve intrones. El transcrito primario de este gen codifica entre 284 y 287 aminoácidos de la proteína madura, así como para un péptido señal hidrofóbico de 17 residuos presente en el extremo amino terminal. Han sido identificados varios dominios dentro de la molécula, uno de los cuales corresponde a la de unión a calcio. Dado su carácter altamente conservado, esta proteína puede unirse a diversos iones, así como a la colágena, la albúmina y la trombospondina. Al parecer, la SPARC no favorece la adhesión celular y, de modo semejante, a la trombospondina y la tenascina; es antiadherente e inhibidora de la propagación celular. Por tal motivo, se considera que la biosíntesis de los componentes de la matriz extracelular, especialmente las metaloproteínas, reciben la influencia de esta proteína.

Osteocalcina. Miembro de la familia de proteínas de unión a minerales presente en la matriz extracelular de tejidos calcificados, esta pequeña proteína con masa molecular de 6 kd contiene 49 aminoácidos. La secuencia aminoacídica es marcadamente conservada en varias especies, además de la notable presencia de tres residuos que tienen la propiedad de unirse con gran afinidad al calcio. Algunos estudios de la estructura de la osteocalcina aportan que tiene 2 Alfa hélices antiparalelas conectadas por una β plegada y estabilizadas por enlaces disulfuro. El gen de esta proteína tiene una secuencia de 953 nu-

cleótidos, que contienen cuatro exones y tres intrones; este gen es regulado por un promotor con múltiples *enhancers* que responden a varios mediadores fisiológicos tales como TGT-B, glucocorticoides y vitamina D. La osteocalcina es producida por los osteoblastos y los odontoblastos completamente diferenciados, y se secreta dentro de la matriz durante la mineralización. Su función biológica no ha sido establecida de manera precisa; sin embargo, hasta ahora existen dos vertientes de explicación: por un lado, debido a sus niveles en el análisis histomorfométrico de hueso de reciente formación, se cree que está relacionada con esa función y, por el otro, debido a su capacidad de unión a la osteopontina relacionada con los osteoclastos, se considera su relación con el reclutamiento de estas células en los sitios de formación de hueso, teniendo así una función en la regulación negativa de este proceso.

Elastina. La fisiología de muchos tejidos en casi todos los organismos demanda elasticidad. Por ejemplo, en los vertebrados es requerida durante la inspiración y expiración de los pulmones, cuya función es habilitada por varias proteínas fibrosas, entre ellas la elastina. Se le puede hallar con mayor frecuencia en vasos sanguíneos y en ligamentos como el del periodonto. Aunque la principal función de las fibras de elastina es proporcionar elasticidad a los tejidos que requieran distensión, esta proteína tiene también actividad quimiotáctica sobre monocitos y fibroblastos.

Otro elemento importante de la fase orgánica es la fosfatasa alcalina, enzima que al parecer libera iones de fosfato a partir de esterés de monofosfato orgánico; por tal motivo, se considera que juega un papel importante en el proceso de mineralización, aunque también se cree que no representa un factor decisivo para este proceso (Gao *et al.* 1999, Beertsen *et al.* 1999).

Líneas incrementales

Para los investigadores, el estudio de las líneas incrementales ha sido algo parecido al funcionamiento de una caja negra, debido a que la comprensión de los actores que las forman aún está pobremente desarrollada. Sin embargo, de manera general se han planteado algunas explicaciones:

Causas primarias. Se cree que las variaciones en la microestructura del cemento causan el fenómeno óptico de las bandas. Estas variaciones pueden ser: 1) la variación en el grado de mineralización del cemento y 2) la variación en la orientación de las fibras de colágena.

Causas secundarias. Se refiere a factores que varían estacionalmente, los cuales pueden alterar el proceso de biomineralización del cemento dental y, como consecuencia, modificar la periodicidad en la formación de las líneas incrementales. Entre ellos se encuentran la nutrición, las fuerzas biomecánicas (masticatorias) y el ciclo hormonal (Lieberman 1994).



Figura 8. Líneas incrementales del cemento (flechas); A) cementocitos; B) dentina (Microscopía de luz 75x, tomada de Berkovitz 1992).

Lo que queda claro hasta ahora es que la mineralización del cemento dental, la cual implica la formación de las líneas incrementales, es un proceso

complejo y dinámico cuyas propiedades físico-químicas —como la solubilidad, la nucleación, la saturación y el crecimiento de los cristales depositados— tienen diferentes niveles de regulación, lo cual permite un arreglo preciso de los cristales. Adicionalmente, en un nivel más alto de regulación, este proceso está guiado genéticamente, ya que el proceso sólo se inicia con la expresión de genes específicos y se detiene obedeciendo al mismo principio (Mann 1988).

Por otro lado, no obstante que los factores secundarios pueden modificar los niveles de expresión génica, existe evidencia de formación de líneas incrementales en dientes que no han sufrido estrés masticatorio (dientes impactados, Nitzan *et al.* 1986, Figura 8).

III. Planteamiento del problema

Por todo lo afirmado anteriormente, se constata que hay una serie de cambios ontogenéticos en la raíz dental que se traducen, en el caso del cemento, en la formación sistemática de capas superpuestas. Por consiguiente, nos proponemos abordar la cuestión de cuál es la manera óptima de observar, registrar y cuantificar tales cambios y, por su parte, cuál es la forma adecuada de interpretarlos para describir su ritmo y su asociación con el proceso de envejecimiento.

IV. Justificación

El interés de contar con una fórmula precisa para estimar la edad cronológica se justifica por la importancia que tiene este dato para varios campos de la actividad científica.

Para la antropología física —cuyas actividades se enfocan al conocimiento de la variabilidad biológica humana en función de la dispersión de las poblaciones, su adaptación al medio y las interacciones entre la biología y la cultura—, la disponibilidad del dato referente a la edad de muerte de un sujeto es de suma importancia. En primer lugar, como dato de identificación individual, en la cual se basan las estimaciones demográficas de poblaciones antiguas (campo denominado como paleodemografía): mortalidad y morbilidad por sexo y edad. En segundo lugar, como dato complementario de la interpretación arqueológica; es decir, sopesar el significado de que alguien de cierta edad esté enterrado con cierta variedad de materiales funerarios (cerámica, joyería, indumentaria acompañantes humanos y animales). Y en tercer lugar, en la identificación individual en contextos forenses.

Por otro lado, la metodología para estimar la edad de un sujeto es pertinente para la anatomía comparada; en este caso, con otras especies de mamíferos, ya sea con especímenes arqueológicos o paleontológicos, para deducir la edad a la que eran sacrificados o para tener una idea más precisa de la interacción entre animal y su medio.

Finalmente, el estudio de la estructura del cemento dental puede contribuir en la comprensión de la fisiología de este tejido.

V. Objetivos e hipótesis

Objetivo general

Establecer los alcances y las limitaciones del método de estimación de la edad con base en el conteo de las líneas incrementales del cemento dental humano.

Objetivos específicos

1. Corroborar si las líneas incrementales constituyen una estructura real y cuantificable del cemento dental.
2. Establecer criterios de preparación histológica y técnica microscópica que favorezcan la observación y conteo de las líneas incrementales.
3. Demostrar si existe correlación entre la edad cronológica y el número de líneas incrementales.
4. Comprobar si el ritmo de formación de las líneas es anual.
5. Verificar si esta técnica funciona en especímenes antiguos.

Hipótesis

1. La relación directa entre el número de líneas del cemento y la edad cronológica puede evaluarse a través de técnicas histológicas y microscópicas.
2. Esta relación puede formar parte de los métodos de estimación de edad basadas en el estudio del esqueleto humano.

VI. Material y método

Debido a la falta de un procedimiento histológico bien establecido para la observación de las líneas incrementales, se consideró conveniente realizar algunas pruebas técnicas preliminares en cinco dientes unirradiculares sin información de procedencia, a través de las cuales se probaran las distintas variantes planteadas por los autores ya citados, referentes a la conveniencia de desmineralizar los dientes, realizar cortes transversales o longitudinales, cortes gruesos o semifinos, teñir con cristal violeta, azul de toluidina o hematoxilina, así como las ventajas de emplear contraste de fases o luz transmitida en la observación microscópica (Cuadro 2). Las observaciones realizadas en estas pruebas sirvieron de base en la elaboración de una metodología que aplicamos para el análisis de una muestra de 17 de dientes con información de procedencia. Dicha metodología se describe a continuación.

En primer lugar, elaboramos un instrumento de captación de la información individual que nos permitió registrar los datos pertinentes para el estudio, es decir, una cédula de identificación que contenía la edad, el nombre y el sexo de los sujetos a quienes se les extrajeron los dientes, el número de diente según la nomenclatura de la FDI (1971), así como el motivo de la extracción.

A continuación, los hidratamos en agua corriente antes de depositarlos en ácido fórmico a 5% durante seis días para su desmineralización, y posteriormente los lavamos también en agua corriente. Su deshidratación implicó un procedimiento de 17 horas en el Histokinette (modelo Jung 2000 de Leica).

Cuadro 2. Variantes probadas en la estandarización de un procedimiento histológico para la observación de las líneas incrementales.

1. Cortes a 350 micras sin desmineralizar (Stott 1982, Naylor 1985)
Cortes a 150 micras sin desmineralizar (Douglas 1986)*
Cortes a 5-7 micras con desmineralización (Condon 1986)
 2. Cortes transversales (Wittwer 2003)
Cortes longitudinales (Kvaal 1995, Condon 1986, Naylor 1985)
 3. Rojo alizarina a 2% de 1 a 4 minutos (Douglas 1989)
Cristal violeta a 0.1% durante 3 minutos (Naylor 1985)
Azul de toluidina a 5% durante 45 segundos
Hematoxilina y eosina (Stott 1982)
 4. Contraste de fases (Stott 1982)
Campo claro
 5. Fotografías en blanco y negro tomadas de manera convencional (Stott 1982)
Imágenes a color obtenidas mediante un software (Wittwer 2003)
-

* Los cortes de 150 micras sin desmineralizar se obtuvieron por desgaste.

El siguiente paso consistió en la orientación e inclusión de los dientes en una parafina cuyos granos se fusionan a 56°C, para que posteriormente realizáramos cortes de 6 micras con el microtomo modelo Jung RM 2055 de Leica. Depositamos estos cortes durante 20 minutos en una tina de flotación con temperatura menor a la del punto de fusión de la parafina y los retiramos con un portaobjetos para que se secan a la temperatura ambiente; después los colocamos durante diez minutos adicionales en una plancha con temperatura ligeramente mayor a los 56°C.

En seguida, y antes de teñirlos con cristal violeta a 1% durante 20 minutos, los desparafinizamos y rehidratamos con xilol y agua destilada, respectivamente.

De esta manera, observamos el material así preparado con microscopio óptico a luz transmitida (Zeiss modelo Axiotech 25) y tomamos las fotografías con una cámara convencional MC 80 DX de Zeiss en película de 24×36 mm

blanco y negro ASA 50 de la marca ILFORD. Asimismo, tomamos el corte de uno los dientes de nuestra muestra para obtener la imagen a través del software IM 100, con el objetivo de compararla con la respectiva imagen en blanco y negro.

Cuadro 3. Resumen de la metodología empleada para la observación y conteo de las líneas incrementales en una muestra de 17 casos.

1. Elaboración de una cédula de identificación para cada uno de los dientes.
 2. Hidratación en agua corriente durante 24 horas.
 3. Descalcificación con ácido fórmico a 5% durante seis días.
 4. Eliminación de residuos de ácido con agua corriente.
 5. Deshidratación en histokinette durante 17 horas.
 6. Orientación e inclusión de los dientes en parafina.
 7. Corte transversal de los dientes a un grosor de 6 micras.
 8. Colocación de los cortes en una tina de flotación para su distensión.
 9. Montaje de los cortes en un portaobjetos.
 10. Desparafinización de los cortes con xilol.
 11. Rehidratación del tejido con agua destilada.
 12. Tinción con cristal violeta a 1% durante 20 minutos.
 13. Eliminación con alcohol de los excesos del colorante.
 14. Observación del material así preparado a través del microscopio de luz en campo claro para la localización de las líneas incrementales.
 15. Fotografiado con cámara convencional de la región del cemento que muestre con mayor claridad las líneas incrementales.
 16. Conteo de las líneas incrementales directamente sobre las fotografías en papel.
 17. Análisis de los datos con el programa computacional para análisis estadístico SYSTAT versión 10.
-

Finalmente, contamos las líneas del cemento directamente sobre las fotografías en papel y procesamos los datos con el programa computacional para análisis estadístico SYSTAT versión 10 (Wilkinson y Coward 2000). En primer lugar, ajustamos el conteo en relación con el brote dental, sumando el número de años de edad promedio a los que brota determinado diente al número de líneas contadas en el campo microscópico, ya que se sabe que las líneas incrementales se forman una vez que los dientes están involucrados en la masticación. Denominamos a esta nueva variable *conteo ajustado* (número de

líneas + edad de brote). Posteriormente, realizamos un análisis de regresión simple entre la edad cronológica y el conteo ajustado, considerando a la primera como variable dependiente y a la segunda como independiente (Daniel 1995: 453ss). El procedimiento descrito se resume en el Cuadro 3.

Como otro de nuestros objetivos es verificar la posibilidad de observar las líneas incrementales en especímenes antiguos, aplicamos el mismo procedimiento en dos dientes (23 y 42) provenientes del individuo del Entierro 73 de la colección osteológica de Coapa, Chiapas (Lee 1979), cuya cronología data de la época colonial.

Por último, con el propósito de encontrar una explicación microscópica del fenómeno de las líneas incrementales, analizamos las características estructurales del cemento radicular mediante dos técnicas que consideramos pertinentes para este objetivo: por un lado, la microscopía electrónica de barrido a bajo vacío (SEM LV-5600) y la microscopía fluorescente, por el otro.

En la primera cortamos transversalmente los dientes sin desmineralizarlos con la sierra CUTO 1 de la marca Jean Wirtz a 500 micras, para luego desgastarlos hasta que alcanzaran un grosor de 150-200 micras con ayuda de la pulidora MINIMET de BUEHLER.¹ Con respecto a la técnica de fluorescencia, desmineralizamos los dientes y los cortamos a 5 micras, y a continuación los teñimos con fluoresceína a 1% durante 10 minutos.² Estos cortes se iluminaron con una lámpara de fluorescencia evq100 de Kubler adaptada al microscopio óptico Leica DMLS; las imágenes fueron captadas con ayuda del software Leica IM 100 UV 1.20.

¹ Laboratorio Central de Microscopía del Instituto de Física de la UNAM.

² Laboratorio de Enfermedades Neurodegenerativas del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía.

VII. Resultados

Algunas de las observaciones realizadas con las pruebas técnicas preliminares que sirvieron de base en la elaboración de un procedimiento alternativo para la observación de las líneas incrementales, se describen en este capítulo:

Las líneas incrementales no fueron visibles en todos los cortes que observamos. En los casos donde fue posible, la visibilidad variaba de un diente a otro, inclusive en el mismo diente. La ubicación del plano focal constituye un aspecto muy importante en la observación de las líneas, debido a que estas sólo eran visibles en un rango muy pequeño. Además, comprobamos que, en efecto, el proceso de desmineralización influía favorablemente en la observación. Por su parte, los diferentes grosores de corte y las diversas técnicas de tinción mostraron resultados variados; sin embargo, de manera general notamos que los cortes de 5-7 micras y los colorantes con base en cristal violeta y hematoxilina / eosina rindieron mejores resultados. La técnica de contraste de fases no mostró mejores resultados que la de luz transmitida en cuanto a visibilidad de las líneas. Aún cuando en la primera técnica se observaron cortes teñidos y no teñidos.

Una dificultad importante que hemos enfrentado, y que han reportado otros autores, es la irregularidad en la disposición de las líneas; rasgo atribuible a la propia naturaleza del tejido, la cual en ocasiones impide un conteo preciso y obliga a la búsqueda del sitio más favorable para llevarlo a cabo, que en la mayoría de las veces se encuentra entre los tercios medio y apical de la raíz; para la búsqueda de este sitio los cortes longitudinales mostraron mayores ventajas que los transversales.

Por otro lado, al comparar las imágenes en blanco y negro obtenidas de manera convencional y las imágenes a color obtenidas mediante el software Leica IM 100, notamos que no existe diferencia en el número de líneas contadas.

Con esta perspectiva, de manera preliminar hemos analizado una muestra integrada por un total de 17 dientes unirradiculares extraídos de individuos de edad conocida (Cuadro 4).

Cuadro 4. Relación de casos estudiados.

<i>Número de caso</i>	<i>Edad cronológica (años)</i>	<i>Número de líneas contadas</i>	<i>Número de diente (FDI)</i>	<i>Edad de brote (años)</i>
1	24	7	34	12
2	82	31	13	13
3	54	21	23	13
4	80	29	13	13
5	85	35	23	13
6	46	12	12	7
7	61	17	34	12
8	54	19	34	12
9	65	23	35	13
10	58	21	23	13
11	45	19	11	6
12	81	34	34	12
13	35	10	23	13
14	45	13	35	13
15	24	8	25	13
16	71	28	33	13
17	43	18	12	7

Se observó una buena correlación entre la edad cronológica y el número de líneas (Figura 9), lo cual muestra una dependencia lineal entre estas dos variables. Con base en esta correlación realizamos un análisis de regresión, en el cuál también incluimos el dato correspondiente a la edad de erupción de los

dientes, debido a que sabemos que las líneas incrementales se forman una vez que los dientes están involucrados en la masticación. El conteo ajustado para los 17 casos mostró una línea de regresión con una pendiente de 1.916 y una intersección en y de -5.139 . Esto quiere decir que la dependencia de y (edad cronológica) de x (número de líneas + edad de erupción) no es de 1:1, ya que mientras x se repite una vez y lo hace casi dos veces. Con base en estos datos, el modelo de regresión lineal que expresa esta relación quedó como: $y = -5.139 + 1.91x$ (Figura 10), con un error estándar de 6.37 años.

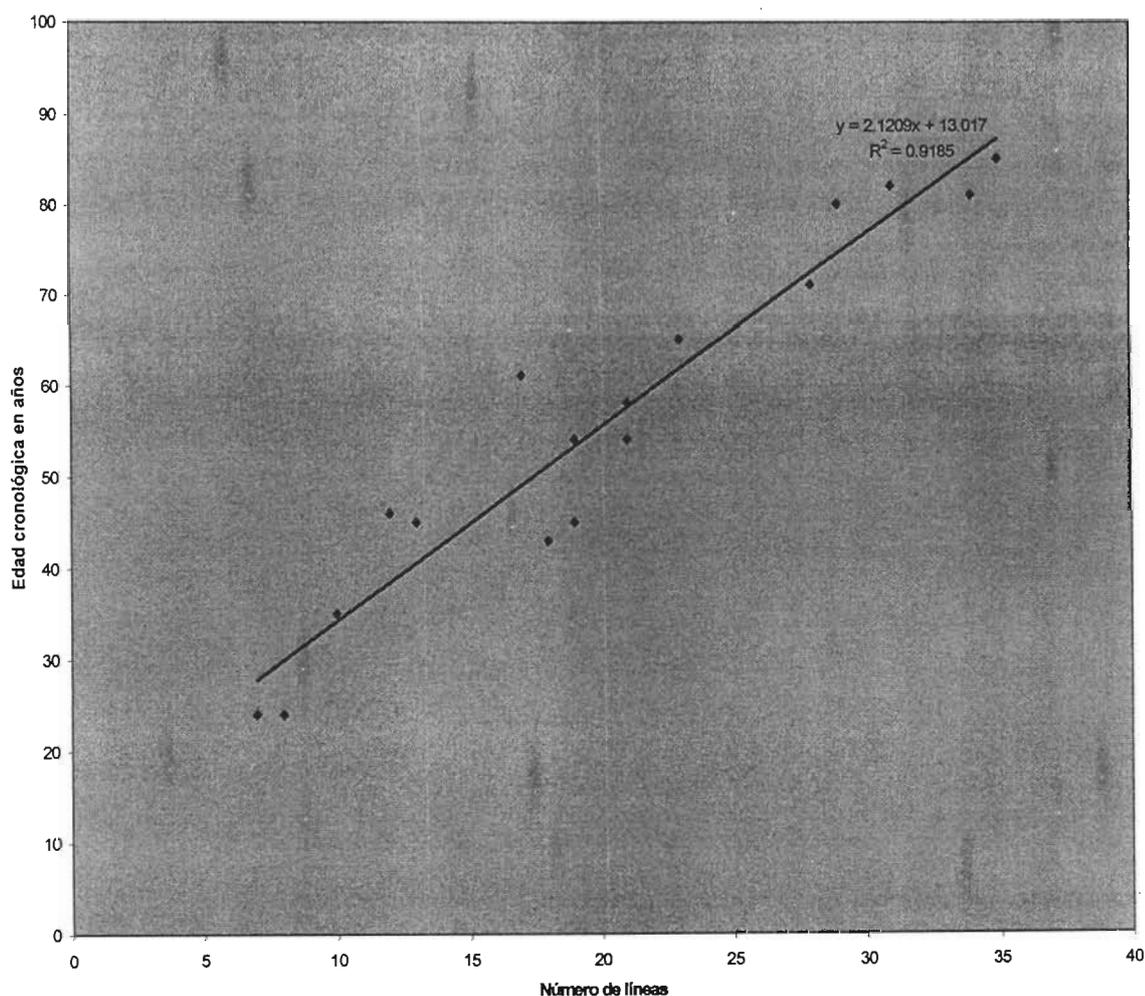


Figura 9. El diagrama de dispersión muestra una buena correlación lineal entre las líneas incrementales y la edad cronológica, cuyo coeficiente es muy cercano a 1 ($r^2 = 0.9186$).

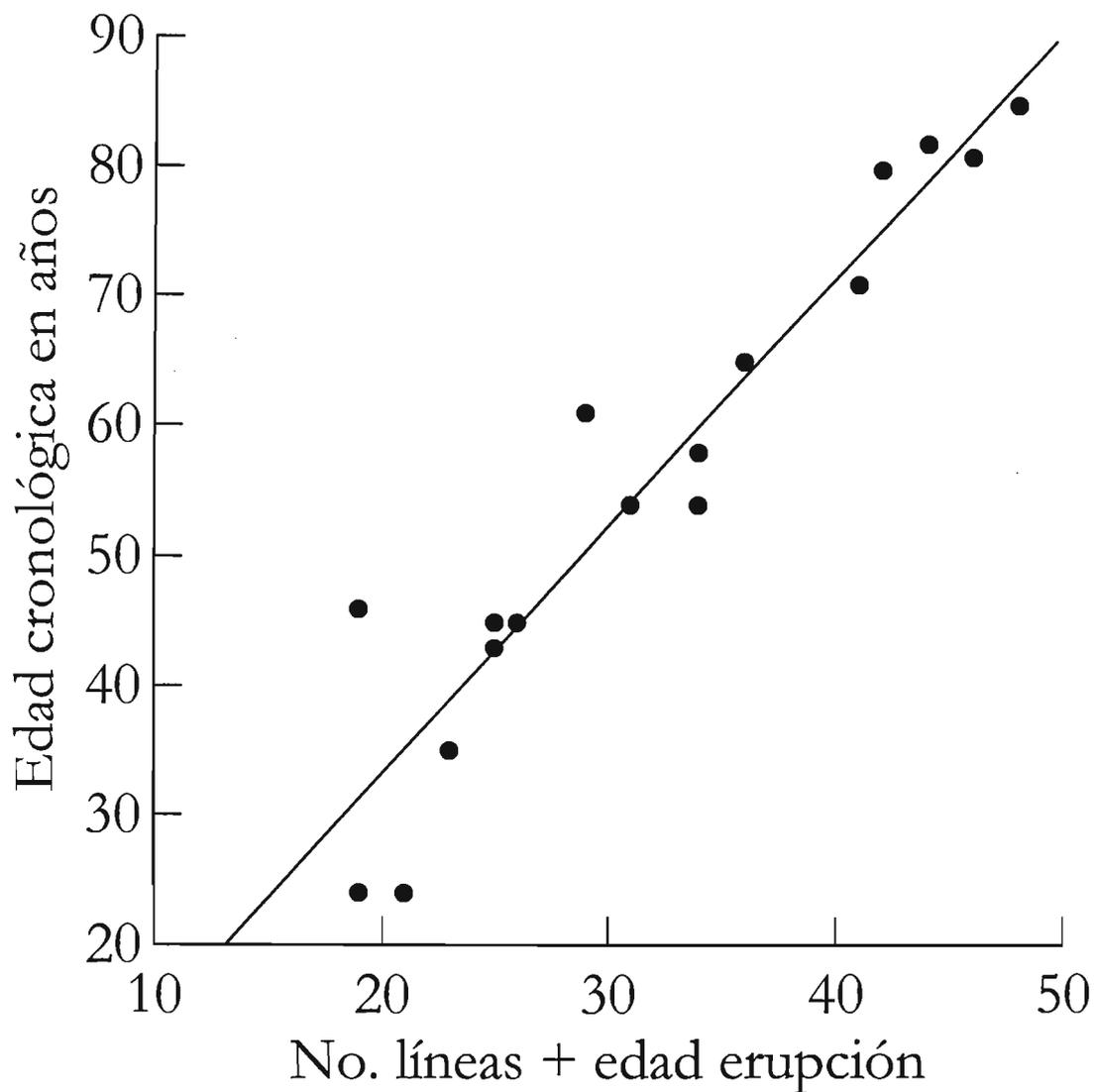


Figura 10. Un análisis de regresión lineal es una herramienta para realizar predicciones de datos desconocidos a partir de otros que ya fueron estandarizados. En este caso, el modelo de regresión lineal que expresa la relación edad/conteo ajustado es: $y = -5.139 + 1.91x$. Es decir, para estimar la edad de un sujeto desconocido se deberá multiplicar el conteo ajustado (no. líneas + edad de brote) por la pendiente (1.91), sumado al origen (-5.139). El error estándar fue de 6.37 años.

En el análisis de los dientes obtenidos del individuo del entierro 73 de Coapa, Chiapas (Figura 11), cuyos restos tenían una antigüedad aproximada de 500 años y fueron recuperados de una zona pantanosa y contaminada por sulfuro (Lee 1979), notamos que para su descalcificación se requirió de mayor

tiempo que en los contemporáneos; pero el resto del procedimiento histológico fue el mismo para ambos tipos de especímenes. Observamos que en el canino hubo una destrucción casi completa del cemento dental, lo que imposibilitó la observación de las líneas; por su parte, el incisivo mostró una menor destrucción del tejido y se vieron algunas líneas en el tercio apical (Figura 12).

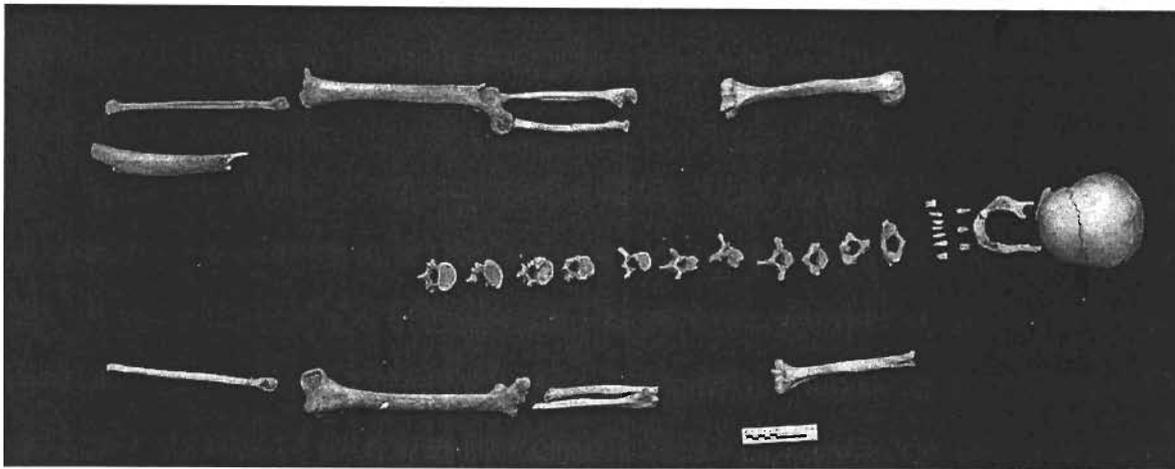


Figura 11. Entierro 73 de la colección osteológica de Coapa, Chiapas.

El análisis en el SEM de un corte transversal de canino con un aumento de 500x muestra gran parte de la dentina, así como la interfase entre dentina y cemento (Figura 13).

En la superficie de este último se observaron algunas líneas oscuras que, al parecer, representaban las mismas que conocemos como líneas incrementales. En un aumento de 1000x (Figura 14) notamos discontinuidad en la superficie del cemento, la cual aparentaba un pequeño surco en el que estaban depositados cúmulos de material inorgánico. Este rasgo pudo ser confirmado por un mayor acercamiento (Figura 15), aumento de 2000x, en el que efectivamente se observó un surco de aproximadamente diez micras de diámetro que alojaba material condensado asociado con las fibras de colágena.

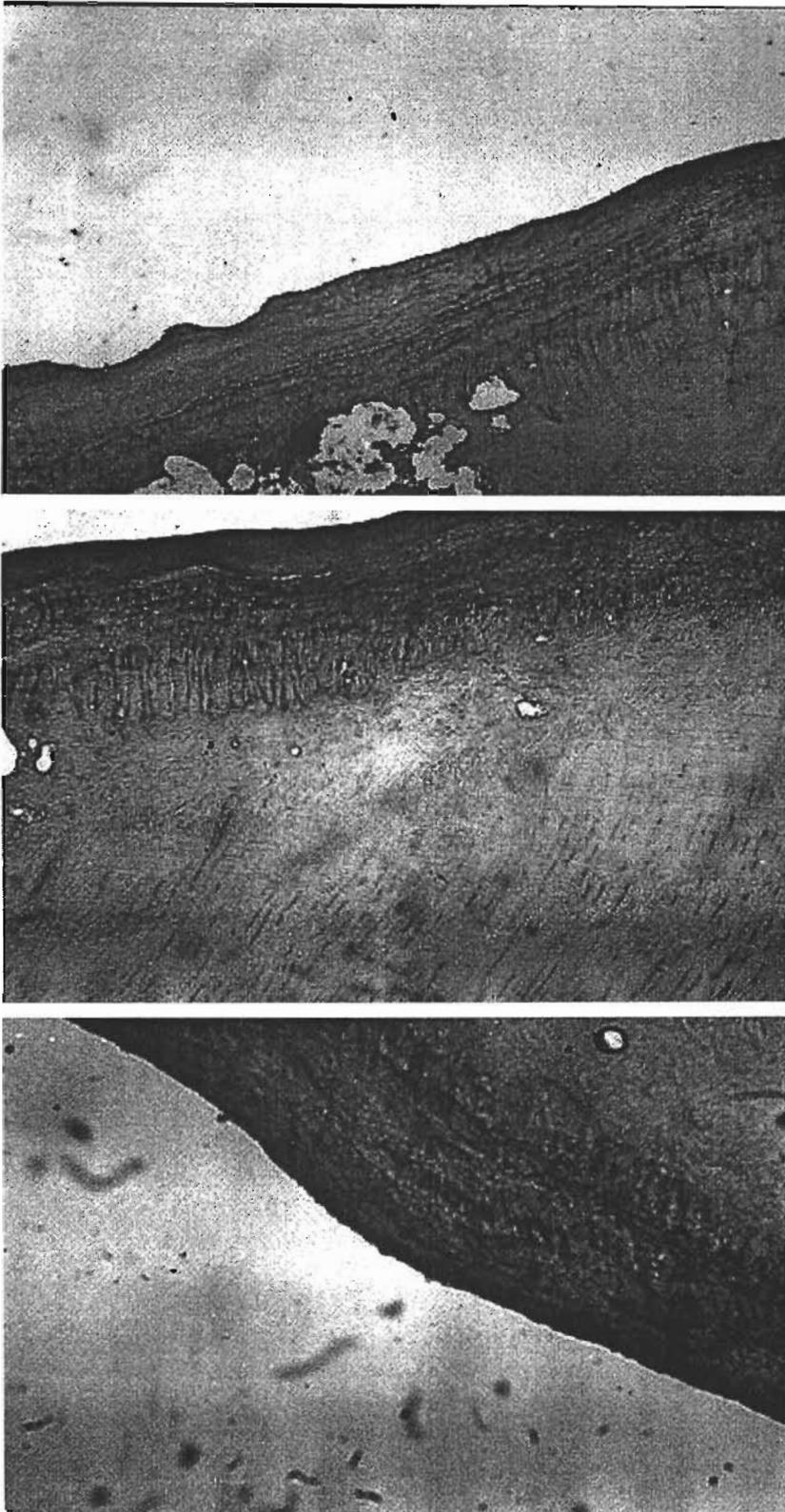


Figura 12. Líneas incrementales de cortes longitudinales de un incisivo lateral derecho pertenecientes a un espécimen con una antigüedad aproximada de 500 años.

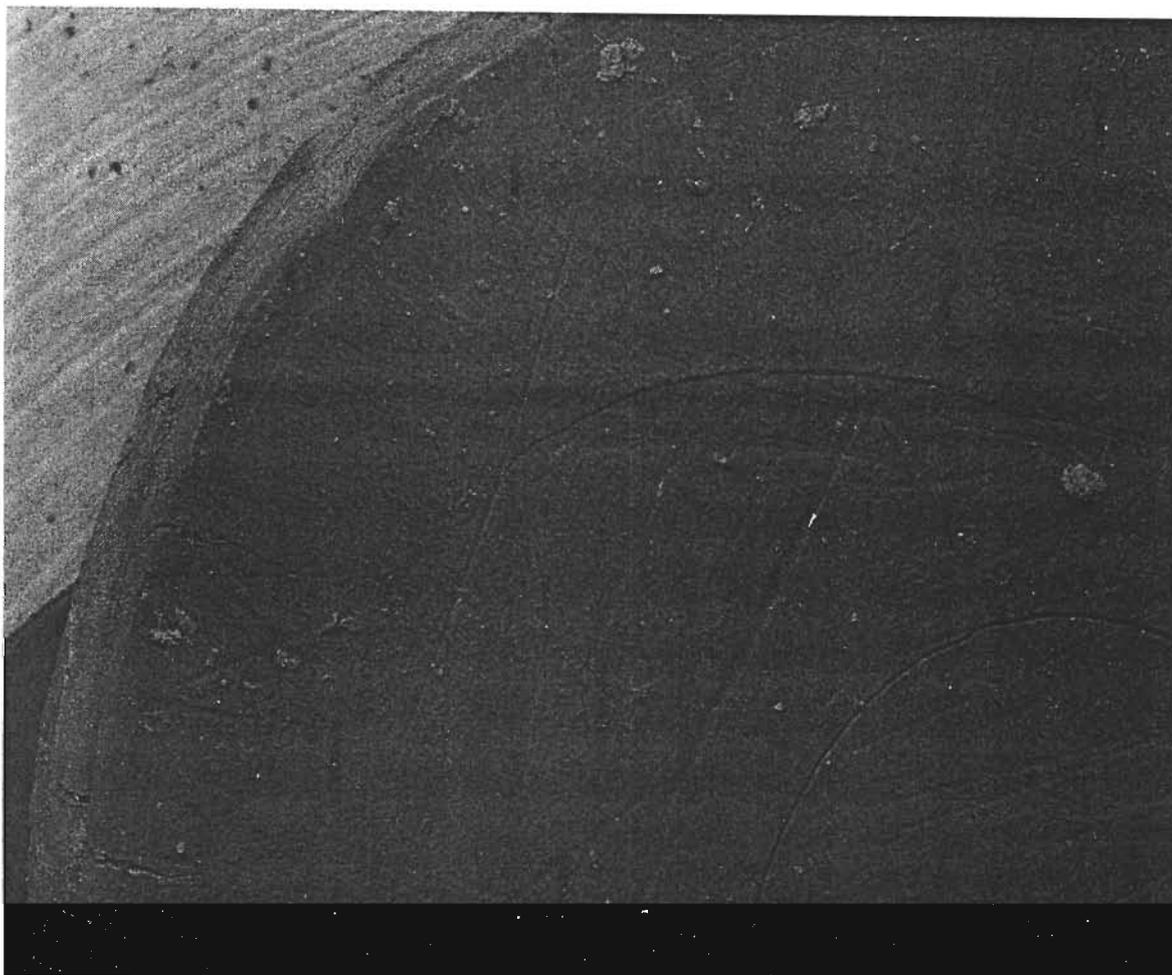


Figura 13. Corte transversal de un canino sin desmineralizar. Imagen obtenida del SEM de bajo vacío (500x) que muestra la unión cemento-dentina y algunas líneas en la superficie del primero que, al parecer, constituyen el mismo rasgo que conocemos como líneas incrementales.

Por otro lado, consideramos que la técnica de microscopía fluorescente no proporcionó información relevante sobre la naturaleza de las líneas incrementales, ya que en una de las imágenes obtenidas, en la zona correspondiente al cemento, se observó una estructura reticular que al parecer se trata de fibras de colágena (Figura 16).



Figura 14. Mayor acercamiento (1000x) del espécimen de la figura anterior. Se observa una discontinuidad en la superficie del cemento, en la cual se observan depósitos de material inorgánico (SEM de bajo vacío).

A partir de estas imágenes es difícil dar una explicación microscópica consistente sobre la naturaleza de las líneas incrementales, aunque consideramos que representan pequeños surcos en la superficie del cemento, las cuales, al ser vistas en el microscopio óptico, se muestran como líneas. Estos surcos podrían derivarse de la condensación de las fibras de colágena después de ser mineralizadas.

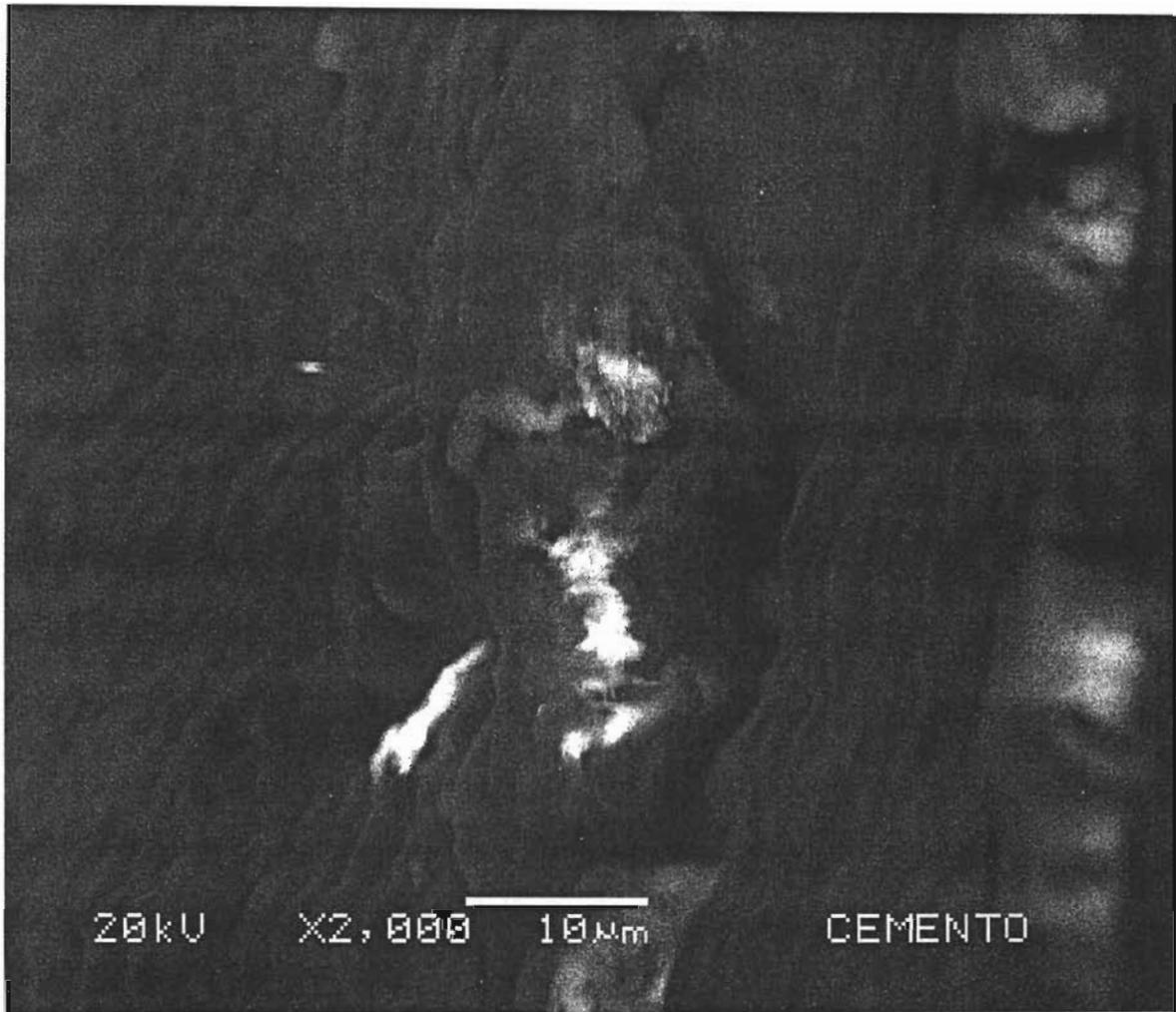


Figura 15. Seguimiento de la imagen anterior, el cual muestra con mayor claridad un surco de 10 micras aproximadamente (SEM de bajo vacío 2000x).

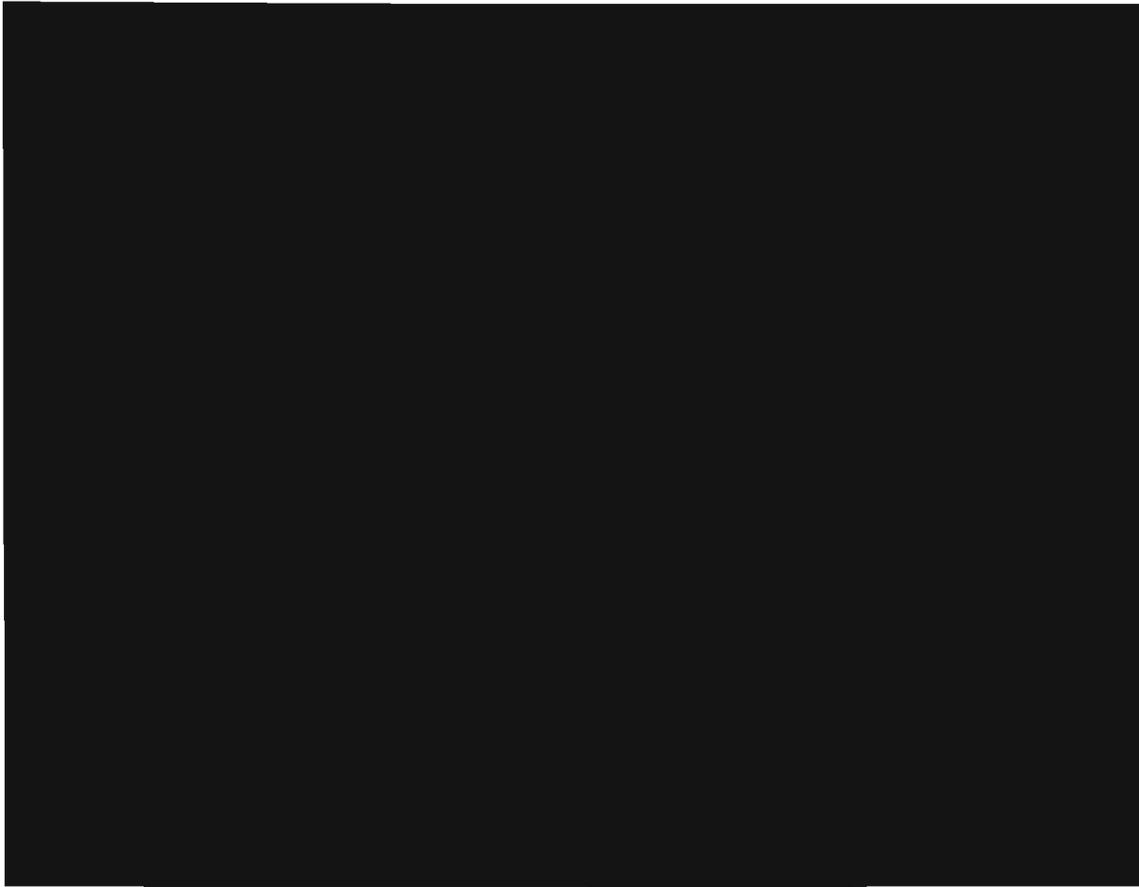


Figura 16. Corte desmineralizado teñido con fluoresceína a 1%, observado con microscopía fluorescente (50x) que muestra una estructura reticular en la zona correspondiente al cemento dental.

VIII. Discusión

Los resultados de este trabajo representan algunos avances de la puesta en marcha de un nuevo método de estimación de la edad con base en la observación del cemento dental. Se han sugerido y realizado varias técnicas para contar las líneas incrementales y emplearlas en el diseño de un modelo que relacione este proceso biológico con la edad cronológica, pero hasta ahora los resultados han sido confusos debido principalmente a dos causas: por un lado, la falta de un procedimiento histológico bien establecido para el análisis de las líneas incrementales y, por el otro, el desconocimiento de las causas biológicas que dan origen a este fenómeno (Regalado y Del Ángel 2004). El procedimiento estandarizado con nuestra prueba piloto representa una alternativa que mostró buenos resultados en la observación de las líneas incrementales.

El uso de cortes desmineralizados fue claramente preferible sobre aquellos que no lo son, debido a que con esta técnica se pueden realizar secciones delgadas; las cuales, además de no experimentar cambios importantes en la estructura de interés, presentan otras ventajas sobre los cortes gruesos: se manipulan con mayor facilidad, se tiñen mejor y se pueden realizar varios de ellos a partir de un solo espécimen. En un estudio usando cortes mineralizados, Douglas (1989) notaron que los cortes gruesos (80 micras) son la causa principal que contribuye a la imprecisión de esta técnica.

La irregularidad en la disposición de las líneas incrementales fue un factor que complicó el conteo preciso de las líneas. Kvaal y Solheim (1995) calcularon el número de líneas mediante la medición del grosor del cemento en un sitio específico de su superficie; pero los resultados mostraron que hubo menor correlación entre la edad conocida y el número de líneas, que la obteni-

da mediante el conteo directo. Esta irregularidad es un rasgo propio del tejido, que sólo se puede controlar seleccionando los especímenes posibles de contar directamente. El conteo de las líneas se puede realizar adecuadamente en fotografías en blanco y negro, ya que notamos que no hay diferencia en el número de líneas entre esta técnica y otra realizada con un software. Sin embargo, Wittwer *et al.* (2003) atribuyeron la reducción en el error de conteo al uso de imágenes obtenidas en tiempo real y a su procesamiento digital.

En la observación de cortes teñidos como los nuestros es suficiente utilizar luz transmitida en campo claro; pero algunos autores (Stott 1982, Naylor 1985) emplearon la técnica de interferencia de Nomarski para sus estudios, con buenos resultados.

En esta investigación sólo se incluyeron dientes unirradiculares (incisivos, caninos y premolares); los premolares de doble raíz fueron excluidos, así como los que tenían raíz muy corta o incompleta, formando un total de 17 casos.

Varios aspectos que consideramos interesantes como la influencia que pudiera tener la enfermedad periodontal en la formación de líneas incrementales o las diferencias en el número de estas líneas dependiendo del tipo de diente, así como las diferencias con respecto al sexo, no se pudieron analizar por el reducido número de casos.

La buena correlación que existe entre la edad cronológica y el número de líneas significa que hay una dependencia entre estas variables. La regresión de esta dependencia resultó en un modelo lineal distinto al planteado hasta ahora; la diferencia surge porque nosotros hemos observado un menor número de líneas por edad en cada uno de los casos estudiados. Aunque aquí se presentan resultados preliminares, consideramos que la formación de las líneas no es anual.

Esta técnica de estimación de la edad fue probada inicialmente en otras especies de animales (delfines, caballos, vacas, aves, etcétera), y desde entonces se ha considerado que la pauta de formación de las líneas incrementales es similar para toda las especies, ya que en las estimaciones se asume que cada línea representa un año de vida. Esta puede ser una visión equivocada si se toma en cuenta que el principal inductor de la formación de las líneas incrementales, la masticación, tiene un patrón único para cada especie. En el ser humano, a diferencia de otros mamíferos, este patrón de masticación generalmente es estable, ya que no experimenta cambios importantes en su alimentación, esto hace que el proceso que implica la formación de líneas incrementales tenga una periodicidad distinta a otras especies.

La búsqueda de una explicación microscópica de las líneas incrementales es una tarea que pocos investigadores han abordado, de tal manera que hay pocas propuestas en ese sentido. Una de ellas, planteada por Schroeder (1986), sugiere que las líneas incrementales son causadas por un cambio abrupto en el curso de las fibras de colágena sobre la superficie del cemento dental. Nuestra idea de que las líneas incrementales constituyen pequeños surcos en la superficie del cemento representa otra propuesta a discutir en estudios posteriores.

IX. Conclusiones

En este trabajo se han analizado algunos aspectos relacionados con el uso del cemento dental como parámetro en la estimación de la edad cronológica humana. Las conclusiones que surgen de nuestras observaciones y resultados preliminares son las siguientes:

Primera. Las líneas incrementales, en efecto, constituyen un rasgo constante y cuantificable del cemento dental humano.

Segunda. Con respecto a la naturaleza microscópica de este rasgo, consideramos que estas representan pequeños surcos en la superficie del cemento; los cuales, al ser vistos en el microscopio óptico, se muestran como líneas; estos surcos también podrían derivarse de la condensación de las fibras de colágena después de su mineralización.

Tercera. El procedimiento histológico que implica la desmineralización de los dientes, el corte de 5-7 micras y la tinción con cristal violeta es el más adecuado para la observación de las líneas incrementales, tanto en especímenes contemporáneos como en antiguos.

Cuarta. La alta correlación que encontramos entre la edad conocida y el número de líneas incrementales nos hace pensar que ambas variables son dependientes entre sí.

Quinta. El ritmo de formación de las líneas incrementales debe ser distinto para cada especie. Este ritmo no es anual en el humano sino de casi dos años por línea en promedio, como lo muestra nuestro análisis de regresión.

Con base en lo anterior, consideramos que las líneas incrementales del cemento dental humano sirven de base potencial para la elaboración de un mé-

todo de estimación de la edad que tenga un alto grado de confiabilidad. Ahora, la tarea es establecer los niveles de confianza mediante un estudio con mayor número de dientes identificados, por un lado, y por el otro, abundar en la búsqueda de los mecanismos biológicos que regulan la formación de las líneas incrementales, para así tener certeza sobre qué es lo que realmente se está contando, además de buscar tácticas que ayuden a reducir los posibles errores en el conteo causados por la irregularidad en la disposición de las líneas.

Bibliografía

- Arzate, H., S. W. Olson, R. C. Page y A. S. Narayanan (1992). "Isolation of human tumors that produce cementum in culture". *Bone Miner.*, 18:15-30.
- Bang, Gisle (1993). "The age of a stone age human skeleton determined by means of root dentin transparency". *Norw. Arch. Rev.*, 26: 55-57.
- Bang, Gisle y E. Ramm (1970). "Determination of age in humans from root dentin transparency". *Acta odontologica escandinavica*, 28: 3-35.
- Barkana, I., A. S. Narayanan, A. Grosskop, N. Savian y S. Pitaru (2000). "Cementum attachment protein enriches putative cementoblastic populations on root surfaces in vitro". *J. Dent. Res.*, 79 (7): 1482-1488.
- Bartold, P. Mark y A. Sampath Narayanan (1998). *Biology of the periodontal connective tissues*. Quintessence Publishing, 278 pp.
- Beasley, M. J., W. A. B. Brown y A. J. Legge (1992). "Incremental banding in dental cementum: methods of preparation for teeth from archaeological sites and for modern comparative specimens". *International Journal of Osteoarchaeology*, 2: 37-50.
- Beertsen, W., T. VandenBos y V. Everts (1999). "Root development in mice lacking functional tissue non-specific alkaline phosphatase gene: inhibition of acellular cementum formation". *J. Dent. Res.*, 78 (6): 1221-1229.
- Berkovitz, B. K, G. R. Holland y B. J. Moxham (1992). *Oral anatomy, histology and embryology*. Mosby-Year Book, 327 pp.
- Beyer-Olsen, E. M., Gisle Bang y Berit J. Sellevold (1994). "Dental root dentine translucency used in age determination of medieval Norwegians from Trondheim". *International Journal of Osteoarchaeology*, 4: 305-310.
- Bhaskar, S. N. (1993). *Histología y embriología bucal de Orban*. Prensa Médica Mexicana, 405 pp, México.
- Bonucci, E., editor (1992). *Calcification in biological systems*. CRC Press, 406 pp, Florida.
- Burke, A. y J. Castanet (1995). "Histological observations of cementum growth in horse teeth and their application to archaeology". *Journal of Archaeological Science*, 22: 479-493.

- Condon, Keith, Charles K. Douglas, James M. Cheverud y Jane E. Buikstra (1986). "Cementum annulation and age determination in *Homo sapiens*. II. Estimates and accuracy". *American Journal of Physical Anthropology*, 71: 321-330.
- D'Errico, J. A., J. E. Berry, H. Ouyang, C. L. Strayhorn, J. J. Windle y M. J. Somerman (2000). "Employing a transgenic animal model to obtain cementoblast in vitro". *J. Periodontol.*, 71 (1): 63-72.
- Daniel, Wayne W. (1995). *Bioestadística: base para el análisis de las ciencias de la salud*. Limusa, 878 pp, México.
- Douglas, K. Charles, Keith Condon, James M. Cheverud y Jane E. Buikstra (1986). "Cementum annulation and age determination in *Homo sapiens*. I. Tooth variability and observer error". *American Journal of Physical Anthropology*, 71: 311-320.
- Douglas, K. Charles, Keith Condon, James M. Cheverud y Jane E. Buikstra (1989). "Estimating age at death from growth layer groups in cementum". En: M. Y. Iscan (editor), *Age markers in the human skeleton*, Charles C Thomas, Springfield, capítulo 12.
- Falter, R. (1975). *Altersbestimmung an Zähnen zur Identifizierung unbekannter*. Med Diss, München (citado en Iscan 1989).
- Fédération Dentaire Internationale (1971). "Two digit system of designating teeth". *International Dental Journal*, 21: 104-106.
- Gao, Jin, A. L. Symons, H. Haase y P. M. Bartold (1999). "Should cementoblast express alkaline phosphatase activity? Preliminary study of rat cementoblast in vitro". *J. Periodontol.*, 70 (9): 951-959.
- Genovés Tarazaga, Santiago (1962). *Introducción al diagnóstico de la edad y del sexo en restos óseos prehistóricos*. Instituto de Historia de la Universidad Nacional Autónoma de México, 137 pp, México.
- Gustafson, G. (1950). Age determination on teeth. *Journal of the American Dental Association*. 41:45-54
- Glimcher, M. J. (1959). "Molecular biology of mineralized tissues with particular reference to bone". *Rev. Mod. Phys.*, 31: 359 (citado en Bonucci 1992).
- Hiemer, R. (1975). *Untersuchungen zur Altersbestimmung an zähnen*. Med Diss, München

- (citado en Iscan 1989, p 261).
- Hillson, Simon (1996). *Dental anthropology*. Cambridge University Press, 373 pp Cambridge.
- Hodge, A. J. y J. A. Petrusca (1963). "Recent studies with the electron microscope on ordered aggregates of the tropocollagen macromolecules". *Aspect of protein structure*, London Academic Press, 289 pp, Londres (citado en Bonucci 1992).
- Hoppa, R. D. y J. W. Vaupel, editores (2002). *Paleodemography. Age distribution from skeletal samples*. Cambridge Studies in Biological and Evolutionary Anthropology 31, Cambridge University Press.
- Iscan, Mehmet Yasar y Kenneth A. R. Kennedy (1989). *Reconstruction of life from the skeleton*. Alan R. Liss, 315 pp, Nueva York
- Iscan, Mehmet Yasar (1989). *Age markers in the human skeleton*. Charles C Thomas, 359 pp, Springfield.
- Jones, S. J. (1981). "Cement". En: J. W. Osborn (ed.), *Dental anatomy and embryology*, pp 193-205, 286-294, Blackwell Scientific, Oxford.
- Johanson, G. (1971). "Age determination from human teeth: a critical evaluation with special consideration of changes after fourteen years of age". *Odontol. Rev.*, 22 (Suppl. 21): 1-126 (citado en Iscan 1989).
- Kvaal, S. I. y Solheim T. (1995). "Incremental lines in human dental cementum in relation to age". *Eur. J. Oral. Sci.*, 103: 225-230.
- Kvaal, S. I. y Ebba M. Doring (1999). "A dental study comparing age estimations of the human remains from the Swedish warship vasa". *Int. J. Osteoarchaeol.*, 9: 170-181.
- Kilian, J. y Vleck E. (1986). *Age determination from teeth in the adult* (citado en Iscan 1989, pp 263).
- Landis, W. J., K. J. Hodgens, M. J. Son, J. Arena, S. Kiyonaga, M. Marko, C. Owen y B. Mc Ewen (1996). "Mineralization of collagen may occur on fibril surfaces: evidence from conventional and high-voltage electron microscopy and three-dimensional imaging". *Journal of Structural Biology*, 117: 24-35.
- Landon, David B. (1993). "Testing a seasonal slaughter model for colonial New England using tooth cementum increment analysis". *Journal of Archaeological Science*, 20: 439-455.

- Laws, R. M. (1952). "A new method of age determination for mammal". *Nature*, 169: 972-973.
- Lee, T. A y S. D. Markman (1979). "Coxoh Maya acculturation in colonial Chiapas: a necrotic archaeological-ethno historical model". *Actes et Mémoires du XLII Congrès International des Americanistes*, 8: 57-66, París.
- Lieberman, Daniel E. (1994). "The biological basis for seasonal increments in dental cementum and their application to archaeological research". *Journal of Archaeological Science*, 21: 525-539.
- MacCulloch, C. A. G. y H. C. Tenenbaum (1986). "Dexamethasone induces proliferation and terminal differentiation of osteogenic cells in tissue culture". *The anatomical record*, 215: 397-402.
- Mann, Stephen (1988). "Molecular recognition in biomineralization". *Nature*, 332 (10): 119-124.
- Maturana Romesín, Humberto y Francisco J. Varela Garcia. *Transformaciones en la convivencia*. Dolmen Ediciones, Santiago de Chile (citado en Ramos 2004).
- Mjör, Ivar A. (1990). *Embriología e histología oral humana*. Salvat, 327 pp, España.
- Nitzan, D. W., Y. Michaeli, M. Weinreb y B. Azaz (1986). "The effect of aging on tooth morphology: a study on impacted teeth". *Oral Surgery*, 61: 54-60.
- Naylor, J. W., W. G. Miller, G. N. Stokes y G. G. Stott (1985). "Cemental annulation enhancement: a technique for age determination in man". *Am. J. Phys. Anthropol.*, 68: 197-201.
- Olson, S., H. Arzate, A. S. Narayanan y R. C. Page (1991). "Cell attachment activity of cementum proteins and mechanism of endotoxin inhibition". *Journal of Dental Research*, 70(9): 1272-1277.
- Pilin, A. (1981). *Stomatologicka identifikace a moznosti urceniveku podle zubu*. Kandidátska dicertace, Praha (citado en Iscan y Kennedy 1989).
- Ramos Rodríguez, Rosa María (2004). *Homeorresis en la etapa formativa de la vida: estudio bioantropológico en menores de Tlaxiaco, Oaxaca*. Tesis de doctorado, UNAM (inédita).
- Regalado, L. A. y Andrés del Ángel E. (en prensa). "Cambios ontogenéticos del tejido dental. Incremento de anillos del cemento". *Estudios de Antropología Biológica*, volumen

12, México.

- Renz, H., V. Schaefer, H. Duschner y R. J. Radlanski (1997). "Incremental lines in root cementum of human teeth: an approach to their ultrastructural nature by microscopy". *Adv. Dent. Res.*, 11 (4): 472-477.
- Renz, H., V. Schaefer, H. Duschner y R. J. Radlanski (1998). "Annulations in root-cementum of human teeth. Fact or artifact?". En: J. T. Mayhall y T. Heikkinen (editores). *Dental Morphology '98*, Oulu University Press, Oulu.
- Schroeder, Hubert E. (1986). "The periodontum". *Handbook of microscopic anatomy*, volumen 5, vi, 418 pp. Springer-Verlag, Nueva York.
- Schwartz, Jeffrey H. (1995). *Skeleton keys. An introduction to human skeletal morphology, development, and analysis*. Oxford University Press, 362 pp, Nueva York.
- Stott, G. G., R. F. Sis y B. M. Levy (1980). "Cemental annulation as an age criterion in forensic dentistry". *Journal of Dental Research*, 61: 814-817.
- Stott, George G. y H. del Var Petersen (1987). *Cemental annulation: aging in forensic dentistry*. Manuscrito, 54 pp + anexos, EUA.
- Tambasco de Oliveira, Paulo, S. F. Zalkal, K. Irie y A. Nanci (2003). "Early expression of bone matrix proteins in osteogenic cell cultures". *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 51 (5): 633-641.
- White, Timothy D. (1991). *Human osteology*. Academic Press, 455 pp, San Diego.
- Wilkinson, Leland y Mark Cowward (2000). "Linear models I: linear regression". *Systat 10 Statistics I*, I-399ss, SPSS, EUA.
- Wittwer-Backofen, Ursula y Helene Buba (2002). "Age estimation by tooth cementum annulation: perspectives of a new validation study". En: R. D. Hoppa y J. W. Vaupel (editores), *Paleodemography. Age distribution from skeletal samples*, pp 107-128, Cambridge Studies in Biological and Evolutionary Anthropology 31, Cambridge University Press.
- Wittwer-Backofen, Ursula, Jutta Gampe y James W. Vaupel (2003). "Tooth cementum annulation for age estimation: results from a large known-age validation study". *American Journal of Physical Anthropology*, 123:119-129.

Anexo 1

Cédula de registro individual inicial

Fecha de registro: _____

Anotó: _____

Nombre del sujeto: _____

Sexo: _____

Fecha de nacimiento: _____

Lugar de nacimiento: _____

Número de diente: _____

Lugar de nacimiento del padre: _____

Lugar de nacimiento de la madre: _____

Lugar de nacimiento del abuelo paterno: _____

Lugar de nacimiento de la abuela paterna: _____

Lugar de nacimiento del abuelo materno: _____

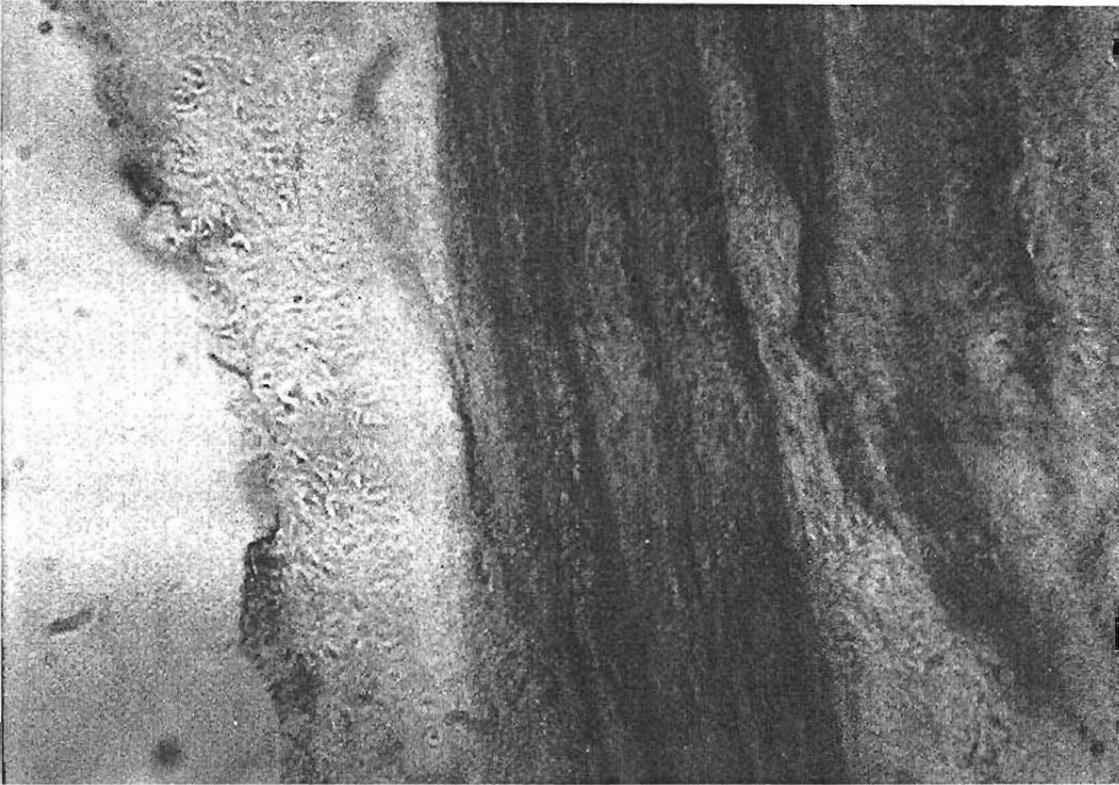
Lugar de nacimiento de la abuela materna: _____

Fecha de extracción: _____

Lugar de extracción: _____

Motivo de la extracción: _____

Anexo 2



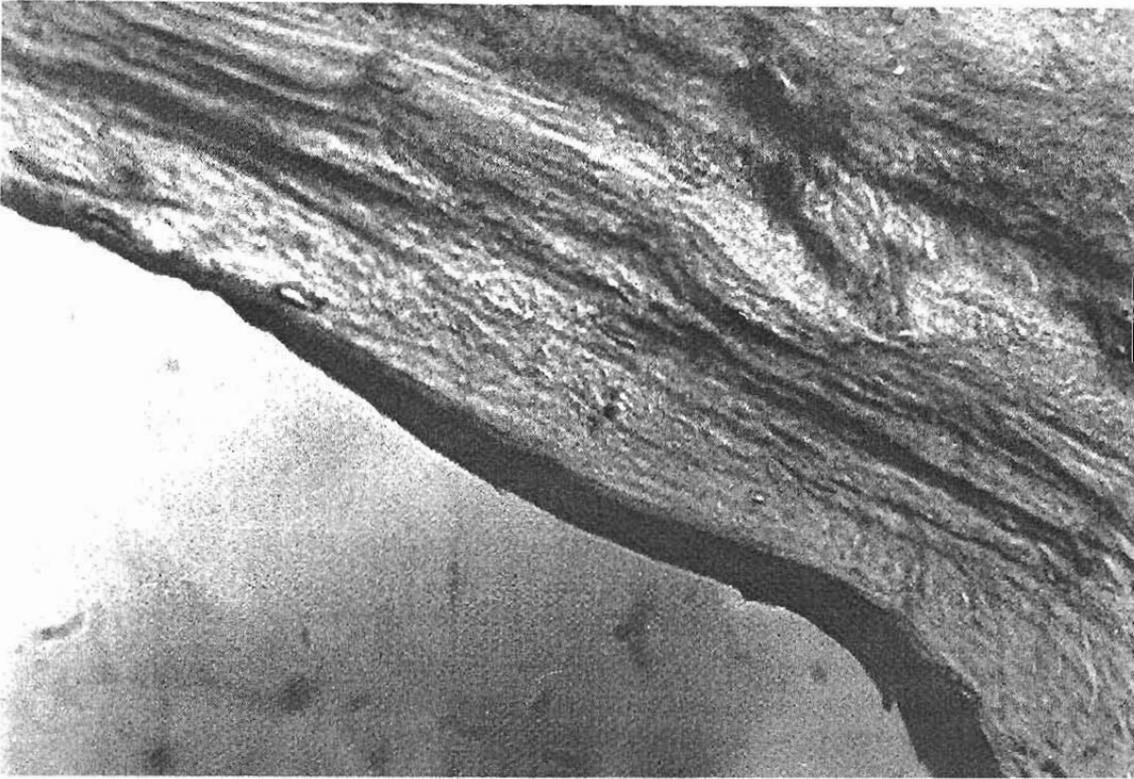
Caso 1, 24 años de edad, primer premolar inferior izquierdo, siete líneas contadas.

Anexo 3



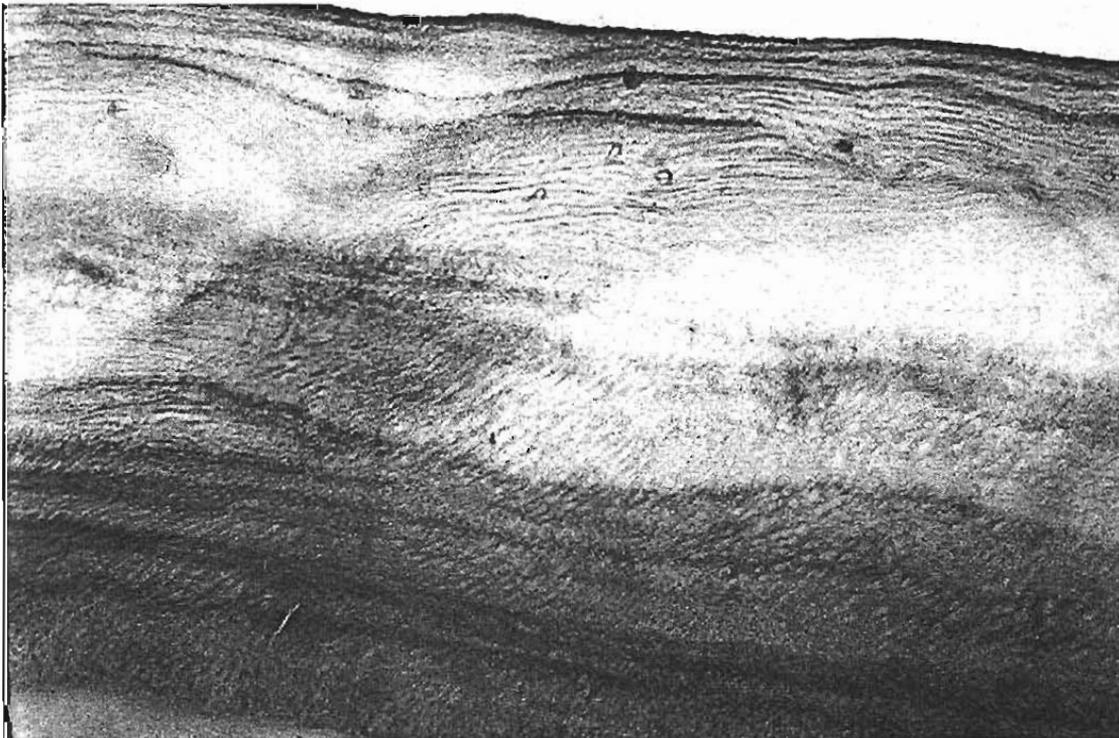
Caso 2, 82 años de edad, canino superior derecho, 31 líneas contadas.

Anexo 4



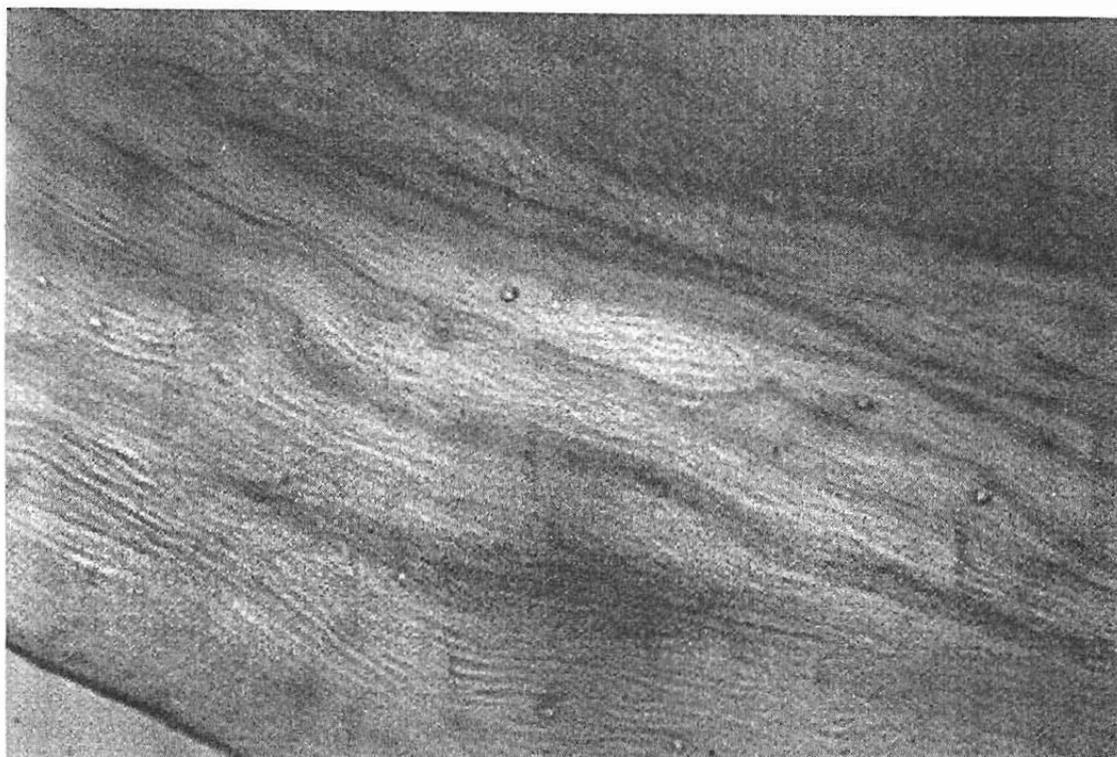
Caso 3, 54 años de edad, canino superior izquierdo, 21 líneas contadas.

Anexo 5



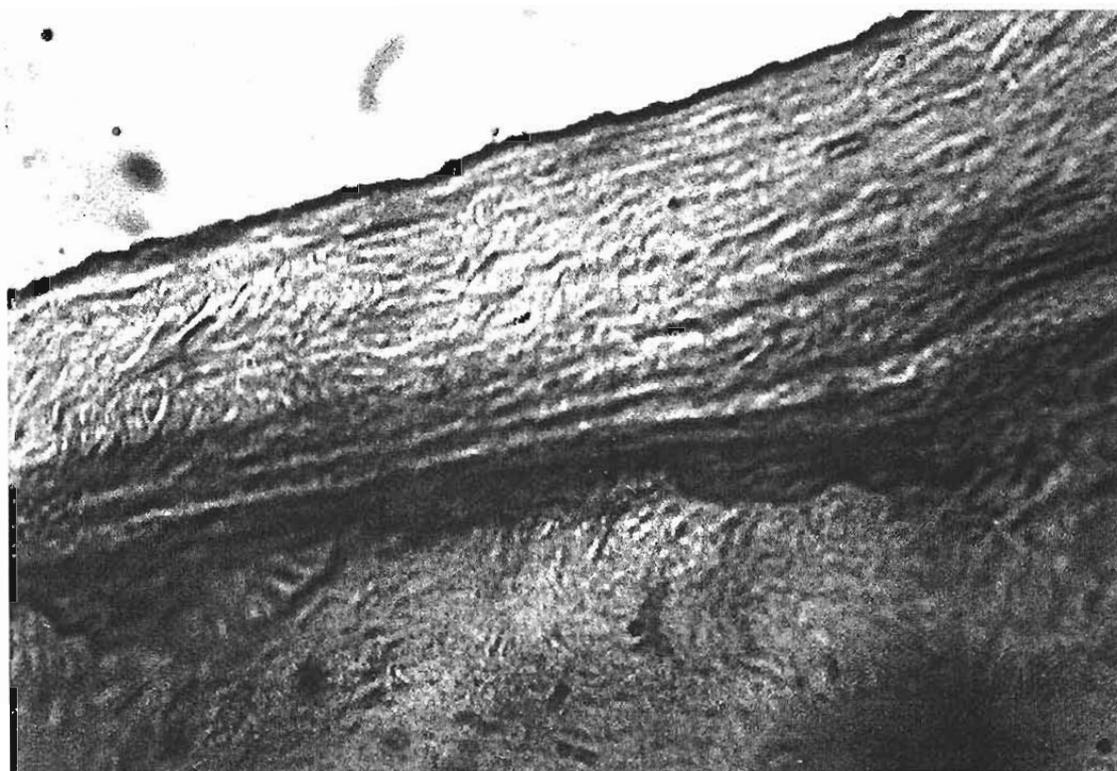
Caso 4, 80 años de edad, canino superior derecho, 29 líneas contadas.

Anexo 6



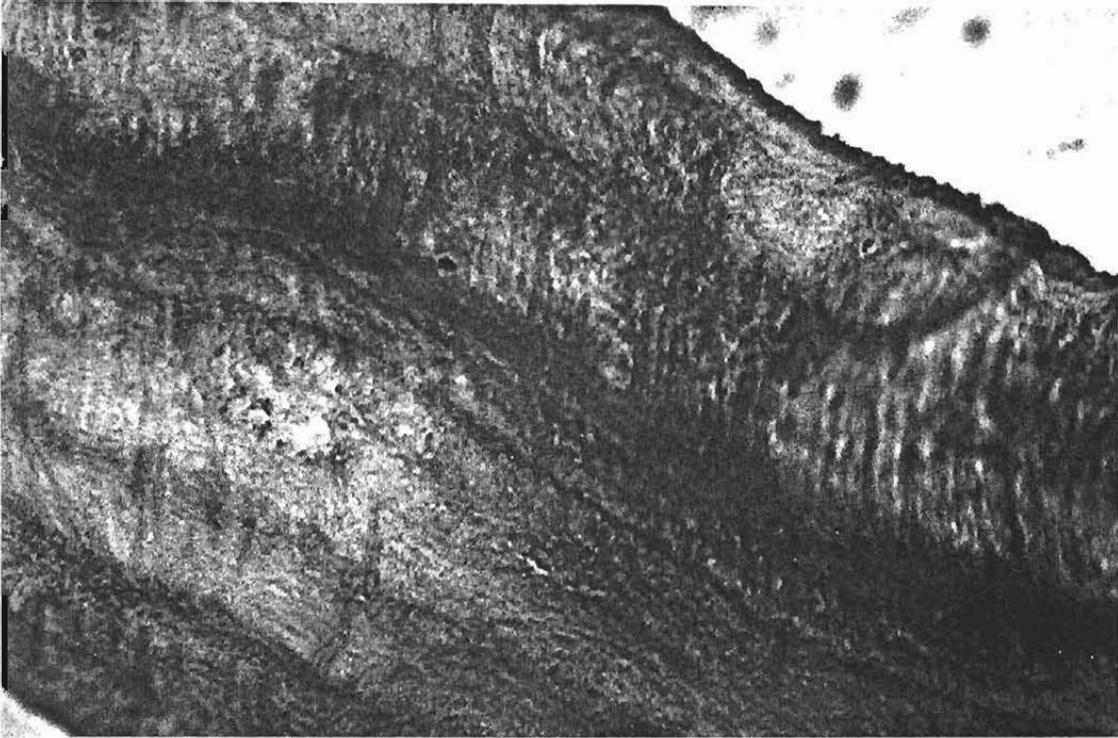
Caso 5, 85 años de edad, canino superior izquierdo, 35 líneas contadas.

Anexo 7



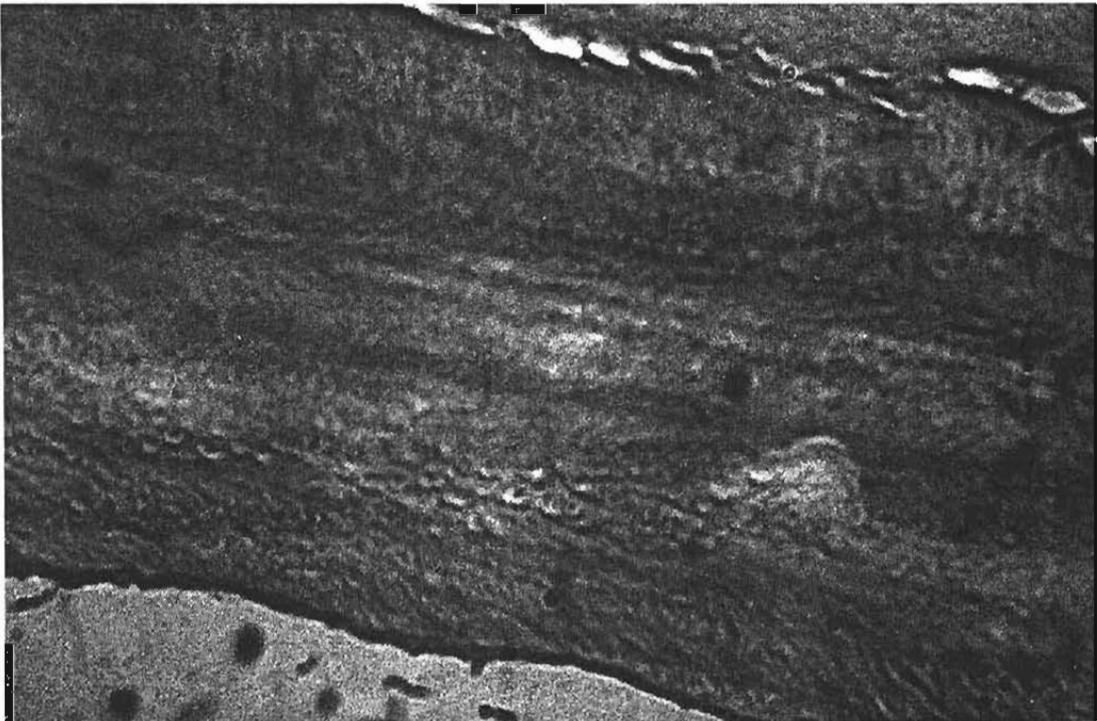
Caso 6, 46 años de edad, incisivo lateral izquierdo, 12 líneas contadas.

Anexo 8



Caso 7, 61 años de edad, primer premolar inferior izquierdo, 17 líneas contadas.

Anexo 9



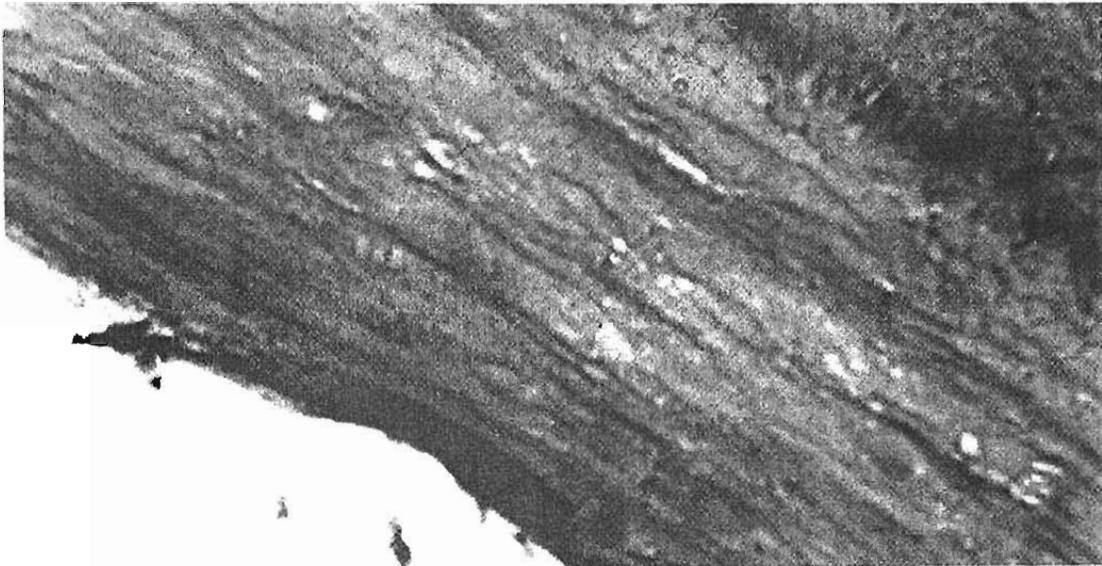
Caso 8, 54 años de edad, primer premolar inferior izquierdo, 19 líneas contadas.

Anexo 10



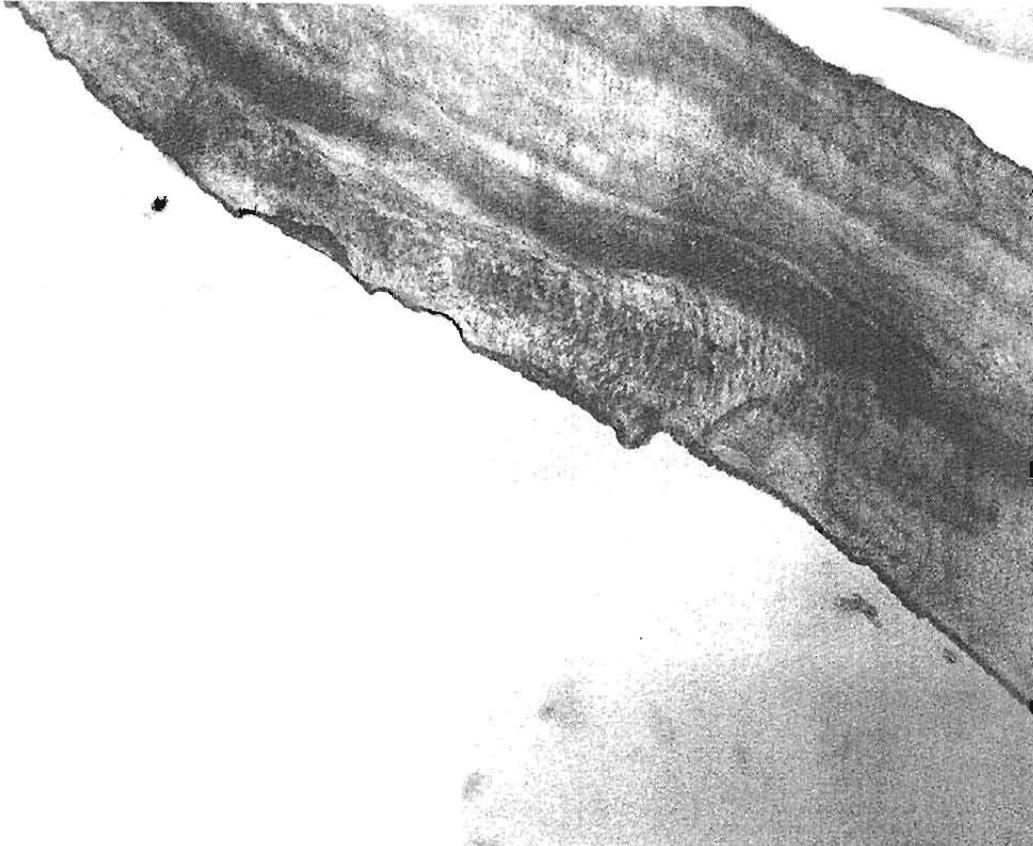
Caso 9, 65 años de edad, segundo premolar inferior izquierdo, 23 líneas contadas.

Anexo 11



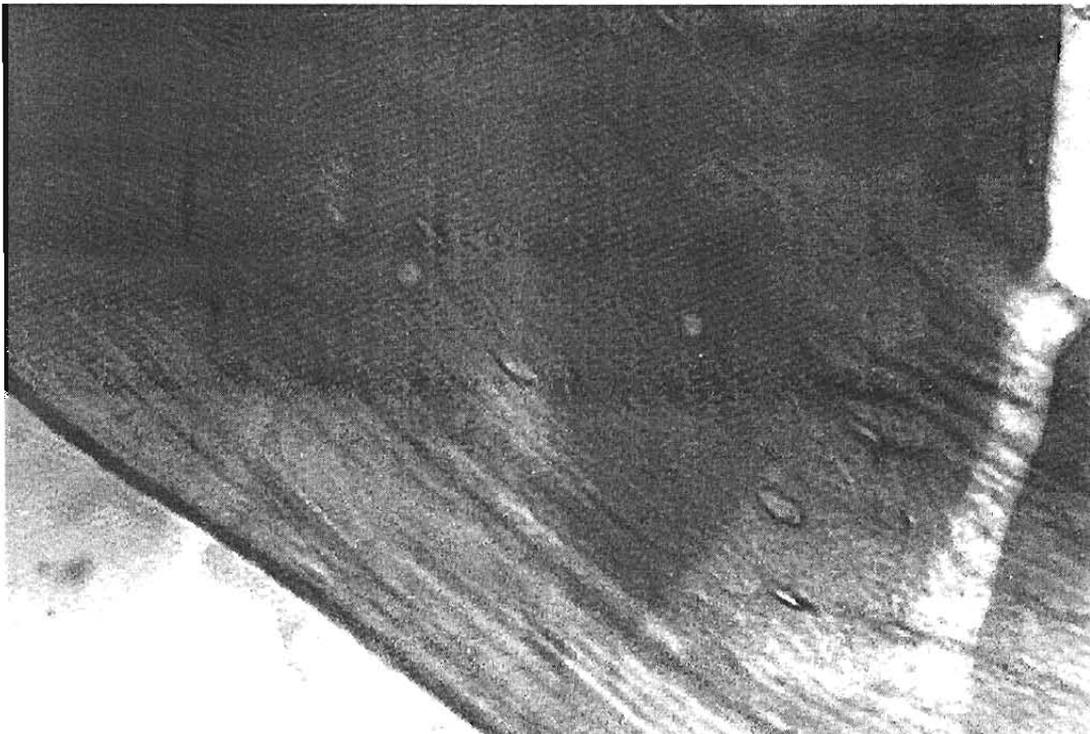
Caso 10, 58 años de edad, canino superior izquierdo, 21 líneas contadas.

Anexo 12



Caso 11, 45 años de edad, incisivo central superior derecho, 19 líneas contadas.

Anexo 13



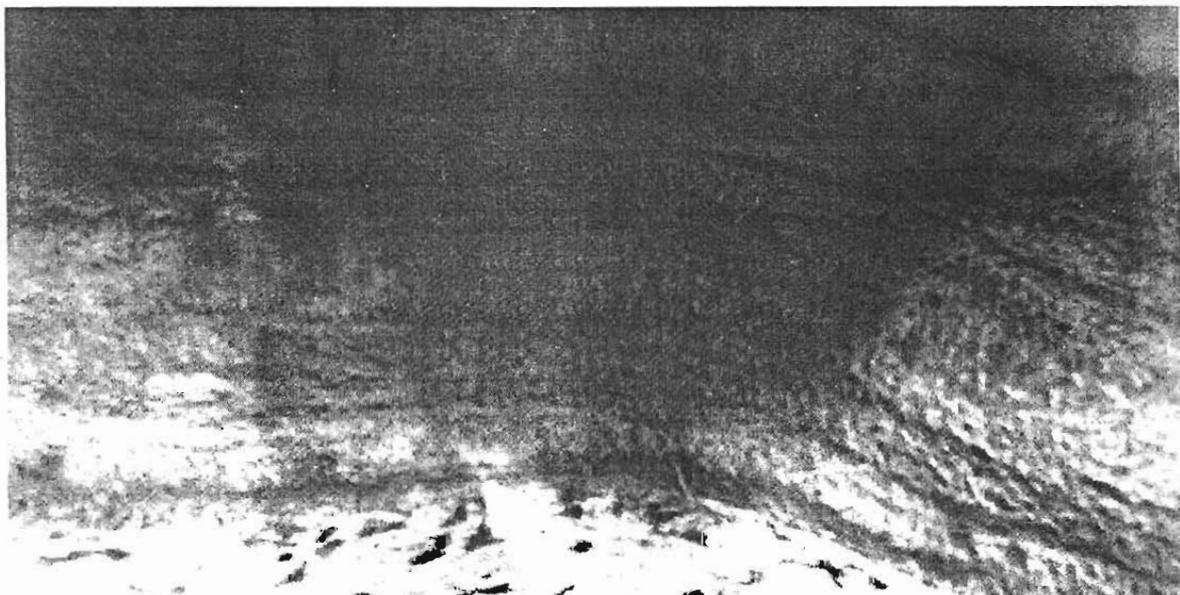
Caso 12, 81 años de edad, primer premolar inferior izquierdo, 34 líneas contadas.

Anexo 14



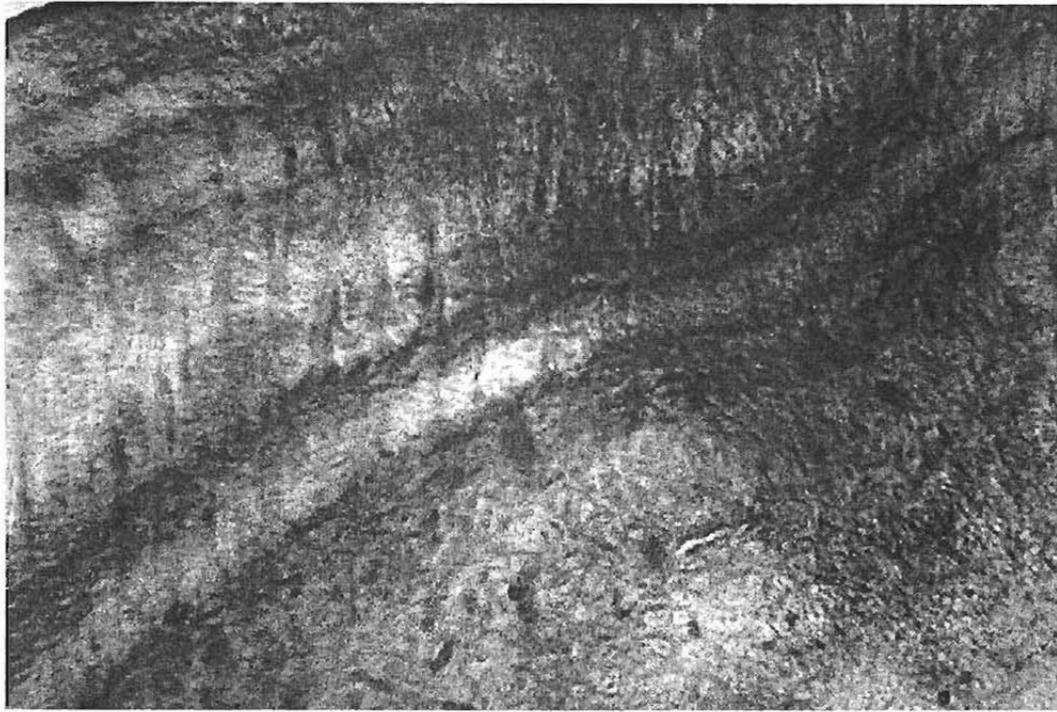
Caso 13, 35 años de edad, canino superior derecho, 10 líneas contadas.

Anexo 15



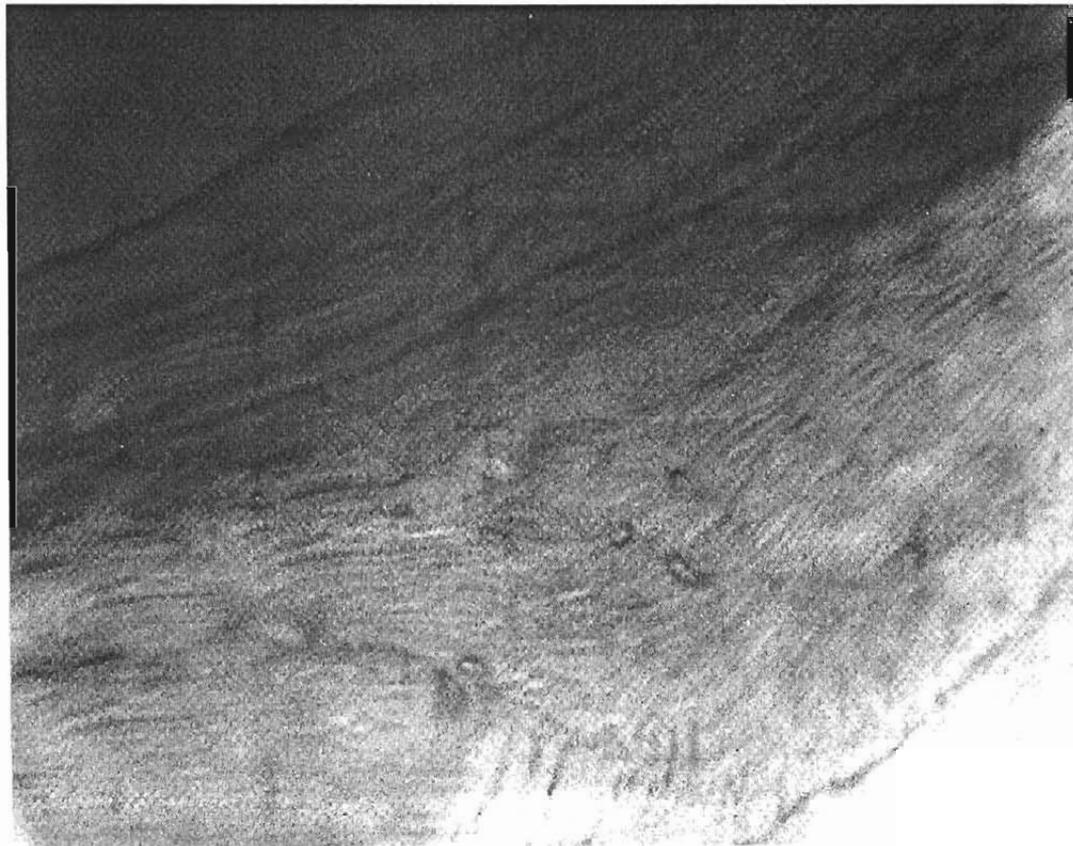
Caso 14, 45 años de edad, segundo premolar inferior izquierdo, 13 líneas contadas.

Anexo 16



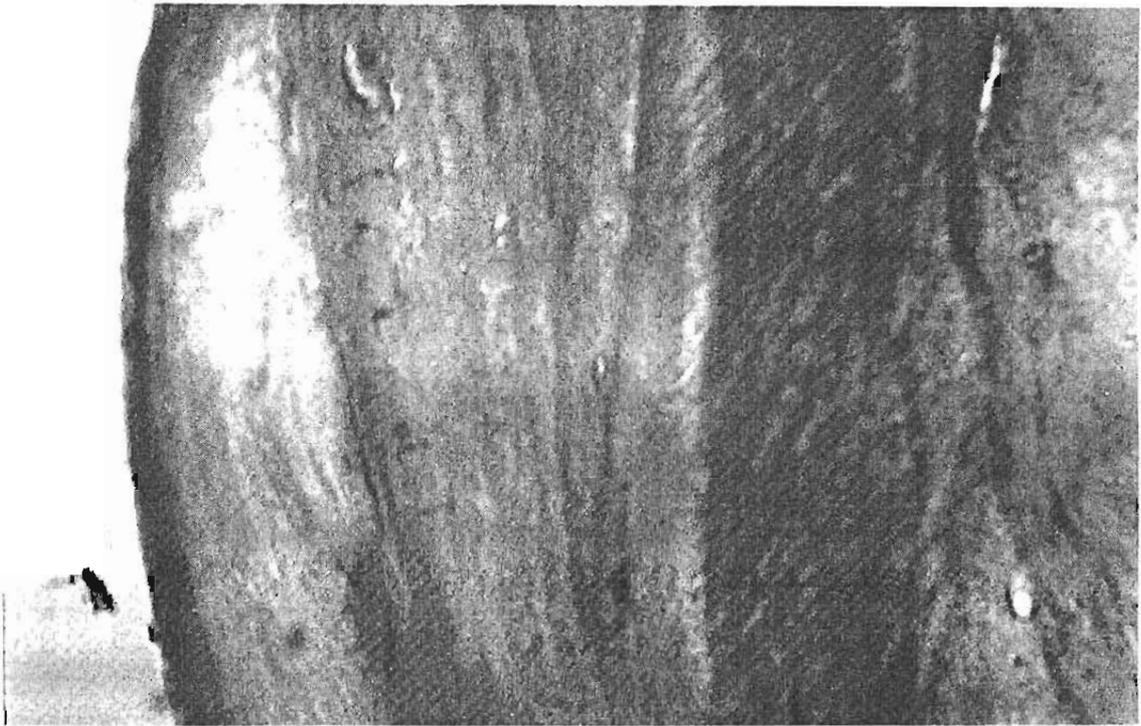
Caso 15, 24 años de edad, segundo premolar superior izquierdo, 8 líneas contadas.

Anexo 17



Caso 16, 71 años de edad, canino inferior izquierdo, 28 líneas contadas.

Anexo 18



Caso 17, 43 años de edad, incisivo lateral derecho, 18 líneas contadas.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo reoepcional.

NOMBRE: LUIS ALBERTO
RESALDO RUIZ

FECHA: 09/05/05

FIRMA: [Signature]

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**