



# **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E  
INVESTIGACIÓN  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**ESTUDIO ESTRUCTURAL Y ULTRAESTRUCTURAL DEL  
EPITELIO INTERNO EN EL GERMEN DENTAL DE RATAS  
EXPUESTAS A ETILÉN GLICOL Y METIL CELOSOLVE.**

## **TESIS**

Que para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS**

Presenta:

**C.D. ALEXIEI CONSTANTINO CAMPOS**

TUTORA y DIRECTORA: DRA. SANTA PONCE BRAVO.  
ASESORES: DR. LUIS FELIPE JIMÉNEZ GARCÍA.  
DR. CONSTANTINO LEDESMA MONTES.

Ciudad Universitaria, 2008.



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.

*A Dios.*

*A mis padres.*

*A mi novia Rocío por su amor, paciencia y buenos consejos.*

*A la Dra. Santa y a su familia.*

*A Dr. Luis Felipe Jiménez por el gran apoyo en M&ET, a su excelente equipo de trabajo y a la M. C.*

*Reyna Lara por su colaboración en este laboratorio.*

*A Dr. Constantino.*

*A todos mis maestros que con tanta insistencia me han forjado un buen hábito de estudio.*

*A los que apoyaron incondicionalmente la realización de esta tesis: familiares, amigos y compañeros.*

*A la Universidad Nacional Autónoma de México.*

*A Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.*

## ÍNDICE

	Página
<b>I. RESUMEN.</b>	1
<b>II. INTRODUCCIÓN.</b>	3
<b>III. ANTECEDENTES.</b>	5
<b>IV. MARCO TEÓRICO.</b>	8
<b>A. SOLVENTES ORGÁNICOS.</b>	8
<b>1. GLICOLES.</b>	8
<b>1.1. ETILÉN GLICOL.</b>	8
1.1.1. Sinónimos.	9
1.1.2. Fórmula química de EG.	9
<b>1.2. METIL CELOSOLVE.</b>	9
1.2.1. Sinónimos.	9
1.2.2. Fórmula química de MC.	9
<b>2. PROPIEDADES FISICO-QUÍMICAS DEL EG Y EL MC.</b>	9
<b>3. USOS.</b>	10
<b>4. RIESGOS DE LOS GLICOLES.</b>	11
<b>5. EXPOSICIÓN A LA POBLACIÓN HUMANA CON EG Y MC.</b>	12
<b>B. ODONTOGÉNESIS.</b>	13
<b>1. FASES DE LA ODONTOGÉNESIS.</b>	13
<b>1.1. MORFOGÉNESIS (MORFODIFERENCIACIÓN).</b>	13
<b>1.2. HISTOGÉNESIS (CITODIFERENCIACIÓN).</b>	13
<b>2. DESARROLLO Y FORMACIÓN DEL PATRÓN CORONARIO.</b>	13
<b>2.1. LÁMINA VESTIBULAR.</b>	14
<b>2.2. LÁMINA DENTARIA.</b>	14
<b>3. ESTADIOS DE LA ODONTOGÉNESIS.</b>	14
<b>3.1. ESTADIO DE BROTE (BOTÓN) O YEMA DENTARIA.</b>	14

<b>3.2. ESTADIO DE CASQUETE.</b>	14
3.2.1. Componentes del órgano del esmalte.	15
3.2.1.1. Epitelio externo.	15
3.2.1.2. Epitelio interno.	15
3.2.1.3. Retículo estrellado.	15
3.2.2. Folículo dental.	15
<b>3.3. ESTADIO DE CAMPANA.</b>	16
3.3.1. Epitelio externo.	16
3.3.2. Retículo estrellado.	16
3.3.3. Estrato intermedio.	16
3.3.4. Epitelio interno.	16
<b>4. AMELOBLASTO.</b>	17
<b>C. ESMALTE.</b>	19
<b>1. BIOLOGÍA DEL DESARROLLO DEL ESMALTE.</b>	19
<b>1.1 AMELOGÉNESIS.</b>	19
<b>1.2 CICLO DE VIDA DEL AMELOBLASTO.</b>	20
1.2.1 Etapa morfogénica (preameloblasto).	20
1.2.2 Etapa de organización (Ameloblasto joven o presecretor).	21
1.2.3 Etapa formativa o de secreción.	21
1.2.4 Etapa de maduración.	23
1.2.5 Periodo de protección.	23
1.2.6 Etapa desmolítica.	23
<b>D. MODELOS EXPERIMENTALES PARA EL ESTUDIO DE LA ODONTOGÉNESIS.</b>	25
<b>E. ADMINISTRACIÓN DE DOSIS ORALES.</b>	28

---

1.	<b>VENTAJAS DE LA ADMINISTRACIÓN ORAL DE DROGAS.</b>	28
2.	<b>DESVENTAJAS DE LA ADMINISTRACIÓN ORAL DE DROGAS.</b>	28
	<b>V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.</b>	29
	<b>VI. JUSTIFICACIÓN.</b>	29
	<b>VII. OBJETIVOS.</b>	30
1.	<b>OBJETIVO GENERAL.</b>	30
2.	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS.</b>	30
	<b>VIII. HIPÓTESIS.</b>	31
	<b>IX. MATERIALES Y MÉTODOS.</b>	32
1.	<b>TIPO DE ESTUDIO.</b>	32
2.	<b>GRUPOS DE ESTUDIO.</b>	32
2.1.	<b>GRUPO CONTROL.</b>	32
2.2.	<b>GRUPOS EXPERIMENTALES.</b>	32
2.2.1.	Primer grupo experimental.	32
2.2.2.	Segundo grupo experimental.	32
2.2.3.	Tercer grupo experimental.	32
3.	<b>VARIABLES.</b>	32
3.1.	<b>VARIABLES DEPENDIENTES.</b>	32
3.2.	<b>VARIABLES INDEPENDIENTES.</b>	33
4.	<b>CRITERIOS.</b>	33
4.1.	<b>CRITERIOS DE INCLUSIÓN.</b>	33
4.2.	<b>CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.</b>	33
5.	<b>METODOLOGÍA.</b>	33
5.1.	<b>PROCESAMIENTO DE MUESTRAS PARA MICROSCOPIA FOTÓNICA (MF).</b>	33
5.2.	<b>PROCESAMIENTO DE TEJIDO PARA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (MET).</b>	34
6.	<b>MATERIALES</b>	34
6.1.	<b>EQUIPO.</b>	34

<b>6.2. REACTIVOS.</b>	35
<b>X. RESULTADOS.</b>	36
<b>1. MACROSCÓPICOS.</b>	36
1.1. GRUPO CONTROL.	36
1.2. GRUPOS EXPERIMENTALES.	36
<b>2. MICROSCOPIA FOTÓNICA.</b>	37
2.1. GRUPO CONTROL.	37
2.1.1. Órgano del esmalte.	39
2.2. GRUPO EXPERIMENTAL 5%.	42
2.3. GRUPO EXPERIMENTAL 10%.	44
2.4. GRUPO EXPERIMENTAL 15%.	46
<b>3. RESULTADOS DE MICROSCOPIA     ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (MET).</b>	49
<b>3.1. AMELOBLASTO PRESECRETOR.</b>	50
3.1.1. Grupo control.	50
3.1.2. Grupo experimental de 5%.	54
3.1.3. Grupo experimental de 10%.	54
3.1.4. Grupo experimental de 15%.	59
<b>3.2. NÚCLEO.</b>	61
3.2.1. Grupo control.	61
3.2.2. Grupo experimental 5%.	63
3.2.3. Grupo experimental 10%.	65

3.2.4.	Grupo experimental 15%.	65
<b>3.3.</b>	<b>RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO.</b>	68
3.3.1.	Grupo control.	68
3.3.2.	Grupo experimental 5%.	70
3.3.3.	Grupo experimental 10%.	70
3.3.4.	Grupo experimental 15%.	73
<b>3.4.</b>	<b>APARATO DE GOLGI.</b>	75
3.4.1.	Grupo control.	75
3.4.2.	Grupo experimental 5%.	77
3.4.3.	Grupo experimental 10%.	77
3.4.4.	Grupo experimental 15%.	77
<b>3.5.</b>	<b>VESÍCULAS.</b>	81
3.5.1.	Grupo control.	81
3.5.2.	Grupo experimental 5%	81
3.5.3.	Grupo experimental 10%.	84
3.5.4.	Grupo experimental 15%.	84
<b>3.6.</b>	<b>MITOCONDRIAS.</b>	87
3.6.1.	Grupo control.	87
3.6.2.	Grupo experimental 5%.	87
3.6.3.	Grupo experimental 10%.	88
3.6.4.	Grupo experimental 15%.	88
<b>XI.</b>	<b>DISCUSIÓN.</b>	94

<b>XII. CONCLUSIONES.</b>	99
<b>XIII. ABREVIACIONES PARA MF y MET.</b>	101
<b>XIV. BIBLIOGRAFÍA.</b>	102

## **I. RESUMEN.**

### **ESTUDIO ESTRUCTURAL Y ULTRAESTRUCTURAL DEL EPITELIO INTERNO EN EL GERMEN DENTAL DE RATAS EXPUESTAS A ETILÉN GLICOL Y METIL CELOSOLVE.**

El etilén glicol (EG) y el metil celosolve (MC) son compuestos orgánicos derivados de los glicoles, los cuales son utilizados en la industria para la formación de diversos productos como: anticongelante, colorantes, resinas, insecticidas, pilas eléctricas y productos farmacéuticos. El objetivo de este trabajo fue analizar los daños en el epitelio interno del germen dental, ocasionados por EG y MC, en el área intercuspídea con microscopía óptica (MO) y microscopía electrónica de transmisión (MET). Se utilizaron 20 ratas cepa *Wistar*, divididas en: un grupo control, al que se le administró agua y comida *ad libitum*; y tres grupos experimentales, donde se dosificó diariamente 0.5 mL de la mezcla por vía oral a tres diferentes concentraciones (5%, 10% y 15%) en una relación 1:1 respectivamente a partir del primer día de gestación hasta los 19 días. Al finalizar este periodo, se realizó cesárea a las madres para la obtención de los fetos con la disección de los gérmenes dentales, los cuales se procesaron para MO (H&E y Masson) y para MET (técnica convencional). Los resultados de MO indican un retraso en el proceso de diferenciación de la capa ameloblástica y falta de producción de matriz extracelular; estos daños fueron más evidentes conforme las concentraciones aumentaron. En el grupo del 15% no hay una diferenciación del epitelio interno y el epitelio externo, conformándose una sola capa epitelial, indicando falta de diferenciación celular y necrosis. Por MET se observó la dilatación de la envoltura nuclear con algunas invaginaciones, el núcleo tendió a ser amorfo perdiendo una conformación circular o semicircular y perdió su excentricidad, el retículo endoplasmático rugoso se encontró disminuido en el número de cisternas, por el contrario el retículo endoplasmático liso fue abundante; las mitocondrias se encontraron dilatadas con pérdida de crestas mitocondriales. En el grupo del 15% fue innegable el aumento de ribosomas en el citosol. Los hallazgos sugieren que la ingesta oral de éstos solventes retarda el proceso de diferenciación celular de los tejidos dentales (epitelio interno) por lo que hay menor producción de matriz extracelular. Los organelos celulares se encuentran alterados y mal diferenciados de forma directamente proporcional a las concentraciones administradas.

## **ABSTRACT.**

### **STRUCTURAL AND ULTRAESTRUCTURAL STUDY OF INTERNAL EPITHELIUM IN DENTAL GERM OF RATS EXPOSED TO ETHYLENE GLYCOL AND METHYL CELLOSOLVE.**

Ethylene glycol (EG) and methyl cellosolve (MC) are organic compounds derived from the glycols, which are used in the industry for manufacturing diverse products: antifreeze, colorants, resins, insecticides, electrical batteries and pharmaceutical products. The aim of this work was to analyze the results induced by the administration of EG and MC over the internal epithelium of the dental germ, with optical microscopy (OM) and transmission electronic microscopy (TEM) in the intercuspatal area. 20 Wistar rats were used and divided in a control group, to which we administered with tap water and food *ad libitum*; and three experimental groups, where 0,5 milliliters of the mixture (EG and MC) was dispensed orally at three different concentrations (5%, 10% and 15%) in a 1:1 rate respectively from the first day of gestation to the 19<sup>th</sup> gestation day. At the end of this period, a cesarean was made to the mothers to obtain the fetuses and then were dissections made to isolate the dental germs, which were processed to obtain 5µm thick, paraffin embedded H&E and Masson stained slides. For TEM the tissues were post-fixed in a mixture of glutaraldehyde and paraformaldehyde. OM results indicate a delay in the differentiation process of the ameloblastic layer and a lack of production of extracellular matrix proteins; these damages were more severe as the concentrations increased. In the group of 15% there was no differentiation since the internal and external epithelia formed a single epithelial layer, indicating an ill cellular-differentiation process with necrosis. By TEM the expansion of the nuclear envelope with some invaginations was observed, the nuclei tended to be amorphous with loss of polarization, the number of cisterns of the rough endoplasmic reticulum was found reduced, as opposing to the smooth endoplasmic reticulum which was seen abundant; mitochondria showed expanded and less mitochondrial crests. In the group of 15% the increase of ribosome number in the cytoplasm was marked. These findings suggest that oral ingestion of EG and MC inhibit the cellular differentiation process of the analyzed dental tissue and justify the lesser capacity of ameloblasts to produce extracellular matrix. The cellular organelles are severely altered in direct proportion to the concentrations administered.

## II. INTRODUCCIÓN.

Para que el ser humano realice sus actividades cotidianas deberá tener un estado de salud adecuado, las condiciones ambientales a las cuales estamos sometidos día con día han ido cambiando conforme la tecnología avanza; al mismo tiempo las industrias utilizan gran cantidad de materia prima, sustancias y solventes para fabricar sus productos. Como se sabe, la industrialización ha traído consigo beneficios y perjuicios. La utilización de solventes como conservadores o en el procesamiento de ciertos productos de uso común, ha causado serios problemas de salud en algunos sectores de la población. Los daños causados son variados, pueden presentarse con mínima magnitud, en los que es imperceptible la alteración, y por lo tanto no ser diagnosticado y/o atribuirse a otro factor por lo cual la persona podrá continuar con sus actividades cotidianas; pero también puede manifestarse con un daño severo que incapacite al individuo e incluso le cause la muerte. Un sector de nuestra población altamente susceptible, totalmente indefenso e incapaz de manifestar y anunciar una agresión sobre su integridad es el producto humano intrauterino. El embrión trilaminado que se logra implantar en el útero es considerado como el producto intrauterino, al ir pasando por diferentes periodos biológicos de desarrollo y si las condiciones en las cuales se encuentra son las favorables, entonces las posibilidades de que este producto se convierta en un recién nacido viable y sano son muchas. Pero si, el ambiente en el cual se está desarrollando es alterado por algún agente agresor; los daños que se presentan pueden llegar a ser fatales y por consiguiente afectar a la sociedad.

El síndrome de los éteres del glicol se conoce desde el inicio de los años del 90 y fue bien definido por la Dra. Saavedra, por lo que es conocido como síndrome de Saavedra. Es una intoxicación producida por etilén glicol (EG) y metil celosolve (MC) durante el periodo de gestación, los efectos se manifiestan en los productos

con un fenotipo determinado y en ocasiones pueden variar en su expresión clínica.

Entre las alteraciones que se han reportado está la microdoncia y la agenesia dental entre otras, por lo que el presente estudio pretende explicar de forma estructural y ultraestructural los daños celulares que se presentan en el germen dental en un periodo determinado del desarrollo del epitelio interno utilizando un modelo experimental (ratas Wistar).

### III. ANTECEDENTES.

No existe mucha información sobre la toxicidad que genera el *etilén glicol* y el *metil celosolve* sobre el organismo humano; sin embargo, hay algunos reportes de sus efectos nocivos, tanto en humanos como en animales de experimentación.

Fue descrito un síndrome producido por la intoxicación del EG y MC asociado a malformaciones cráneo-maxilares, neurológicas, y daño en diferentes órganos vitales. Algunos artículos describen estas lesiones características.

Estudios experimentales realizados por la Dra. Saavedra y su grupo de colaboradores, mostraron las manifestaciones clínicas tanto en humanos como en ratas; ellos describieron las características fenotípicas desarrolladas en el humano identificándolo como Síndrome de éteres del glicol o Síndrome de Saavedra. En el estudio clínico se definieron las alteraciones “faciales, oculares, otorrinolaringológicas, y músculo-esqueléticas, entre otras” <sup>(1)</sup>. Estudios experimentales realizados en ratas reportaron “malformaciones en fetos ocasionadas por los solventes orgánicos metil celosolve y etilén glicol como: acortamiento de extremidades, edema, agenesia de cola, reducción de extremidades posteriores e implantación caudal de extremidades anteriores” <sup>(1,2)</sup>. Posteriormente en otro estudio se establecieron características de daño en la región maxilofacial, desarrollo maxilar y mandibular retrasada, falsa macroglosia, hipertelorismo, retraso en el desarrollo óseo con acortamiento de extremidades inferiores y desarrollo desarmónico de las estructuras faciales <sup>(3)</sup>, y de forma sistémica se encontró falta de cierre del tubo neural en su porción cefálica <sup>(1)</sup>, falta de pared abdominal <sup>(4)</sup>, glomerulonefritis tipo II y cirrosis hepática <sup>(5,4)</sup>. En otro estudio se revisó y se comparó el síndrome de los éteres del glicol con el síndrome del feto alcoholizado y se encontraron algunas características comunes entre ambos, pero también se identificaron diferencias que solo se presentan en el Síndrome de éteres del glicol como malformaciones bucales y dentales <sup>(6,7)</sup>. Al inicio de las pruebas experimentales con ratas cepa Wistar, las dosis de etilén glicol y metil celosolve fueron administradas por vía oral (VO) e intraperitoneal

(VIP) en relación 1:1 al 5, 10 y 20% de concentración a las madres gestantes durante 19 días, a este primer grupo de estudio se les tomó medidas de las estructuras faciales de los fetos vivos obtenidos de los 3 grupos experimentales por VO y se compararon con el grupo control donde presentaron diferencias estadísticamente significativas, en tanto que los grupos experimentales por VIP no pudieron ser comparados debido a la ausencia de fetos vivos. En ese estudio se tomaron medidas de 8 distancias morfométricas lo que permitió determinar la gravedad de las alteraciones en el desarrollo de los huesos que conforman la cabeza de un feto de rata producidas por el EG y el MC <sup>(3)</sup>. Se han resaltado las características clínicas del síndrome de éteres del glicol, haciendo inferencia en algunos casos desarrollados en el mundo por intoxicación a causa de los solventes de éteres del glicol <sup>(5,4)</sup>. Los hallazgos microscópicos en tejidos y órganos señalan daños de forma irreversible en hígado, riñones, músculo, sistema nervioso y óseo <sup>(2)</sup>. A nivel de cavidad bucal se han encontrado alteraciones en el desarrollo dental y las fotomicrografías de un primer molar inferior en un grupo control de 19 días de gestación, muestran que el “germen dental estaba en etapa de campana, el asa cervical presentó de 2-3 mitosis en campo de 40x, polaridad nuclear de las células del epitelio interno, con inicio del proceso de diferenciación del ameloblasto y secreción de la matriz extracelular hacia la unión amelo-dentinaria” <sup>(4)</sup>. Para el grupo experimental de 5% VO: “mínimas alteraciones con aparente disminución en el número celular, regular vascularidad, unión amelodentinaria adelgazada y poco definida, un ligero retraso de desarrollo del ameloblasto, presencia de 3 mitosis por campo de 40x, sin secreción de matriz extracelular y formación de la vaina epitelial de Hertwing”. Para el grupo de 10% VO se reportó “un germen dental en estadio de campana, con ameloblastos poco diferenciados, los odontoblastos no lo estaban, con ausencia de matriz, buena vascularidad y dos mitosis por campo (40x), en general hubo variación en la morfología del órgano del esmalte” <sup>(4)</sup>. Y para el grupo de 20 vía oral se reportó que “ el órgano del esmalte se presentó de 0-3 mitosis a 40x con retraso en la diferenciación celular, núcleos parcialmente polarizados,

pleomorfismo celular, en la papila dental presentaban imágenes de células mesenquimatosas indiferenciadas<sup>(4)</sup>, se pudieron describir tres gérmenes dentales uno en estado de campana tardía con un germen dental amorfo y alterado por los solventes, y dos gérmenes dentales en estadio de casquete, donde no se logra diferenciar el epitelio interno del epitelio externo. Fuera de los resultados microscópicos se logró establecer una asociación causa-efecto a diferentes concentraciones como producto del daño tisular engendrado por los éteres del glicol.

## IV. MARCO TEÓRICO

### A. SOLVENTES ORGÁNICOS.

#### 1. GLICOLES

Los glicoles son compuestos con alta solubilidad conferida por la presencia de grupos hidroxilo (-OH), éter (C-O-C), y alquilo ( $C_nH_{2n-2}$ ).<sup>(8,9)</sup>

El *etilén glicol* (EG) y el *metil celosolve* (MC) son solventes orgánicos y de gran importancia dentro de los grupos funcionales de los éteres del glicol. Los glicoles de interés comercial son compuestos alifáticos que poseen dos grupos hidroxilo por molécula. Son líquidos viscosos, incoloros y prácticamente inodoros.<sup>(8)</sup>

Los éteres de los glicoles y sus derivados son líquidos inflamables. Sin embargo, sus puntos de ignición están por encima de la temperatura ambiente normal y sus vapores alcanzan concentraciones situadas dentro del rango inflamable o explosivo sólo cuando se calientan (por ejemplo en hornos).<sup>(8,10)</sup>

##### 1.1. ETILÉN GLICOL

El EG generalmente se encuentra con un 99% de pureza, el 1% de impureza está constituido por formaldehído, óxido de etileno y 1-4 dioxano.<sup>(8,10)</sup>

El etilén glicol se elabora por alguna de las siguientes rutas:

- a) Oxidación del etileno a óxido de etileno, después de una hidratación.
- b) Acetoxidación: El producto del ácido acético con el etileno catalizado con bromuro de telurio forman una mezcla de monohidratos y dihidratos que hidrolizados forman al EG y ácido acético.
- c) Del monóxido de carbono y del hidrógeno derivado de una gasificación.
- d) Procesos oxirano: con la oxidación catalítica de etileno a diacetato seguida por hidratación a EG.<sup>(8)</sup>

### 1.1.1. Sinónimos.

El etilén glicol también es conocido como: 1,2,-dihidroxietanol, 1,2-hetanediol, EG, etane-1,2-diol, glicol, Fridex, alcohol glicol, lutrol-9, macrogol 400 bpc, MEG, monoetilenglicol, norkool, tescol, ucar <sup>(8)</sup>. Athylenglykol (German), ethylene alcohol, ethylene dihydrate, ethylene glycol (ACGIH), M.E.G., glycol alcohol, NCI-C00920, dowtherm SR1, Ucar 17. <sup>(11)</sup>

### 1.1.2. Fórmula química de EG:



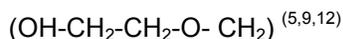
## 1.2. METIL CELOSOLVE

El MC se encuentra generalmente con un 99% de pureza y aproximadamente 1% de agua. Se obtiene a partir del óxido de etilo. <sup>(11)</sup>

### 1.2.1. Sinónimos.

2- metoxietanol, metilcellosolve, etilén glicol metil celosolve, etilén glicol monometil éter, dowanol 7, dowanol EM, éter monometílico de 1' etilén glicol, glicol éter EM, Glicol metil éter, Glicol monometil éter, Jeffersol EM, 2 metoxietanol, metoxietanol, metoxihidroxietanol, metilselosolv, metil etoxol, metil metil cilosolve, methosxyetylowy alcohol, 2-metoxietanol, monometil éter de etilen glicol, Poly-Solv EM. <sup>(11)</sup>

### 1.2.2. Fórmula química del MC:



## 2. PROPIEDADES FISICO-QUÍMICAS DEL EG Y EL MC.

En la industria se preparan los solventes orgánicos de forma conjunta para darle aplicación variada, los dos tienen diferencias químicas y en conjunto obtienen propiedades importantes (Tabla 1).

**TABLA 1. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL ETILÉN GLICOL Y EL METIL CELOSOLVE.**

PROPIEDADES	ETILÉN GLICOL	METIL CELOSOLVE
PRESIÓN DE VAPOR	0.092 mmHg a 25°C	6.17 mmHg a 20°C
PUNTO DE CONGELACIÓN	-13°C	-86 °C
PUNTO DE EBULLICIÓN	197.6°C a 760mmHg	124.0-125.0 °C a 760mmHg
REACTIVIDAD	Reactivo con acidos, bases y materiales oxidados.	Materiales altamente oxidantes.
PESO MOELCULAR	62.07 AMU	76.1 AMU
Ph	N D	5.0-7.0 a 25°C
DENSIDAD	1.113 g/cm <sup>3</sup>	0.964 g/cm <sup>3</sup>
UMBRAL DE OLOR	N D	2.3 ppm
LÍMITES DE EXPLOSIÓN	3.2%-15.3%	2.5%-24.5%
TEMPERATURA DE AUTOIGNICIÓN	400°C	287°c
INDICE DE REFARCCIÓN	1.431	1.402

Tomada de hoja de datos de seguridad Sigma Aldrich <sup>(9,11,12,13)</sup>.

### 3. USOS.

Muchas de las aplicaciones industriales de los glicoles y los gliceroles se basan en su propiedad de ser solventes orgánicos completamente hidrosolubles. Estos compuestos se utilizan como solventes de colorantes, pinturas, resinas, tintas, insecticidas y productos farmacéuticos. Además, los dos grupos hidroxilo químicamente reactivos hacen de los glicoles intermediarios químicamente importantes. Entre los muchos usos de los glicoles y poliglicoles, los más importantes son la disminución del punto de congelación, la lubricación y la solubilización. Los glicoles se emplean también como aditivos alimentarios directos o indirectos y como ingredientes en la preparación de explosivos, resinas alquídicas y cosméticos. <sup>(8,14)</sup>

El *EG* se emplea como anticongelante en sistemas de refrigeración y calefacción, como solvente en las industrias de pinturas y plásticos y como ingrediente de los líquidos descongelantes utilizados en las pistas de los aeropuertos. Se utilizan en

líquidos hidráulicos para frenos, la dinamita de bajo punto de congelación, tintes para madera, adhesivos, tintes para el cuero y el tabaco. También sirve como deshidratante del gas natural, como solvente de tintas y pesticidas y como ingrediente de condensadores electrolíticos. <sup>(14,15)</sup>

#### 4. RIESGOS DE LOS GLICOLES.

***Etilén glicol y Metil Celosolve.*** La toxicidad bucal del EG y el MC es más baja en animales que en el ser humano. Sin embargo, basándose en la experiencia clínica se ha estimado que la dosis letal para el ser humano adulto es de unos 100 cm<sup>3</sup> o alrededor de 1,6 g/kg, lo que indicaría que su potencia tóxica es mayor en el hombre que en los animales de laboratorio <sup>(10,14)</sup>. Esta toxicidad se debe a los metabolitos que se producen y, que varían según las diferentes especies. Los efectos típicos de la ingesta oral excesiva de EG son narcosis, depresión del centro respiratorio y afectación renal progresiva. Se han mantenido monos durante 3 años con dietas que contenían entre un 0,2 y un 0,5% de EG, sin que aparecieran efectos nocivos; en la vejiga de estos animales no se encontraron tumores, pero sí cristales de oxalato y litiasis. El EG generalmente produce una leve irritación de los ojos y la piel, pero en cantidades tóxicas, puede absorberse a través de la piel. Sin embargo, la exposición de ratas y ratones durante 8 horas al día, a lo largo de 16 semanas a concentraciones de entre 0,35 y 3,49 mg/L, no provocó lesiones orgánicas. En condiciones industriales razonables, ni la inhalación de vapores de EG a temperatura ambiente, ni el contacto bucal o cutáneo parecen tener un riesgo marcado. No obstante, la inhalación de EG calentado o vigorosamente agitado (con formación de vapor), el contacto cutáneo importante o la ingestión durante períodos prolongados, podrían generar riesgos profesionales. El principal riesgo del EG y MC para la salud está relacionado con la ingestión de grandes cantidades de este producto. <sup>(8,16)</sup>

En su combustión libera gases tóxicos. Reacciona con oxidantes fuertes y bases fuertes.

## **5. EXPOSICIÓN A LA POBLACIÓN HUMANA CON EG Y MC.**

La población humana puede estar expuesta al EG y MC en un contacto directo con la piel, al inhalar gases y por la ingestión accidental o intencional de sus diferentes productos como pueden ser anticongelantes, líquido de frenos y colorantes. Aun que el consumo en alimentos del EG y MC es poco probable se han reportado intoxicaciones en este sentido debido a que el material con el que se encuentran empacados los alimentos tienen algún compuesto a base de EG o MC. La población económicamente activa es con más frecuencia la que puede sufrir intoxicación por EG y MC debido al tipo de actividad que desempeña. Es así, que los obreros que manipulan líquidos, solventes y gases entre otros; que contengan EG y/o MC, van a ser los principales afectados por la intoxicación de estas sustancias. La exposición puede ser a nivel dérmico, pulmonar o por ingestión accidental. <sup>(8,16-24)</sup>

## **B. ODONTOGÉNESIS.**

La odontogénesis es el estudio del desarrollo embrionario de los brotes epiteliales del ectodermo al ectomesenquima en la cavidad bucal primitiva y durante la vida intrauterina, y tiene la finalidad de formar al diente. El ectodermo da origen al esmalte, mientras que el ectomesénquima forma la pulpa dental, dentina, cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar. En el desarrollo de los órganos dentarios humanos existen dos tipos de dientes: dientes primarios o deciduos y los permanentes o definitivos <sup>(25-27)</sup>.

Las células del ectomesénquima o mesénquima cefálico, se derivan de la cresta neural, el ectomesénquima que es el inductor de la odontogénesis sobre el epitelio bucal que reviste al estomodeo (cavidad bucal primitiva) <sup>(28)</sup>.

### **1. ETAPAS DE LA ODONTOGÉNESIS**

La odontogénesis atraviesa por dos fases importantes en el desarrollo dental que son:

**1.1. MORFOGÉNESIS (MORFODIFERENCIACIÓN).** Esta fase se caracteriza por el desarrollo y formación de los patrones coronarios; producido por la división, desplazamiento y organización de las células epiteliales y mesenquimatosas.

**1.2. HISTOGÉNESIS (CITODIFERENCIACIÓN).** Formación y diferenciación de los tejidos dentales (esmalte, dentina, tejido pulpar y cemento) <sup>(27-29)</sup>.

### **2. DESARROLLO Y FORMACIÓN DEL PATRÓN CORONARIO.**

La primera manifestación comienza en la sexta semana de vida intrauterina en el humano y consiste en la diferenciación de la **lámina dental** o listón dentario, constituido por una capa superficial de células aplanadas y otra basal de células altas. Las células basales proliferan en el borde libre de los futuros maxilares, dando origen a las láminas vestibular y dentaria.

**2.1. LÁMINA VESTIBULAR.** Sus células proliferan dentro del ectomesénquima, se agrandan rápidamente, degeneran y forman una hendidura que constituye el surco vestibular entre el carrillo y la zona dentaria.

**2.2. LÁMINA DENTARIA.** Se desarrolla en la sexta semana de vida intrauterina, en la octava semana de vida intrauterina se forman diez crecimientos epiteliales dentro del ectomesénquima de cada maxilar, correspondientes a los 20 dientes deciduos. De esta lámina, también se originan los 32 gérmenes de la dentición permanente alrededor del quinto mes de gestación en el humano <sup>(27,28)</sup>.

### **3. ESTADIOS DE LA ODONTOGÉNESIS**

La odontogénesis se divide en tres etapas o estadios, los cuales a su vez se subdividen en dos periodos que son tempranos (iniciales) o tardíos (avanzados) (Tabla 2); las etapas son: yema o brote, casquete y campana <sup>(26, 27, 28, 30-34)</sup>.

**3.1. ESTADIO DE BROTE (BOTÓN) O YEMA DENTARIA.** Aparecen diez yemas o brotes, son engrosamientos de aspecto redondeado que surgen de la división mitótica de algunas células del epitelio. Éstos formarán los futuros órganos del esmalte que darán lugar al único tejido de naturaleza ectodérmica del diente, el esmalte. La estructura de los brotes es simple, en la periferia se identifican células cilíndricas y en el interior son de aspecto poligonal <sup>(27,28)</sup>.

**3.2. ESTADIO DE CASQUETE.** Alrededor de la novena semana se forma una concavidad en la cara profunda del brote, adquiriendo aspecto de casquete. Su concavidad central encierra una pequeña porción del ectomesénquima que lo rodea; es la futura papila dentaria, que dará origen al complejo dentino-pulpar. Las células mesenquimatosas de la papila dentaria son grandes, de citoplasma moderadamente basófilo y núcleos voluminosos. Existe abundante sustancia fundamental, rica en glucosaminoglucanos, que ofrece un carácter metacromático con azul de toluidina. La papila se encuentra separada del epitelio interno del

órgano del esmalte por una membrana basal, que representa la localización de la futura conexión amelodentinaria.

**3.2.1. Componentes del órgano del esmalte.** Durante este estadio histológicamente, se distinguen, las siguientes estructuras:

**3.2.1.1. Epitelio externo.** Constituido por una capa de células cuboidales, unidas a la lámina dental por el pedículo epitelial.

**3.2.1.2. Epitelio interno.** Formado por epitelio simple de células cúbicas, estas células aumentan en altura en tanto se diferencian en ameloblastos, de ahí que suele denominarse epitelio interno, preameloblástico o epitelio dental interno.

**3.2.1.3. Retículo estrellado.** Se encuentra delimitado por el epitelio interno y el externo, esta capa se constituye por células de aspecto estrellado cuyas prolongaciones se anastomosan dando el aspecto de red o retículo <sup>(27,28)</sup>.

**3.2.2. Folículo dental.** El tejido mesenquimático que se encuentra por fuera del casquete, rodeándolo casi en su totalidad, se condensa volviéndose fibrilar y forma el folículo dental o saco dentario primitivo. El órgano del esmalte, la papila y el saco constituyen en conjunto el germen dental <sup>(27, 28, 35)</sup>.

Finalizando el estadio de casquete, se forma un cúmulo de células (nudo del esmalte) de donde parte una prolongación celular llamada cuerda del esmalte, que termina en una muesca en el epitelio externo, conocida como el ombligo del esmalte. El nudo del esmalte está relacionado con el desarrollo morfológico del área cuspídea de la corona produciendo factores como el Lef1, Pax9, Barx1; también se transcriben los genes Msx-1 y Msx-2, este último induce la producción

de proteínas morfogénicas óseas (BMP), factor de crecimiento fibroblástico (FGF) y proteína Hedgehog (Shh) que intervienen en la relación epitelio-mesénquima <sup>(27, 28, 32)</sup>.

**3.3. ESTADIO DE CAMPANA.** Entre las catorce y dieciocho semanas de vida intrauterina, se acentúa la invaginación del epitelio interno adquiriendo el aspecto típico de una campana. Al inicio, surge una capa más: el estrato intermedio, situada entre el retículo estrellado y el epitelio interno. Entonces, el órgano del esmalte se constituye de la siguiente manera:

**3.3.1. Epitelio externo.** Las células cúbicas cambian para formar un epitelio plano simple, éste presenta pliegues debido a invaginaciones o brotes vasculares provenientes del saco dentario que aseguran la nutrición del órgano del esmalte, que es avascular.

**3.3.2. Retículo estrellado.** Se presenta incremento de líquido intercelular que aumenta su espesor y posteriormente, se reduce a nivel de las cúspides o bordes incisales.

**3.3.3. Estrato intermedio.** Capas de células planas con núcleo central, alargados en las futuras cúspides o bordes celulares. El estrato intermedio participa indirectamente en la amelogénesis, cada célula, al parecer, está relacionada con seis ameloblastos a través de desmosomas. Al comenzar la aposición de los tejidos duros dentarios (dentina, esmalte), este estrato se vincula estrechamente con los vasos sanguíneos provenientes del saco dentario, asegurando no sólo la vitalidad de los ameloblastos, sino controlando el paso del aporte de calcio, del medio extracelular al esmalte en formación <sup>(36)</sup>.

**3.3.4. Epitelio interno.** Las células del epitelio interno o preameloblastos se diferencian en ameloblastos jóvenes, son células cúbicas y sus organelos no se presentan aún en esta fase en una orientación definida <sup>(31)</sup>.

En este período de campana se determina, la morfología de la corona por acción o señales específicas del ectomesénquima adyacente o papila dental sobre el epitelio interno del órgano dental, antes de comenzar la aposición y mineralización de los tejidos dentales <sup>(37)</sup>. Los ameloblastos jóvenes influyen en la papila dentaria, iniciando la diferenciación de las células superficiales ectomesenquimáticas en odontoblastos, que comenzarán a sintetizar matriz dentinaria.

Cuando el estadio de campana es avanzado, los ameloblastos jóvenes cambian, migrando el núcleo que se encontraba en el centro a la región más próxima al estrato intermedio. Al final del estadio, se habrá completado la citodiferenciación, en ameloblastos secretores o maduros <sup>(27,28)</sup> (Tabla 2).

#### **4. AMELOBLASTO.**

Los ameloblastos son células cilíndricas de aproximadamente 60µm de altura y de 4 a 5 µm de ancho; se caracterizan, por presentar una prolongación cónica llamada proceso de Tomes que contiene en su interior el citoesqueleto, mitocondrias, retículo endoplásmico rugoso y cuerpos ameloblásticos o estructuras electrodensas al microscopio electrónico <sup>(28,31)</sup>. Los ameloblastos sintetizan la matriz del esmalte cuando se han formado las primeras capas de dentina calcificada. Ya formado el patrón coronario e iniciado el proceso de histogénesis dental, comienza el desarrollo y la formación del patrón radicular. En la formación de la raíz, la vaina epitelial de Hertwig desempeña un papel fundamental. La vaina epitelial es una estructura que resulta de la fusión del epitelio interno y externo del órgano del esmalte. <sup>(27, 28, 31)</sup>.

**TABLA 2. CAMBIOS ESTRUCTURALES DEL ESTADIO DE CAMPANA**

ÓRGANO DEL ESMALTE (4 CAPAS)	PAPILA DENTARIA	SACO DENTARIO (2 CAPAS)
<b>FASE INICIAL</b>		
a) Epitelio externo b) Retículo estrellado c) <b>Estrato intermedio:</b> células planas d) <b>Epitelio interno</b> o <b>preameloblastos</b>	Sin diferenciación odontoblástica	Celulovascular Fibrilar
<b>FASE AVANZADA</b>		
a) <b>Epitelio externo:</b> discontinuo por invasión de capilares del saco. b) <b>Retículo estrellado:</b> más abundantes partes laterales. c) <b>Estrato intermedio:</b> mayor número de capas zona cúspides o borde incisal d) <b>Ameloblastos jóvenes:</b> células cilíndricas con organelos no polarizados.	<b>Diferenciación odontoblástica</b> Periferia papila  <b>PREDETINA</b> (sin mineralizar)  <b>DENTINA</b>	Dos capas mejor manifiestas

Tomado de (Gómez et al, Nanci et al) <sup>(27,28)</sup>.

## **C. ESMALTE.**

El esmalte es la secreción producida por los ameloblastos, nombrado equivocadamente como tejido adamantino y mejor llamado como sustancia adamantina. Tiene componentes orgánicos (0.26%-2%) e inorgánicos (95% que son cristales de hidroxiapatita). Es un componente del diente que recubre la porción coronal dental y es la entidad anatómica más dura de todo el cuerpo humano (dureza de 5 en la escala de Mohs). En la literatura se denomina erróneamente como tejido, desde un punto de vista estricto, no es un tejido por que no tiene componente celular, como se menciona al inicio, es una secreción producida por células especializadas con una carga de organelos celulares determinada para la realización de esta sustancia <sup>(28)</sup>.

### **1. BIOLOGÍA DEL DESARROLLO DEL ESMALTE.**

**1.1. AMELOGÉNESIS.** La amelogénesis está definida por los mecanismos en los cuales se forma el esmalte, produciéndose una matriz extracelular orgánica y su mineralización pasando por la nucleación y la elongación de los cristales; por lo tanto, al iniciar la nucleación se presenta una remoción de la matriz orgánica que es sustituida por el crecimiento y maduración de los cristales <sup>(32, 33, 36)</sup>. Los ameloblastos derivan de la proliferación del ectodermo en el epitelio bucal; las células del epitelio interno del órgano del esmalte son predecesoras de los ameloblastos. Los odontoblastos son células contiguas a los ameloblastos en dirección a la papila dental; durante los primeros periodos del desarrollo de los ameloblastos estas dos células están separadas por la membrana basal constituida por laminina, entactina, colágena tipo I y colágena VI pero predominando la colágena IV <sup>(28)</sup>, heparan sulfato y fibronectina <sup>(27)</sup>. Mientras que la otra relación estructural de los ameloblastos es con las células del estrato intermedio correspondientes con las células del retículo estrellado. El principal inductor para que un ameloblasto inicie su actividad excretora es la presencia de

pre dentina o dentina producida por los odontoblastos, el proceso inicia en las cúspides de todos los dientes, por lo anterior, todos los dientes al final de su desarrollo tienen ameloblastos en diferentes niveles de diferenciación <sup>(28, 30, 38, 39)</sup>. En la zona cervical del diente, las células del epitelio interno van a iniciar su diferenciación a preameloblastos, mientras que las células que se encuentran en las áreas incisales o cuspidéas de todos los dientes van a estar totalmente diferenciadas en ameloblastos maduros e incluso pudiendo ser ameloblastos en involución <sup>(27, 28, 31)</sup>.

**1.2. CICLO DE VIDA DEL AMELOBLASTO.** Las etapas o periodos del ciclo del ameloblasto son:

**1.2.1. Etapa morfogénica (preameloblasto).** Son células cúbicas con núcleos ovalados voluminosos, ubicados en la región central, que ocupa casi por completo el cuerpo celular. El aparato de Golgi y los centriolos están localizados en el extremo distal de la célula y adyacentes al estrato intermedio, las mitocondrias se distribuyen uniformemente por todo el citoplasma. En el extremo distal existen sistemas de uniones intercelulares. El epitelio interno del órgano del esmalte está separado del tejido conjuntivo de la papila dentaria por la lámina basal, que contiene laminina, entactina, colágenas tipos I, IV y VI, heparán sulfato y fibronectina. La capa superficial del tejido pulpar adyacente presenta una zona acelular, clara y angosta. Los preameloblastos presentan abundantes prolongaciones citoplasmáticas, que se extienden desde la superficie proximal hasta la matriz intercelular donde penetran, entrando en contacto con el ectomesénquima de la papila. Estos preameloblastos contienen receptores Notch cuya actividad es indispensable para el desarrollo de las células embrionarias <sup>(40)</sup>, factor de crecimiento epidermal (EGF), factor de crecimiento fibroblástico (FGF) y factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y se inicia la expresión y la secreción de tuftelina, sialofosfoproteína dentinaria (DSP) y de ATPasa dependiente de Ca <sup>(27, 28, 36,38)</sup>.

**1.2.2. Etapa de organización (ameloblasto joven o presecretor).** Coincide con el periodo de campana, el epitelio interno induce, mediante TGF- $\beta$ , a las células mesenquimáticas del tejido conjuntivo adyacente a diferenciarse en odontoblastos. Las células se alargan, cambia la polaridad del núcleo, los organelos se dirigen hacia el extremo distal. El citoplasma muestra un cierto grado de desarrollo del RER y del complejo de Golgi, las mitocondrias se agrupan en la región distal, con numerosos microfilamentos y microtúbulos. Los ameloblastos se encuentran alineados estrechamente uno respecto del otro, por complejos de unión. Las uniones de la región proximal son de tipo macular (puntual) y semipermeables; las regiones distales son zonulares (rodea a toda la célula) y son impermeables, los tonofilamentos forman las barras terminales proximales y distales. Los desmosomas se distribuyen de forma proximal y distal. Al final del período de organización comienza la secreción de dentina en el odontoblasto y la nutrición de los ameloblastos se da por parte del saco dentario que rodea al órgano del esmalte donde penetran capilares hacia el estrato intermedio. Se inicia una intensa síntesis de proteínas del esmalte en la que participan una gran cantidad de vesículas intracelulares. En el ameloblasto joven con actividad mitótica puede detectarse la presencia de amelogenina, así como también receptores de EGF, FGF, PDGF e interleucina 7 (IL7) <sup>(27, 28, 36, 38)</sup>.

**1.2.3. Etapa formativa o de secreción.** El ameloblasto secretor es una célula diferenciada que no realiza mitosis. Son células cilíndricas o columnares, delgadas de unos 60  $\mu\text{m}$  de altura. Los sistemas de unión son semejantes a los preameloblastos presecretores, se presentan espacios entre los ameloblastos donde proyectan prolongaciones. El núcleo es intensamente basófilo, presenta cromatina laxa, con nucléolos evidentes, el núcleo está en el polo distal. Presenta abundantes mitocondrias cerca del núcleo y en la región proximal del citoplasma; el complejo de Golgi se encuentra constituido por varios dictiosomas que son sáculos aplanados rodeados de membrana y apilados

unos encima de otros en la zona central<sup>(41-43)</sup>; el RER está distribuido por toda la célula y más desarrollado en el polo proximal; los microfilamentos de tubulina,  $\alpha$ -actina, vinculina y prequeratinas se disponen a lo largo de la célula formando el citoesqueleto que con su integridad resulta necesaria para la diferenciación total y la secreción de las proteínas del esmalte. Las vesículas que se describen en el interior se denominan *cuerpos ameloblásticos* o *cuerpos adamantinos* que son formaciones de tipo granular, consideradas como precursores intracelulares de la matriz orgánica del esmalte; los cuerpos adamantinos están cercanos al aparato de Golgi del cual se originan; su morfología es ovoide y contienen material granular muy fino, rodeado por membrana, su contenido no se conoce con exactitud, pero se menciona que tiene sales cálcicas solubles y constituyentes propios del esmalte; estos gránulos ameloblásticos son secretados al polo basal y liberados junto a la dentina. La secreción de proteínas del esmalte y la aparición de cristales inorgánicos es simultánea. Conforme se deposita el esmalte aprismático, el ameloblasto migra desde la superficie de la dentina y desarrollan una proyección cónica denominada proceso de Tomes que es la estructura responsable de la producción de los prismas de esmalte. La presencia del proceso de Tomes supone la ruptura de la membrana basal, lisada por proteínas lisosómicas del ameloblasto y el odontoblasto. El citoplasma del proceso de Tomes contiene gránulos secretores (cuerpos ameloblásticos), pequeñas vesículas, mitocondrias y microfilamentos. El proceso de Tomes presenta receptores de: factor de crecimiento epidermal (EGF), factor de crecimiento fibroblástico (FGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), interleucinas (IL) como la IL-5<sup>(28)</sup>, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-12, hormona de crecimiento (GH), factor estimulante de colonias granulocíticas (G-CSF), interferon (INF)  $\alpha/\beta$  e INF $\gamma$ <sup>(27)</sup>; también se han presentado proteínas que interactúan con la tuftelina. Al parecer una célula del estrato intermedio está relacionada por desmosomas con seis ameloblastos, a los que coordinan en los desplazamientos que efectúan en el proceso de formación de los prismas

de esmalte. Algo importante es que los ameloblastos próximos a la cúspide son los primeros en alcanzar la máxima diferenciación secretora para sintetizar y segregar proteínas del esmalte.

**1.2.4. Etapa de maduración.** La maduración se da después de que se produce la mayor parte del espesor de la matriz del esmalte. Los ameloblastos reducen ligeramente su tamaño, aumentan su diámetro transversal y su complejo de Golgi y su RER disminuyen de volumen. Las mitocondrias se sitúan en el polo proximal y el número de lisosomas y autofagosomas, con un contenido semejante al de la matriz orgánica del esmalte, aumentan considerablemente. El proceso de Tomes desaparece y en el polo proximal surgen microvellosidades e invaginaciones tubulares semejantes a las del osteoclasto.

**1.2.5. Periodo de protección.** Cuando el esmalte se deposita y se ha mineralizado completamente, el ameloblasto entra en estado de regresión. Los ameloblastos ya no están en una capa definida y no pueden distinguirse de las células del estrato intermedio, en ocasiones se fusionan con el resto de las capas del órgano del esmalte. Los ameloblastos disminuyen de volumen y el complejo de Golgi vuelve a su posición inicial en el polo distal, junto a las células del estrato intermedio. Posteriormente constituyen el epitelio reducido del esmalte o epitelio dentario reducido que protegen al esmalte maduro, separándolo del tejido conectivo hasta la erupción dental. El último producto secretado por el ameloblasto es la cutícula primaria o membrana de Nasmyth <sup>(27)</sup>.

**1.2.6. Etapa desmolítica.** El epitelio reducido del esmalte prolifera e induce la atrofia del tejido conjuntivo que lo separa del epitelio bucal, de este modo pueden fusionarse ambos epitelios. Las células del epitelio

dentario elaboran enzimas que destruyen el tejido conjuntivo por desmólisis. Si se produce una degeneración prematura del epitelio reducido puede no presentarse la erupción <sup>(28, 31)</sup>.

## D. MODELOS EXPERIMENTALES PARA EL ESTUDIO DE LA ODONTOGÉNESIS.

Desde un punto de vista general, para los mamíferos (incluyendo al hombre) la boca es la primera parte del sistema digestivo y se considera como una unidad estructural bien definida con caracteres fijos y uniformes tales como los labios, dientes, lengua y glándulas salivales. Sin embargo, una amplia variedad de vertebrados muestran que las estructuras bucales también pueden variar considerablemente <sup>(27,28, 35)</sup>.

La morfogénesis dental de la rata, es un proceso que involucra eventos bioquímicos y fisiológicos relacionados con el ectodermo y el mesénquima. La histogénesis de patrones epiteliales y la expresión de la información genética durante la citodiferenciación. La odontogénesis de los dientes de rata al igual que la del ser humano se relacionan entre sí porque:

- Se estudian en tres etapas o estadios que son el de brote, casquete y campana.
- La habilidad del mesénquima dental para inducir la formación del órgano del esmalte y la papila dental para estimular el depósito de la matriz de la dentina, esta interacción tisular se presenta tanto en el germen dental de rata como en el humano.
- La papila dental compuesta por células del ectomesenquima no puede ser estimulada para desarrollar la matriz de la dentina, a menos que el órgano del esmalte esté presente.

Estas interacciones duales pueden considerarse como importantes modelos de estudio histogenético para comprender las fases del desarrollo dental en el humano <sup>(27, 30)</sup>. La odontogénesis de rata ofrece un modelo único para interpretar algunos procesos de desarrollo como son la estructura y ultraestructura, simetría,

organización espacial, interacciones secuenciales tisulares y la citodiferenciación específica. Aunque se han realizado muchas investigaciones con material humano, las limitaciones éticas para la obtención de muestras, restringen el estudio de las etapas del desarrollo dental. Por otro lado, los estudios realizados en animales han permitido conocer tanto los estadios tempranos como tardíos, siendo los roedores de laboratorio los modelos experimentales “*ideales*” para el estudio del desarrollo de los dientes, pese a que la edad del desarrollo dental en modelos experimentales no son comparables con la edad cronológica del desarrollo del humano, son un importante parámetro para su buena comprensión (Tabla 3).

**TABLA 3. CRONOLOGÍA DEL DESARROLLO DENTAL EN MURINOS (RATA).**

ETAPA	INCISIVOS	PRIMER MOLAR	SEGUNDO MOLAR	TERCER MOLAR
Inflexión primaria	11 DG	11 DG	15 DG	nacimiento
Etapa de Botón	12 DG	12 DG	16 DG	3 días de edad
Etapa de Casquete	13 DG	14 DG	17 DG	5 días de edad
Etapa de Campana	14 DG	15 DG	18 DG	--
Morfodiferenciación	16 DG	17 DG	nacimiento	--
Dentinogénesis	17 DG	2 días de edad	3 días de edad	--
Amelogénesis	18 DG	3 días de edad	4 días de edad	--
Calcificación	Nacimiento	3 días de edad	5 días de edad	--

Días de gestación (DG).

Tomado de: Ramos et al, Nanci et al y Gomez et al <sup>(27, 28, 30)</sup>.

Como hemos visto la relación que se presenta durante el desarrollo del diente humano y de rata tiene algunas situaciones en común lo que hace este roedor el modelo de estudio ideal para realizar múltiples investigaciones sobre el tema. Sin embargo, en la siguiente tabla se mencionarán algunas diferencias importantes entre el diente humano y el de rata (Tabla 4).

**TABLA 4. COMPARACIÓN ENTRE EL DIENTE DE HUMANO Y EL DE RATA.**

<b>DIFERENCIAS ENTRE LA DENTICIÓN DEL SER HUMANO Y LA RATA</b>	
<b>SER HUMANO</b>	<b>RATA</b>
2 denticiones: Temporal y Permanente	Monofiodonto
Cada cuadrante con: 2 incisivos 1 canino 2 premolares 3 molares	Cada cuadrante con: 1 incisivo 3 molares
Los incisivos permanentes se desarrollan, se calcifican y erupcionan solo una vez.	Los incisivos se desarrollan, se calcifican y erupcionan constantemente durante la vida del animal.

Recopilación de: Gómez et al, Nanci et al y Farris et al <sup>(27,28, 37)</sup>.

## **E. ADMINISTRACIÓN DE DOSIS ORALES.**

La vía de administración oral se clasifica dentro de las vías enterales <sup>(44)</sup>, y consiste en administrar la dosis de uno o más fármacos a un individuo a través de la cavidad bucal para su posterior deglución y absorción por el tubo gastrointestinal y su posterior ingreso al torrente sanguíneo, para la distribución en todos los tejidos que presenten irrigación sanguínea.

### **1. VENTAJAS DE LA ADMINISTRACIÓN ORAL DE DROGAS.**

- Es el método más común, rápido, seguro y económico de utilizar.
- Es muy fácil suministrar la dosis por que solo se coloca en la cavidad bucal y en el caso de las ratas se deben manipular con precaución para asegurarnos que el fármaco ha sido deglutido mientras se administra <sup>(44)</sup>.
- La dosis puede ser cuantificada durante el suministro.

### **2. DESVENTAJAS DE LA ADMINISTRACIÓN ORAL DE DROGAS.**

- Es preciso tener cuidado para manipular a las ratas mientras se administra la dosis, debido a que se puede perder un poco de la sustancia durante la administración, si lo anterior sucede, la dosis no podrá ser cuantificada correctamente.
- El fármaco administrado oralmente sufre un efecto de primer paso, esto es, ingresa al hígado por el sistema porta-hepático, el hepatocito es la célula encargada de desintoxicar al organismo por lo cual los fármacos que ingresen a él, serán transformados a sus metabolitos para su fácil eliminación. Consecuentemente la droga administrada por vía oral mantendrá concentraciones en sangre más bajas en relación a una administración intravenosa, en esta última, toda la droga será distribuida rápidamente a la sangre porque entra directamente al torrente sanguíneo <sup>(44)</sup>.

- Algunas situaciones interfieren en la absorción de las drogas como: presencia de vómito o diarreas y el pH gastrointestinal; por lo cual la absorción se dificulta y se hace lenta.

## **V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

No son del todo bien conocidos los efectos tóxicos del EG y del MC en modelos experimentales. Sin embargo, en estudios experimentales previos, se ha encontrado que las alteraciones que se presentan en las estructuras bucales y cráneo-faciales por estas sustancias tienen diferentes niveles de afectación, esto, debido a la variabilidad de la expresión en el mismo modelo, en los seres humanos existe agenesia dental <sup>(1,17-24)</sup>. ¿En qué medida los solventes afectan la estructura dental?, ¿Qué sucede con los ameloblastos del órgano del esmalte?, ¿Qué repercusiones dentales tienen los productos por la exposición indirecta a los solventes orgánicos?, existen muchas interrogantes que a la fecha no se han aclarado.

## **VI. JUSTIFICACIÓN**

La escasa información que existe acerca de las alteraciones dentales asociadas a la ingestión crónica de MC y EG. Hace necesario llevar a cabo experimentos con estas sustancias utilizando modelos animales y de esa forma aumentar nuestro conocimiento acerca de las alteraciones dentales asociadas a la embriogénesis dental y en específico como se hace en el presente trabajo al epitelio interno del germen dental de rata con 19 días de gestación.

La intoxicación de éteres de glicol se relaciona ampliamente con la actividad laboral y por una ingesta accidental. Si entendemos que un accidente se presenta de una forma espontánea, no planeada y por razones mal definidas, en alguna situación los accidentes tienen antecedentes inexplicables; por ejemplo: los daños que puede causar la radiación a la especie humana que son múltiples y generalmente están ligados a accidentes de trabajo, por el mal uso de aparatos

radioactivos e incluso por las guerras; las investigaciones que se realizan con respecto a los diferentes tipos de radiación son amplias y se les designan recursos económicos para recabar resultados, estos resultados ayudarán a la humanidad para que tenga un mayor conocimiento sobre el tema y a si pueda enfrentar este grave problema. Por lo cual el realizar investigaciones que puedan esclarecer los daños ocasionados por solventes usados comúnmente (como son metil celosolve y etilén glicol), enriquezcan los conocimientos para que se puedan establecer los daños celulares ocasionados en el síndrome de los esteres del glicol.

## **VII. OBJETIVOS.**

### **1. OBJETIVO GENERAL.**

Identificar los patrones estructurales y ultraestructurales (de la membrana nuclear, el retículo endoplásmico liso y del retículo endoplásmico rugoso) del ameloblasto en la región intercuspídea de modelos experimentales (fetos de ratas de 19 días de gestación) por exposición indirecta al metil celosolve y etilén glicol a concentraciones del 5%, 10% y 15% en una relación 1:1 administrada por vía oral a las ratas gestantes, la cantidad de 0.5 mL de la mezcla.

### **2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

- Determinar las características estructurales y ultraestructurales en el epitelio interno del órgano del esmalte en productos sanos de 19 días de gestación.
- Determinar la existencia de alteraciones estructurales y ultraestructurales en el epitelio interno del órgano del esmalte en productos de 19 días de gestación expuestos de forma indirecta a la mezcla de metil celosolve y

etilén glicol a una concentración del 5%, 10% y 15% administrada a la rata gestante por vía oral.

- Determinar el tipo de alteración estructural con microscopía óptica en los tres grupos experimentales.
- Determinar la existencia de cambios ultraestructurales en: la membrana nuclear, el retículo endoplásmico liso y del retículo endoplásmico rugoso; de las células del epitelio interno del órgano del esmalte en la región intercuspídea del primer molar del maxilar con microscopia electrónica de transmisión (MET) en los tres grupos de estudio.
- Comparar los resultados obtenidos en cada uno de los grupos experimentales con el grupo control para determinar los cambios estructurales y ultraestructurales del epitelio interno del órgano del esmalte en la región intercuspídea en el síndrome de éteres del glicol.

## **VIII. HIPÓTESIS.**

H<sub>1</sub> El etilén glicol y el metil celosolve producen alteración estructural y ultraestructural en las células del epitelio interno del órgano del esmalte; en la membrana nuclear, el retículo endoplásmico liso y el retículo endoplásmico rugoso.

H<sub>2</sub> Los daños tisulares estarán dados en base a una dosis dependiente.

## **IX. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **1. TIPO DE ESTUDIO.**

Experimental, transversal.

### **2. GRUPOS DE ESTUDIO.**

Se utilizaron 20 ratas hembras adultas jóvenes, sanas (200–250 gramos de peso) cepa Wistar, distribuidas en 4 grupos de 5 ratas hembras en cada uno y 8 machos sanos (dos por grupo).

**2.1. GRUPO CONTROL.** Sin manipulación, solo alimento y agua *ad libitum*.

#### **2.2. GRUPOS EXPERIMENTALES.**

**2.2.1. Primer grupo experimental:** Se les aplicó 0.5 mL de la mezcla de EG y MC al 5% por VO por medio de una jeringa (para administrar insulina).

**2.2.2. Segundo grupo experimental.** Se les aplicó 0.5 mL de la mezcla de EG y MC al 10% por VO por medio de una jeringa (para administrar insulina).

**2.2.3. Tercer grupo experimental.** Se les aplicó 0.5 mL de la mezcla de EG y MC al 15% por VO por medio de una jeringa.

### **3. VARIABLES.**

#### **3.1. VARIABLES DEPENDIENTES.**

Número de productos vivos.

Número de productos muertos.

Número de reabsorciones.

Malformaciones que presenten los productos.

Cambios estructurales y ultraestructurales en las células que forman el órgano del esmalte.

### **3.2. VARIABLES INDEPENDIENTES.**

Solventes *etilén glicol* y *metil celosolve*.

Dosis aplicada.

## **4. CRITERIOS.**

### **4.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.**

Ratas hembras cepa Wistar.

Fetos que se hayan desarrollado.

Productos que sean viables.

Fetos con alteraciones cráneo-maxilo-faciales y dentales.

### **4.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.**

Ratas que manifiesten alguna enfermedad durante el periodo de observación.

Ratas que no manifiesten preñez.

## **5. METODOLOGÍA.**

Los modelos experimentales fueron ratas de la cepa Wistar, que nacieron y se criaron en el Bioterio de la DEPel, Facultad de Odontología, UNAM. Una vez formados los cuatro grupos (control y experimentales), se aparearon y al momento de observarse el tapón vaginal, se tomó como día 1o de gestación; a partir de ese momento se inició la administración de la mezcla de los éteres del glicol a los diferentes grupos experimentales. Al término de los 19 días de gestación se les practicó cesárea para la obtención de los fetos, posteriormente se sacrificó a la rata madre como lo marca la norma ISO 10993-2 <sup>(45)</sup>. Los productos se cuantificaron y se identificaron como productos vivos, productos muertos y reabsorciones.

### **5.1. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS PARA MICROSCOPIA FOTÓNICA (MF).** En forma aleatoria se sacrificaron tres productos de cada grupo para su

procesamiento histológico y realizar el estudio en MF, las muestras fueron procesadas de forma automatizada, incluidas en parafina, cortadas de forma seriada a  $3\mu\text{m}$ , teñidas con Hematoxilina y Eosina, y tricrómica de Masson contrastada con azul de anilina y verde brillante, montadas y observadas al microscopio <sup>(46,47)</sup>.

## **5.2 PROCESAMIENTO DE TEJIDO PARA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (MET).**

Para este procedimiento se sacrifico un feto, se colocó sobre una base para obtener la muestra (preparado el mismo día y en fragmentos de  $0.3\text{-}0.6\text{ mm}^3$ ). Se lavó 3 veces por 5 minutos con PBS 0.1 M a pH 7.4. Una vez obtenida la muestra se procedió a su fijación con glutaraldehído al 2.5% y paraformaldehído al 2.5% en PBS 0.1 M. por 4 horas. Después se realizaron enjuagues con PBS a 0.1 M, 3 veces por 10 min. La postfijación duró de 1-2 horas y se realizó con tetraóxido de osmio al 1% en PBS 0.1 M. Nuevamente se lavó con PBS a 0.1 M. Posteriormente se realizó la deshidratación con Acetonas en 2 ocasiones con una duración de 10 minutos (Etanol 30% por 10 min, etanol 50% por 10 min, etanol 80% por 10 min, etanol 90% por 10 min, etanol 96%), el ultimo alcohol fue etanol al 100% y se realizaron 3 enjuagues por 10 min. A continuación se lavo con óxido de propileno 3 veces por 10 min. Después se preincluyó con oxido de propileno más resina (epón) 1:1 dejando las muestras embebidas por 16 horas. La inclusión en Epón fue a  $60^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas, para la obtención del bloque y se realizó una pirámide sobre el mismo. Se hacen cortes semifinos de  $100\text{-}150\ \mu\text{m}$  para definir el tejido en microscopía fotónica y contrastado con azul de toluidina. Se realizaron cortes ultrafinos de  $80\text{-}100\ \mu\text{m}$  en ultramicrotomo <sup>(48,49)</sup>.

## **6. MATERIALES.**

### **6.1. EQUIPO.**

Material y equipo necesario para obtener cortes embebidos en parafina de  $5\ \mu\text{m}$  de grosor y tinción con Hematoxilina & Eosina y tricrómica de Masson.

Material y equipo necesario para obtener cortes útiles para su análisis a microscopía electrónica. (Microscopio Electrónico Jeol 1010)

Material y equipo de oficina y cómputo.

## **6.2. REACTIVOS.**

Xileno

Alcoholes

Solventes orgánicos

*Etilén glicol.*

*Metil celosolve.*

Colorantes

Para tinción de Hematoxilina & Eosina

Hematoxilina de Harris

Eosina de Gills

Para tinción de Tricrómica de Masson

Hematoxilina

Azul de anilina

Verde brillante

## X. RESULTADOS.

### 1. MACROSCÓPICOS.

#### 1.1 GRUPO CONTROL.

En este grupo de las 5 madres gestantes se obtuvieron 65 fetos vivos, teniendo en promedio 13 fetos viables por madre (Tabla 5). Los productos presentaron tamaño, forma, y características estructurales homogéneas entre sí.

#### 1.2 GRUPOS EXPERIMENTALES.

El grado de alteraciones en los grupos experimentales fue aumentado conforme las concentraciones del EG y el MC se incrementaron, en el grupo de 5% se obtuvieron 63 fetos vivos, en el de 10% solo se presentaron 37 fetos viables y en el grupo experimental del 15% solo se tuvieron 7 fetos viables (Tabla 6); las malformaciones encontradas fueron (Fig. 1):

1. Disminución en el número de fetos vivos.
2. Falta de desarrollo, con retardo en el crecimiento, como consecuencia talla disminuida.
3. Malformaciones craneofaciales.
4. Acortamiento de cuello.
5. Falta de pared abdominal.
6. Acortamiento de extremidades superiores e inferiores.
7. Reducción en la cola.

La gravedad de las alteraciones se manifestó en relación al aumento de las concentraciones de los solventes orgánicos.

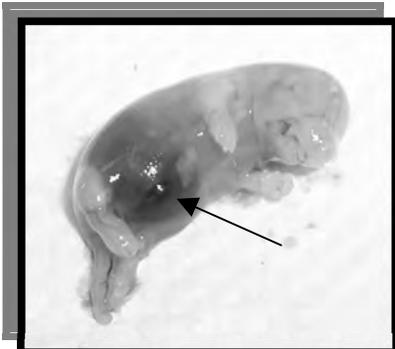


Fig. 1. Imagen macroscópica de un feto de 19 días del grupo experimental 15%, en la que se aprecia la falta de cierre de la pared abdominal (flecha) con exposición de vísceras y acortamiento de las extremidades.

**TABLA 5. PRODUCTOS VIVOS, MUERTOS Y REABSORCIONES OBTENIDOS EN EL GRUPO CONTROL Y LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.**

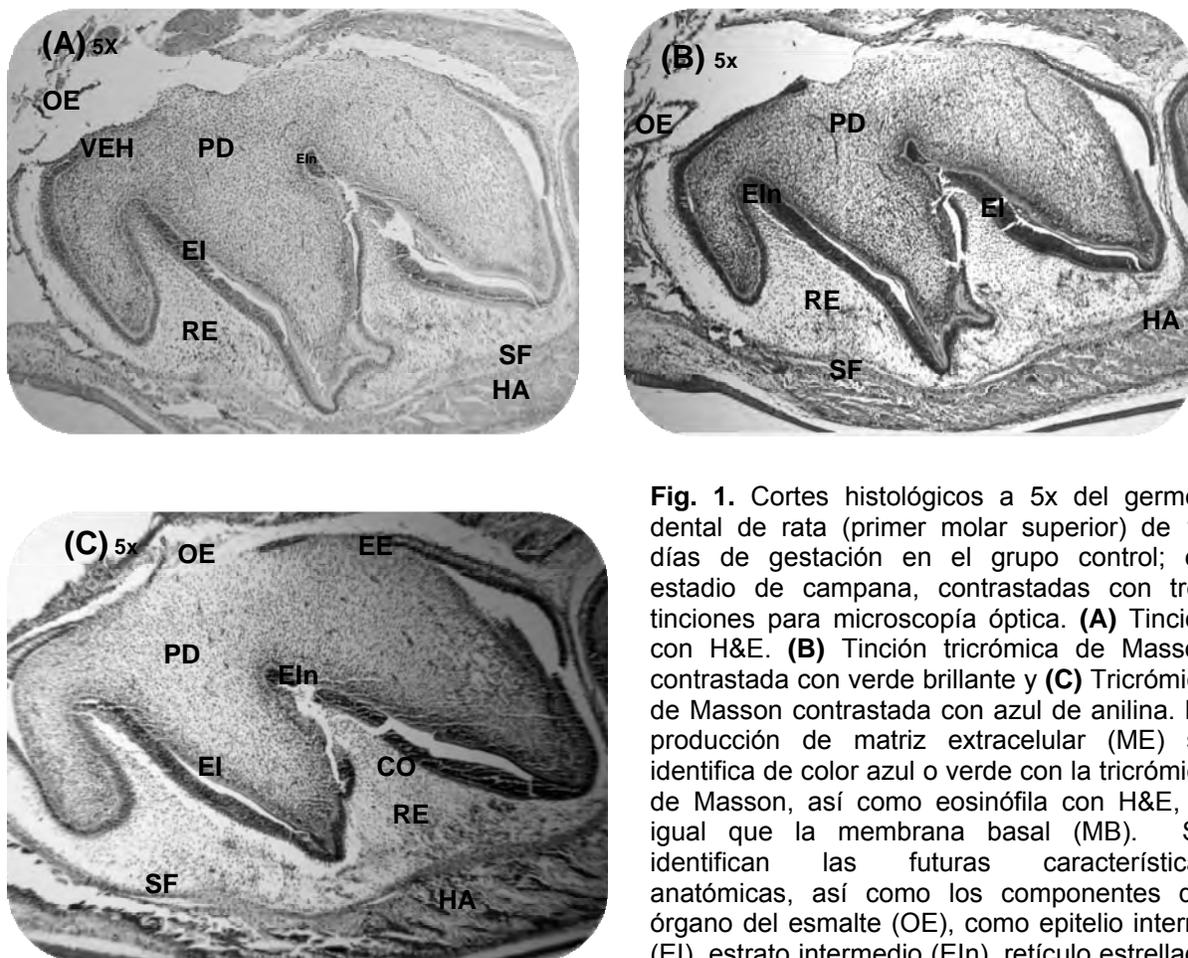
GRUPOS	VIVOS	MUERTOS	TOTAL (VIVOS Y MUERTOS)	REABSORCIONES
<b>GRUPO CONTROL</b>	65	X	65	1
<b>G. E. 5%</b>	63	1	64	8
<b>G.E. 10%</b>	37	18	55	15
<b>G.E. 15%</b>	7	9	16	20
<b>TOTALES</b>	<b>72</b>	<b>28</b>	<b>200</b>	<b>44</b>
<b>PROMEDIOS</b>	<b>18</b>	<b>7</b>	<b>50</b>	<b>11</b>

## 2. MICROSCOPIA FOTÓNICA.

### 2.1 GRUPO CONTROL.

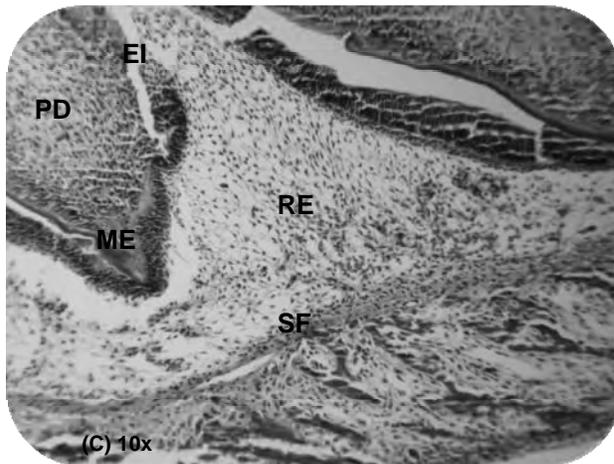
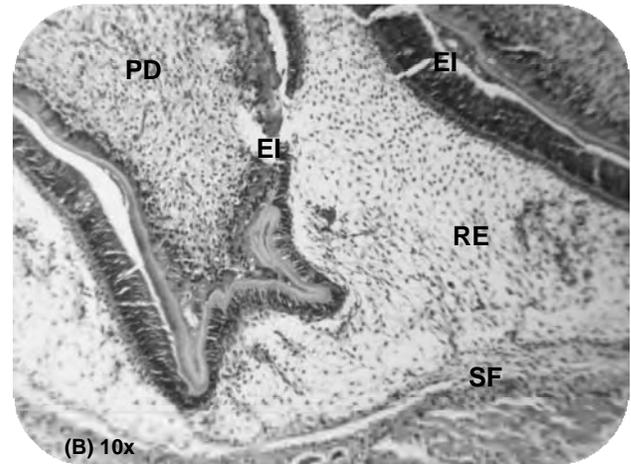
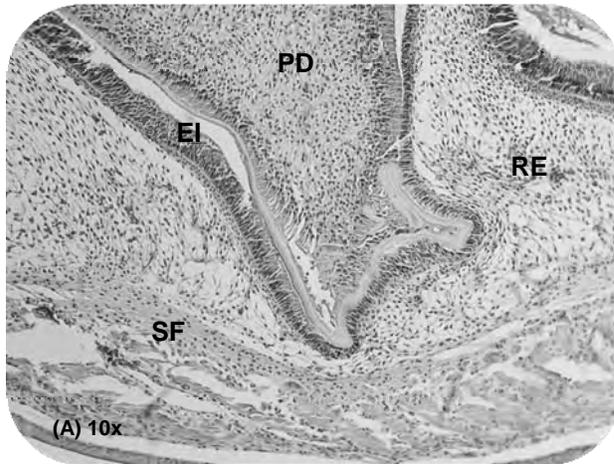
En este grupo se encontraron gérmenes dentales en etapa de campana, se identificó por medio de dos tinciones una básica y otra especial como es la tricrómica de Masson contrastada con verde brillante y azul de anilina la arquitectura del germen dental, que estaba constituido por los cuatro componentes del órgano del esmalte que son epitelio interno (EI), estrato intermedio (EI<sub>n</sub>), células del retículo estrellado (RE) y el epitelio externo (EE); la papila dental y el saco folicular. En la papila dental (PD) se encontró una capa celular de formas y tamaños diversos agrupados en empalizada correspondientes a los odontoblastos (O) que indica que se encuentran en distintos períodos de maduración, algunos de ellos principalmente los adyacentes a las cúspides con función secretoria, en contacto con el epitelio interno y separados de este epitelio por la membrana basal (MB) como se identifica en los cortes teñidos con

tricrómica de Masson. La vaina epitelial de Hertwig (VEH) se encontró bien definida formada por la unión del epitelio interno con el epitelio externo en la zona cervical (ZC) del germen dental (GD) (Fig. 1). Se puede observar la matriz extracelular (ME) que se encuentra en las porciones intercuspídeas y en las cúspides del germen dental entre el epitelio interno y el epitelio externo; es difícil distinguir el origen de esta matriz; sin embargo como veremos más adelante (en los resultados de MET), el odontoblasto produce secreciones proteicas que deposita en su porción basal; mientras que el ameloblasto se encuentra en un estadio pre-secretor, en pocas ocasiones se puede observar la formación de una matriz mineralizante en su porción secretora (Fig. 2).

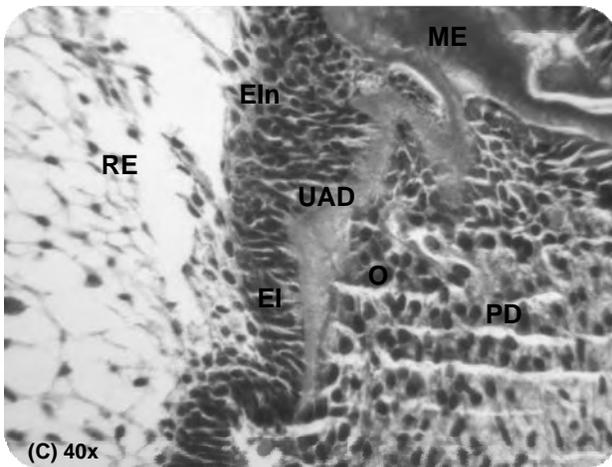
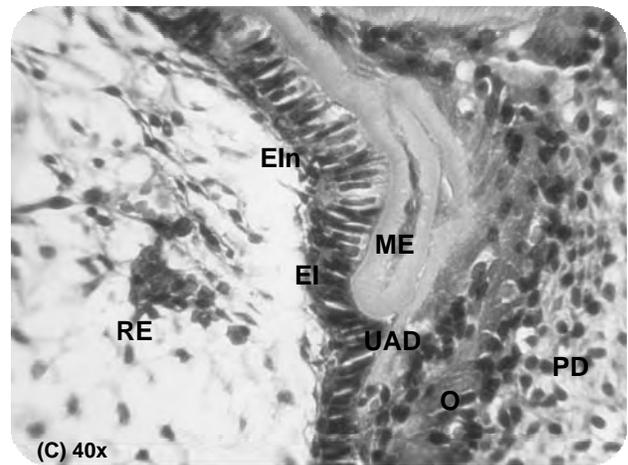
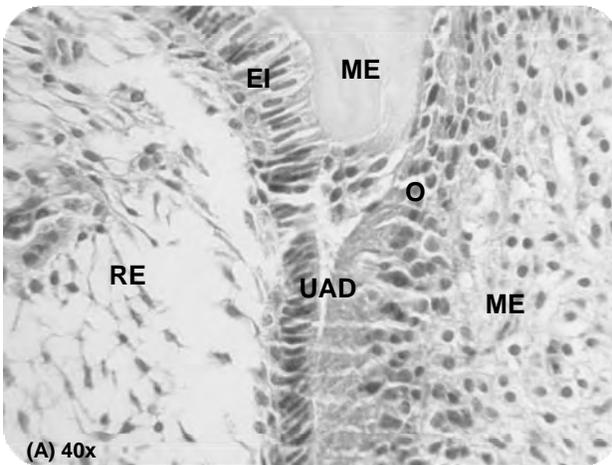


**Fig. 1.** Cortes histológicos a 5x del germen dental de rata (primer molar superior) de 19 días de gestación en el grupo control; en estadio de campana, contrastadas con tres tinciones para microscopía óptica. **(A)** Tinción con H&E. **(B)** Tinción tricrómica de Masson contrastada con verde brillante y **(C)** Tricrómica de Masson contrastada con azul de anilina. La producción de matriz extracelular (ME) se identifica de color azul o verde con la tricrómica de Masson, así como eosinófila con H&E, al igual que la membrana basal (MB). Se identifican las futuras características anatómicas, así como los componentes del órgano del esmalte (OE), como epitelio interno (EI), estrato intermedio (EIn), retículo estrellado (RE), epitelio externo (EE), la papila dental (PD), la capa odontoblástica (CO), el saco folicular (SF) y el futuro hueso alveolar (HA).

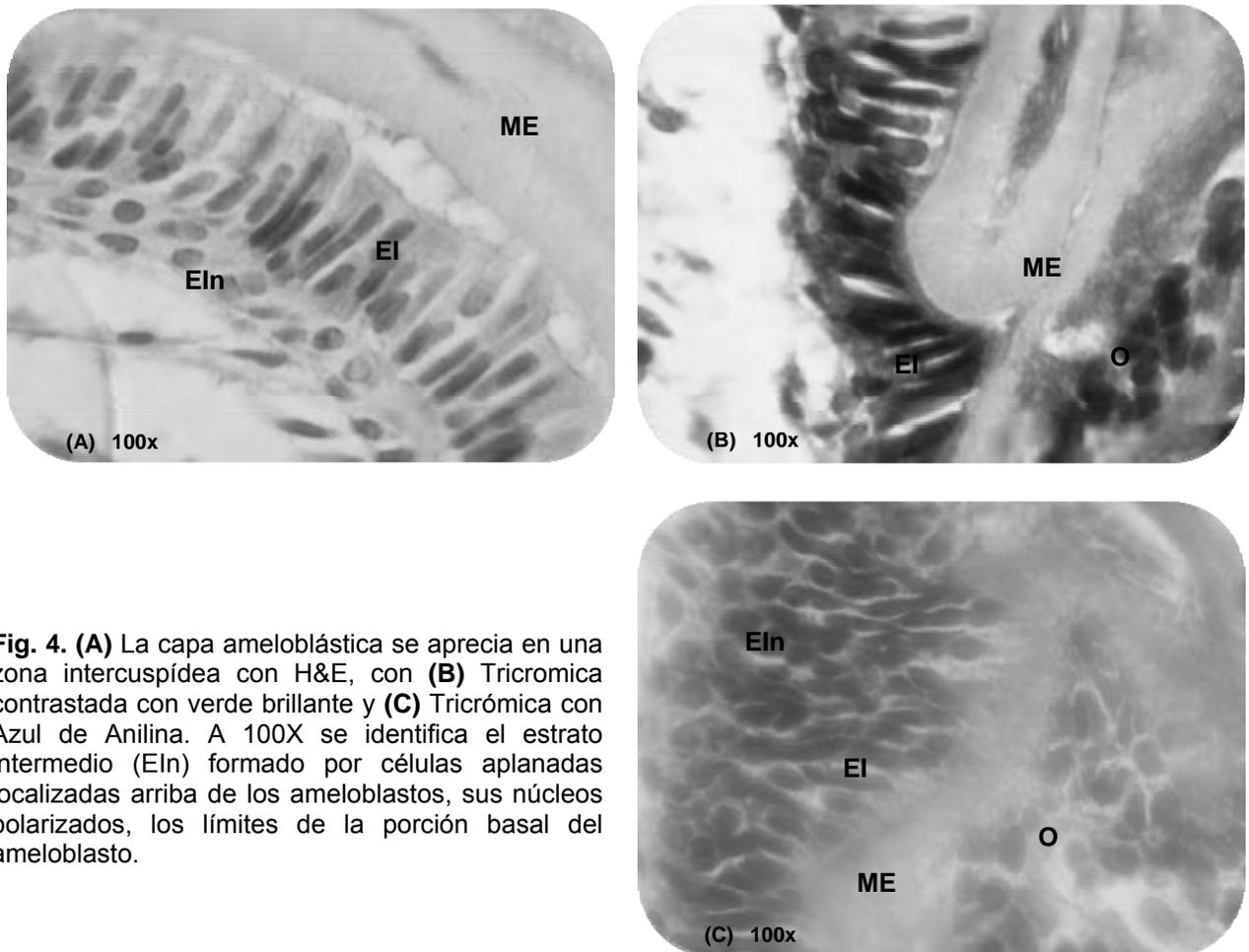
**2.1.1 Órgano del esmalte.** La observación microscópica de las células del EI y EE del órgano del esmalte reveló que las células del EE se encontraban agrupadas en empalizada con forma cúbica, circundando al germen dental, éstas a su vez rodeadas por el saco folicular. En el epitelio interno se identificaron tres diferentes estadios en los ameloblastos que fueron: preameloblastos (PA), ameloblastos presecretorios (APS) y ameloblastos secretorios (AS), las células que conformaban la zona cervical se encontraron pobremente diferenciados; mientras que las células localizadas en dirección a las cúspides presentaron más diferenciación (Fig. 2(A)). En el área intercuspídea el EI se observó con dos estadios de diferenciación de las células (Fig. 3(A)), los ameloblastos secretorios mostraron núcleo polarizado, con una relación núcleo-citoplasma de 3:1; estas células tienen una región secretora o basal y otra distal que se encuentra en contacto con las células del estrato intermedio (CEIn), también existe una matriz extracelular entre el EI y la capa odontoblástica. Las CEIn, son importantes debido a que permiten la difusión de nutrientes y por ende la nutrición del epitelio interno ya que como se sabe el epitelio es avascular (Fig. 3), también se observó gran cantidad de vasos sanguíneos presentes en la papila dental y en el saco folicular que aportan los nutrientes al germen dental, la matriz cercana a la zona secretora de las células del EI contienen prolongaciones citoplasmáticas del odontoblasto lo que define a la matriz teñida eosinófila claro con H&E, verde brillante y azul con la tinción de tricrómica de Masson (TABLA 6 y Fig. 4).



**Fig. 2.** Grupo control. Los cortes histológicos con aumento de 10x, permiten observar los dos epitelios del germen dental (EI y EE) con dos tinciones: **(A)** H&E, **(B)** Tricromica de Masson contrastado con verde brillante y **(C)** Tricrómica de Masson con Azul de Anilina. Se puede identificar ameloblastos con diferentes niveles de diferenciación como son PA, APS y AS. Esta diferenciación celular se presentó mejor definida en dirección a la zona de las cúspides.



**Figura 3.** Vista histológica a 400 aumentos. Se puede observar la estructura del epitelio interno (EI) del germen dental, sobre un área intercuspídea (AI). **(A)** H&E, **(B)** Tricrómica de Masson con verde brillante y **(C)** Tricrómica de Masson con Azul de Anilina. Se aprecia en el corte la actividad secretoria de los ameloblastos en el epitelio interno hacia la unión amelodentinaria (UAD), donde se relacionan directamente con su matriz extracelular, los odontoblastos (O) se encuentran agrupados en empalizada conformando la capa más superficial de la papila dental.

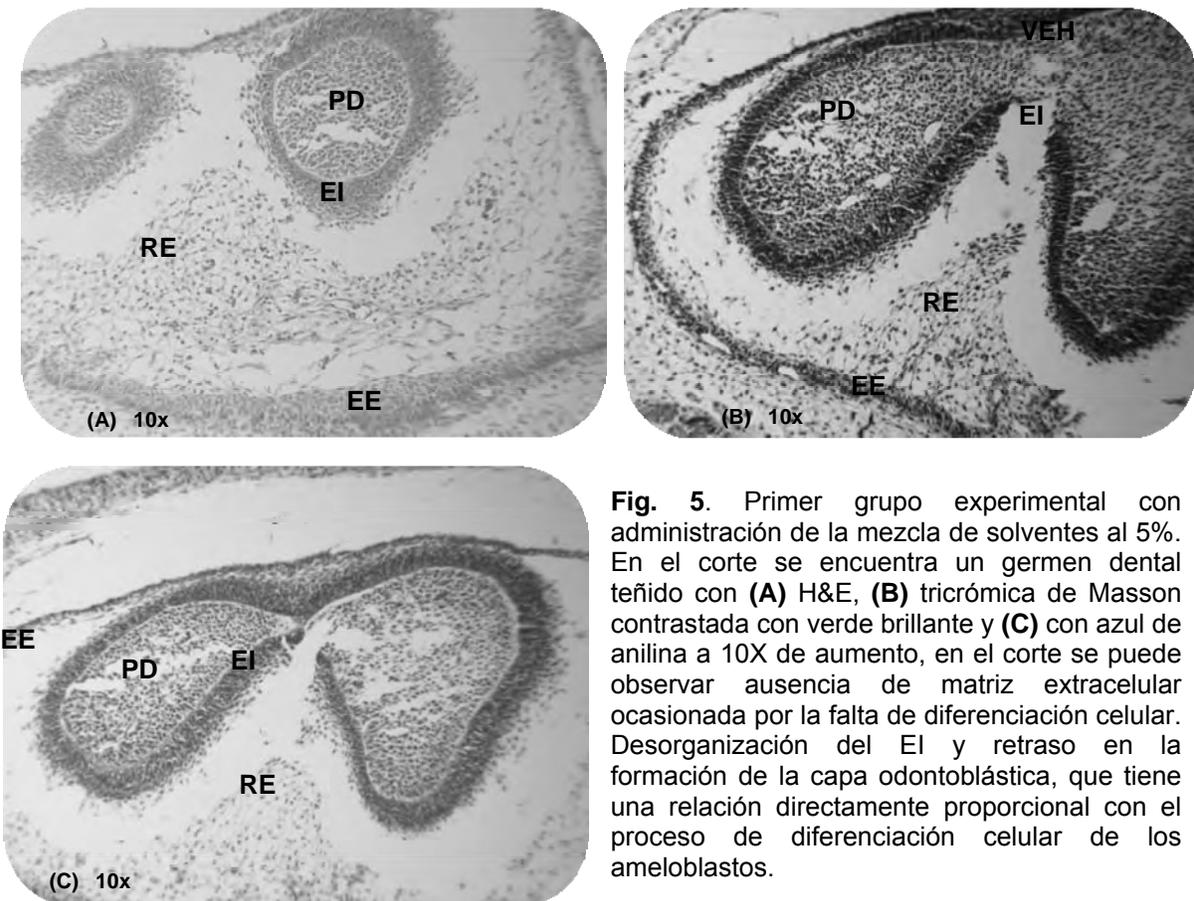


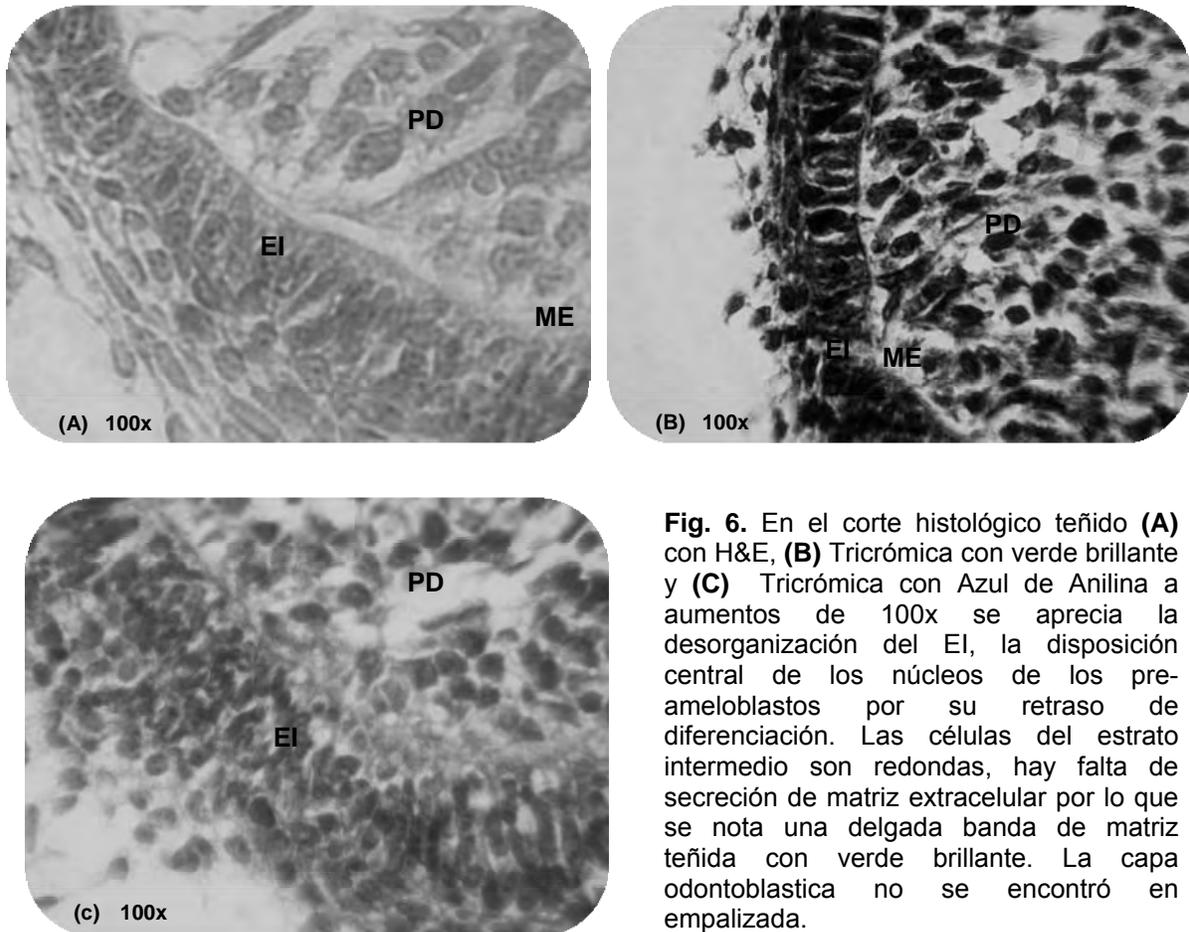
**Fig. 4.** (A) La capa ameloblástica se aprecia en una zona intercuspeada con H&E, con (B) Tricromica contrastada con verde brillante y (C) Tricrómica con Azul de Anilina. A 100X se identifica el estrato intermedio (EIn) formado por células aplanadas localizadas arriba de los ameloblastos, sus núcleos polarizados, los límites de la porción basal del ameloblasto.

## 2.2. GRUPO EXPERIMENTAL 5%.

En el grupo experimental de 5%, el germen dental mostró la formación de todas las estructuras como en el grupo control, sin embargo se encontró ligero retraso en el desarrollo tisular. Las alteraciones características de este grupo fueron la falta de producción de matriz extracelular principalmente. La unión amelo-

dentinaria se encontró adelgazada en comparación con el grupo control (Fig. 5), esto se observó con mayor definición en la tinción de tricrómica de Masson. Las células del EI se identificaron como preameloblastos por su característica principal que es la ubicación céntrica del núcleo que no está polarizado y por la nula secreción de matriz extracelular en el área basal de la célula (Fig. 6A). En lo que respecta a la PD se apreciaron las prolongaciones citoplasmáticas de los odontoblastos inmersos en la matriz extracelular producida.

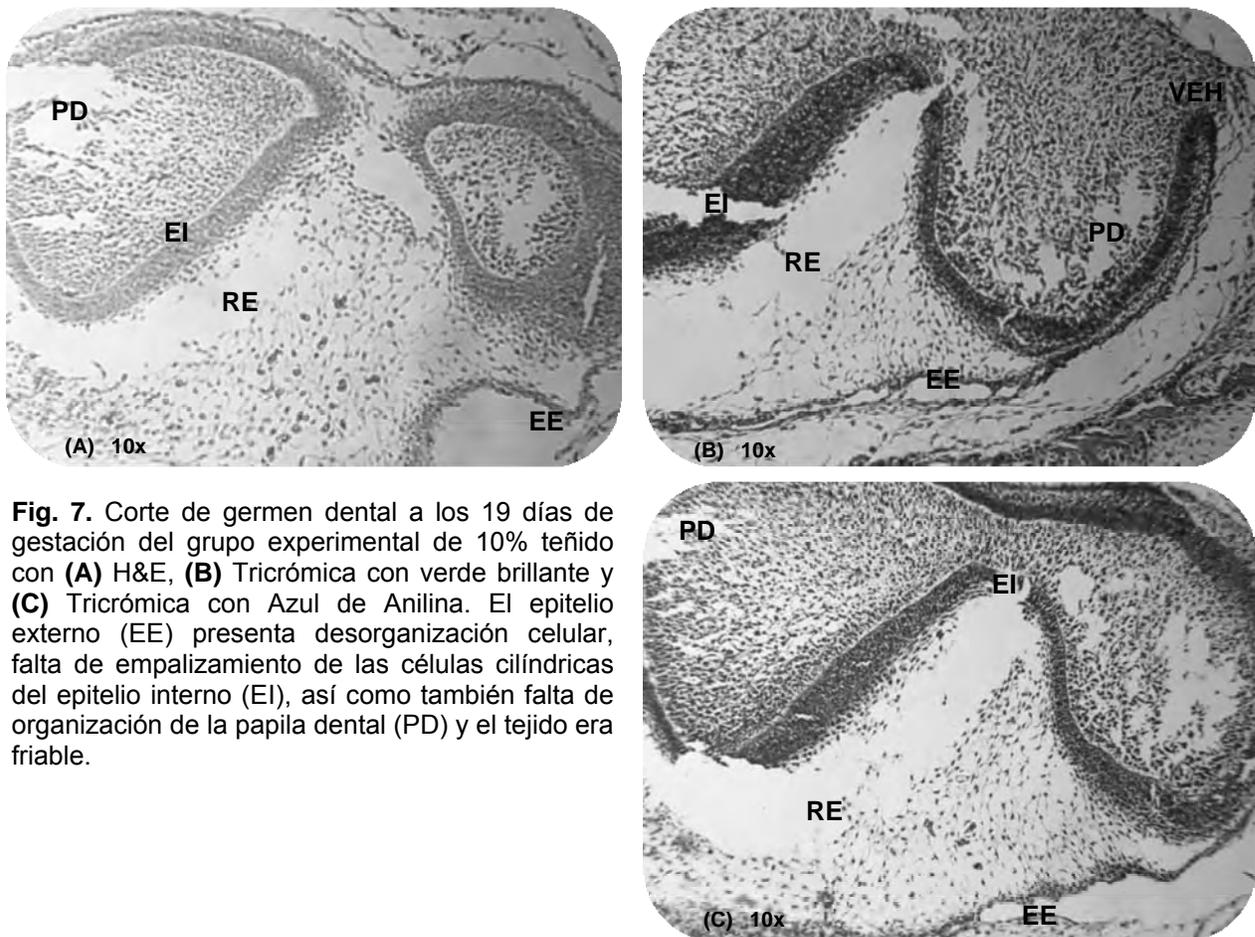




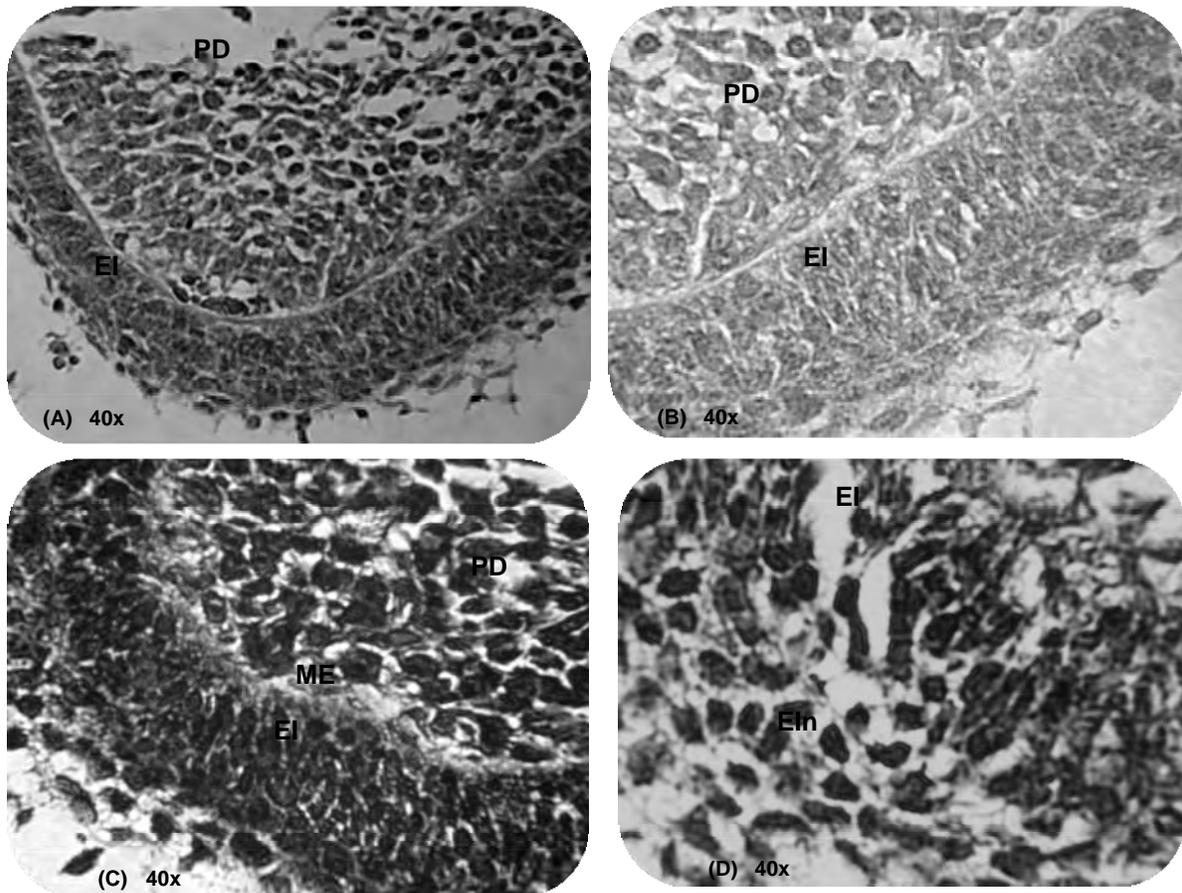
### 2.3. GRUPO EXPERIMENTAL 10%.

En este grupo experimental se siguieron presentando en el germen dental las cuatro capas epiteliales que se identificaron en el grupo control y experimental del primer grupo, el germen dental se encontró en estadio de campana, sin embargo

el retraso en el desarrollo tisular fue mayor debido a: las alteraciones producidas por el EG y el MC involucrando la falta de matriz extracelular y la poca vascularidad. La unión que hay entre el epitelio interno y la capa de odontoblastos fue escasa. El delgado epitelio externo presentó irregularidades en todo su contorno aunque sus células se mantuvieron en aparente empalizada (Fig. 7). Las células del epitelio interno se encontraron en etapa de preameloblastos por su núcleo céntrico y porque se relaciona con poca o nula matriz extracelular en el área basal de la célula, la forma de las células en ocasiones fue columnar y también poliédrica (cuboidal o poligonal), con una pobre celularidad dentro del retículo estrellado y de la papila dental (TABLA 6, Fig. 8).



**Fig. 7.** Corte de germen dental a los 19 días de gestación del grupo experimental de 10% teñido con **(A)** H&E, **(B)** Tricrómica con verde brillante y **(C)** Tricrómica con Azul de Anilina. El epitelio externo (EE) presenta desorganización celular, falta de empalazamiento de las células cilíndricas del epitelio interno (EI), así como también falta de organización de la papila dental (PD) y el tejido era friable.

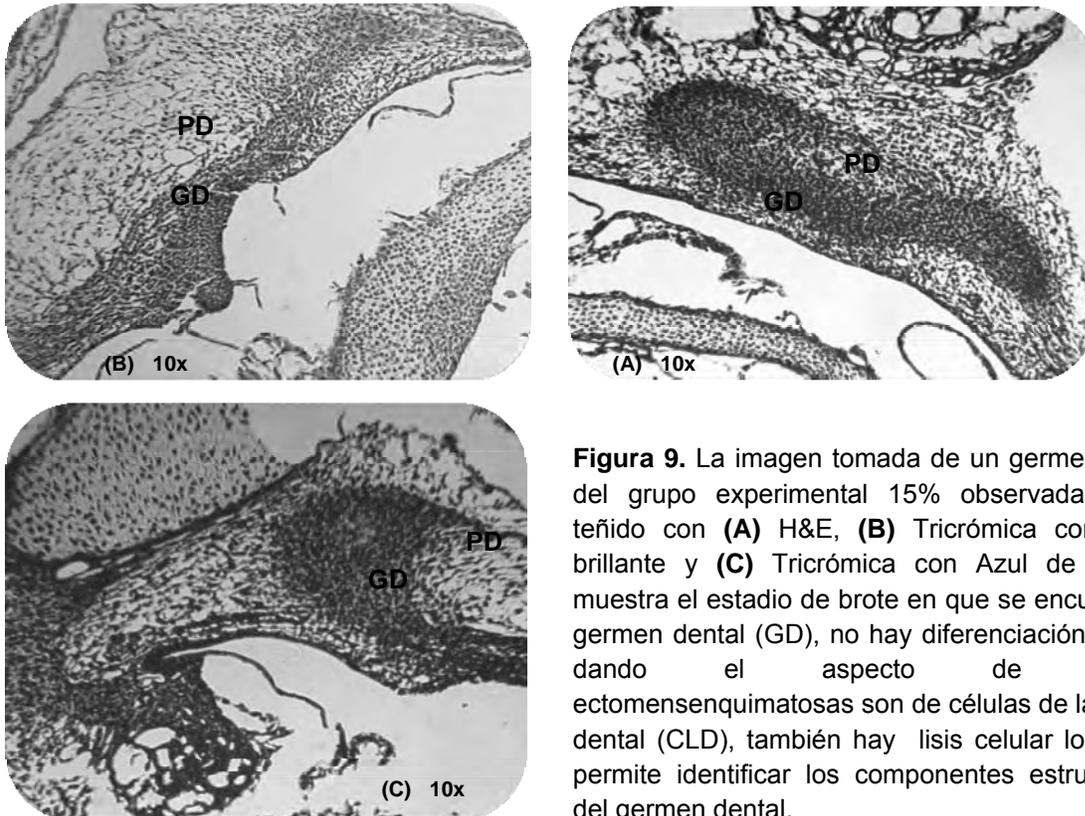


**Figura 8.** (A) Corte histológico a 40x teñido con H&E, en el que se puede apreciar hemorragia en el retículo estrellado, la formación de la matriz extracelular (ME), (B) que se puede ver eosinófila tenue, (C) con la Tricrómica con verde brillante se encuentran las células del estrato intermedio (CEI) aparentemente apiladas. (D) Tricrómica con Azul de Anilina. Los preameloblastos (PA) del epitelio interno mantienen una forma poliédrica y columnar con retraso en el proceso de diferenciación celular.

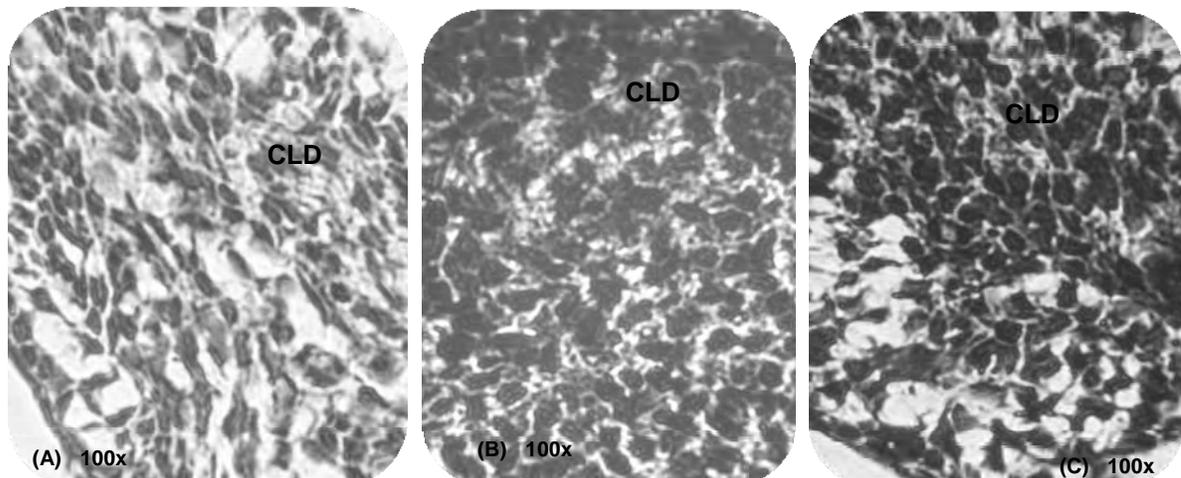
#### 2.4. GRUPO EXPERIMENTAL 15%.

El germen dental se encontró en estadio de brote y sin formación de la capa epitelial interna ni tampoco la capa epitelial externa, las células de la lámina dental tenían forma poliédrica: lo anterior indica una grave y severa falta de diferenciación celular. Fue muy difícil encontrar vasos en los tejidos y por lo cual la vascularización en el germen dental resultó muy deficiente (Fig. 9). No se encontró matriz extracelular. No hay ninguna célula diferenciada del órgano del esmalte, se pueden observar células

mesenquimatosas y ectomesenquimatosas provenientes de la migración del epitelio bucal por invaginación (TABLA 6, Fig. 10).



**Figura 9.** La imagen tomada de un germen dental del grupo experimental 15% observada a 10x teñido con (A) H&E, (B) Tricrómica con verde brillante y (C) Tricrómica con Azul de Anilina, muestra el estadio de brote en que se encuentra el germen dental (GD), no hay diferenciación celular, dando el aspecto de células ectomesenquimatosas son de células de la lamina dental (CLD), también hay lisis celular lo que no permite identificar los componentes estructurales del germen dental.



**Fig. 10.** Cortes histológicos observados a 100x con (A) H&E se aprecia la desorganización de las células del germen dental y la lisis celular, (B) Tricrómica con verde brillante que tiñe la escasa matriz extracelular que se secreta de forma atípica por las células que serán en un futuro ameloblastos y (C) Tricrómica con Azul de Anilina, las células de este estadio son de la lamina basal con forma poliédrica.

**TABLA 6. RESULTADOS DE MICROSCOPIA FOTÓNICA, QUE RESUME LAS ALTERACIONES PRODUCIDAS POR LOS GLICOLES.**

TEJIDO	GRUPO CONTROL	GRUPO EXPERIMENTAL 5%	GRUPO EXPERIMENTAL 10%	GRUPO EXPERIMENTAL 15%
ETAPA DE ORGANO DEL ESMALTE	Campana Tardía	Campana Temprana	Campana Temprana	BROTE
EPITELIO INTERNO (EI)	Ameloblastos diferenciados y Presecretores, de forma columnar	Preameloblastos, Columnares	Preameloblastos, Columnares y Poliédricas	NO SE DIFERENCIÓ
EPITELIO EXTERNO (EE)	Células cuboidales en empalizada	En empalizada	En empalizada	NO SE DIFERENCIÓ
MATRIZ EXTRACELULAR ENTRE EE Y EI	Abundante	Moderada y Poca	Poca	Poca y nula
CÉLULAS DE LA LÁMINA DENTAL EN ETAPA DE BROTE				Células de la Lámina dental, Poliédricas.
VASCULARIDAD	Buena	Poca	Mala	Mala
TIPO DE DAÑO	NULO	BAJO	MEDIO	ALTO

### 3. RESULTADOS DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (MET).

En el estudio ultraestructural de las muestras tanto del grupo control como de los grupos experimentales se encontraron hallazgos que por las limitaciones del microscopio fotónico no pudieron ser identificados. Las muestras obtenidas de 19 días de gestación fueron procesadas inmediatamente, esto es importante para evitar lisis celular.

**Organelos celulares.** En este estudio se revisaron los siguientes organelos como son: núcleo, retículo endoplasmático rugoso (RER), retículo endoplasmático liso (REL), aparato de Golgi, vesículas y mitocondrias. Estos organelos son importantes dentro del ameloblasto, cuya función principal es la síntesis de la matriz extracelular.

**Grupo control.** Es importante establecer que el estudio con MET se enfocó a las células de la capa del EI, esta capa celular mostró el ordenamiento en empalizada de los ameloblastos (Ams) visto con MET a 5,000 aumentos, las CEI presentaron características morfológicas transicionales a las células del epitelio interno (EI) y del retículo estrellado (RE) que las delimitan, siendo de forma fusiforme, núcleo centrado, el RE mostró como su nombre lo indica, células con prolongaciones citoplasmáticas semejando una estrella, en tanto que el EE mostró células cúbicas de forma homogénea y núcleo central. En la papila dental, los odontoblastos (O) se encuentran cercanos a la membrana basal, agrupados en empalizada. Es importante remarcar que la diferenciación celular del O permite que el Am se diferencie para producir su matriz extracelular, son células formadoras de preentina y dentina; éstas se diferencian a partir de células de la papila dental (CPD), en muchos casos fué frecuente encontrar las prolongaciones citoplasmáticas de los odontoblastos (PCO) embebidas en su matriz extracelular de preentina, las PCO llegan a tener contacto directo con la membrana basal; la

producción proteica de la matriz extracelular del odontoblasto es un activador importante para que los ameloblastos produzcan matriz extracelular sobre la membrana basal. La matriz extracelular de los ameloblastos presecretorios (ME-Am) frecuentemente se encuentra entre célula y célula, sin embargo, no hay acumulación de ME-Am presecretorios en la región basal ó próxima a la membrana basal; esto clasifica a los ameloblastos de nuestro grupo control como pre-secretorios.

### **3.1 AMELOBLASTO PRESECRETOR**

#### **3.1.1 Grupo control.**

Los ameloblastos presecretorios (AmPS), se observaron de forma columnar con uniones intercelulares de tipo nexo. Los AmPS presentaron dos polos o regiones, la región basal o secretoria (RS) que se encuentra dirigida hacia la papila dental separados por medio de la membrana basal (MB) y la matriz extracelular (ME) que conformaron la unión amelodentinaria (UAD) y la región distal (RD) que tiene interacción con las células del EI. Los AmPS tenían un solo núcleo, de forma ovoide excéntrico, polarizado hacia la región distal (RD) con una relación núcleo-citoplasma de 3:1 (N:C) y con nucléolo (No) hacia la periferia (Fig. 11). El RER se encontró rodeando al núcleo, con las cisternas bien definidas, abundante cantidad de ribosomas. Por encima del núcleo ubicado hacia la región secretoria (RS) se ubicó el aparato de Golgi, así como las vesículas de secreción de tamaños diversos, conteniendo proteínas del esmalte, gran cantidad de mitocondrias distribuidas en el citoplasma del AmPS (Fig. 12 y 13; Tabla 7).

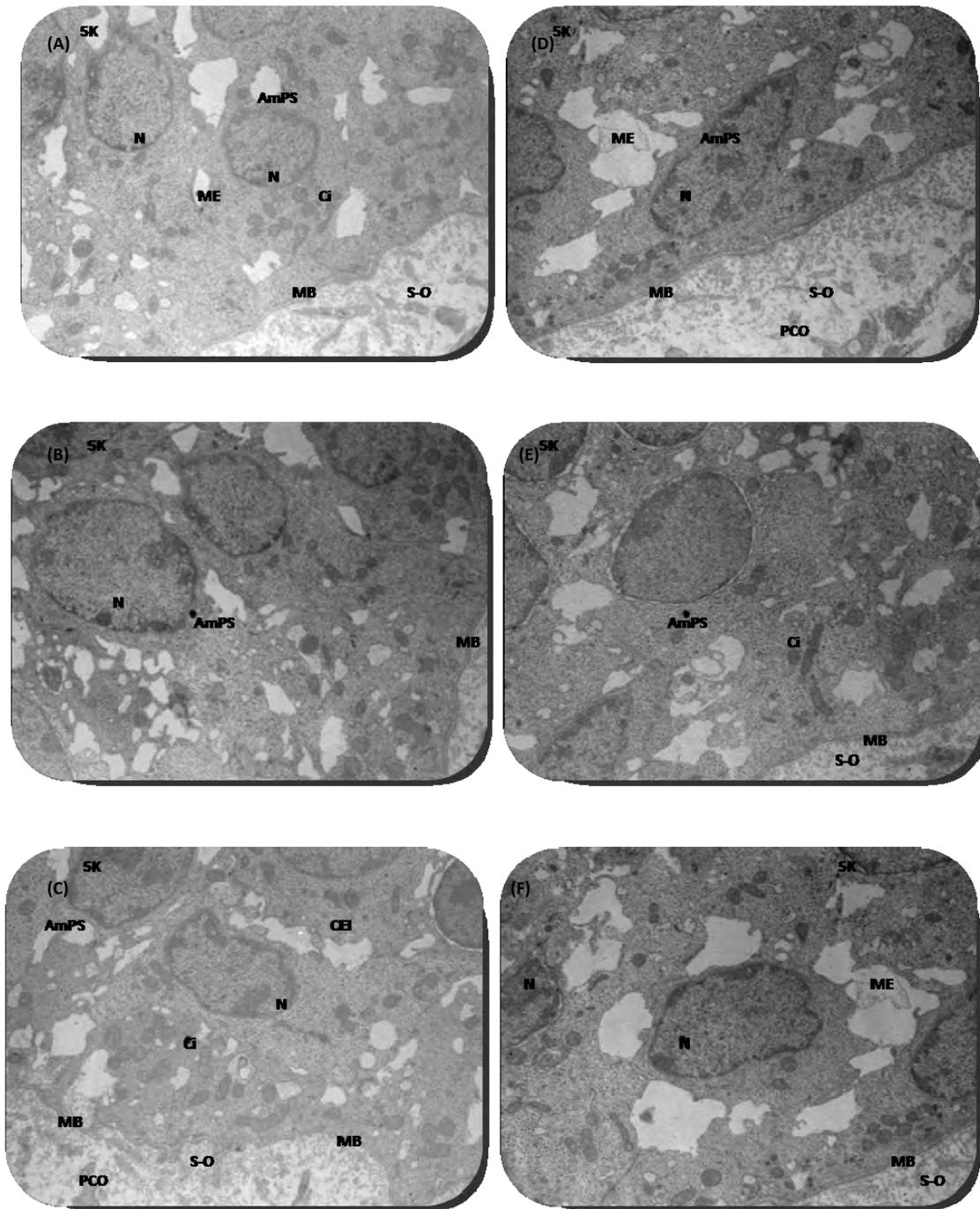


Fig. 11. Grupo control. Ameloblasto de zona intercuspidéa que se encuentra en el EI del órgano del esmalte a 5k (5,000 aumentos). Núcleo (N), matriz extracelular (ME), membrana basal (MB), secreción de

odontoblastos (S-O), citoplasma (Ci), prolongaciones citoplasmáticas del odontoblasto (PCO), ameloblastos pre-secretores (AmPS), células del estrato intermedio (CEI), nucléolo (No).

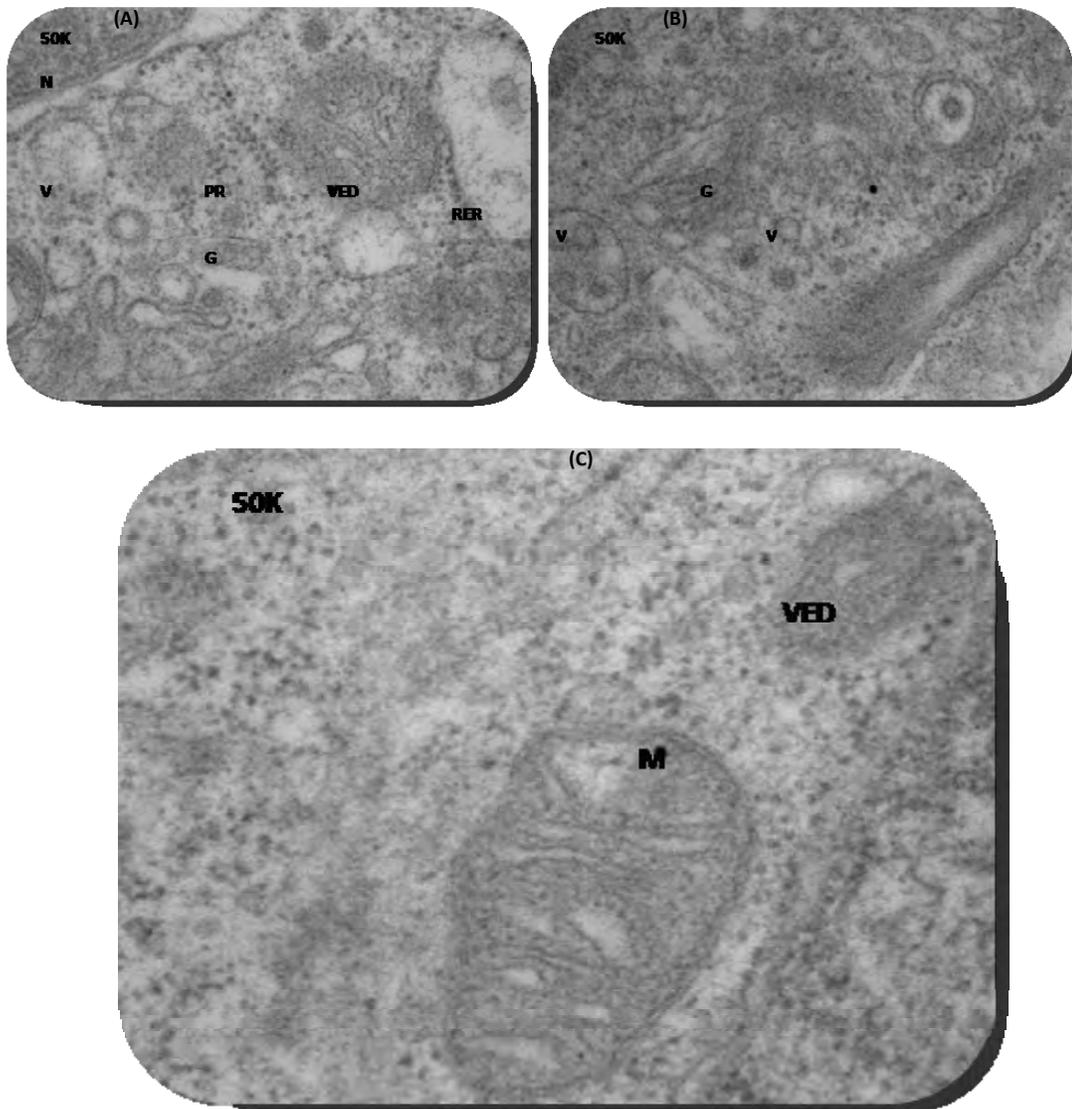


Fig. 12. GRUPO CONTROL. Microfotografía que contiene distintos organelos en el citosol vistos a 50,000 aumentos. vesículas electrodensas (VED), poli-ribosomas (PR), membrana externa de ameloblasto (ME-Am), retículo endoplasmático rugoso (RER), núcleo (N), mitocondrial (M), vesícula (V), Golgi (G), matriz externa del odontoblasto (ME-O), retículo endoplasmático rugoso (RER), cisternas del retículo endoplasmático rugoso (Cis-RER).

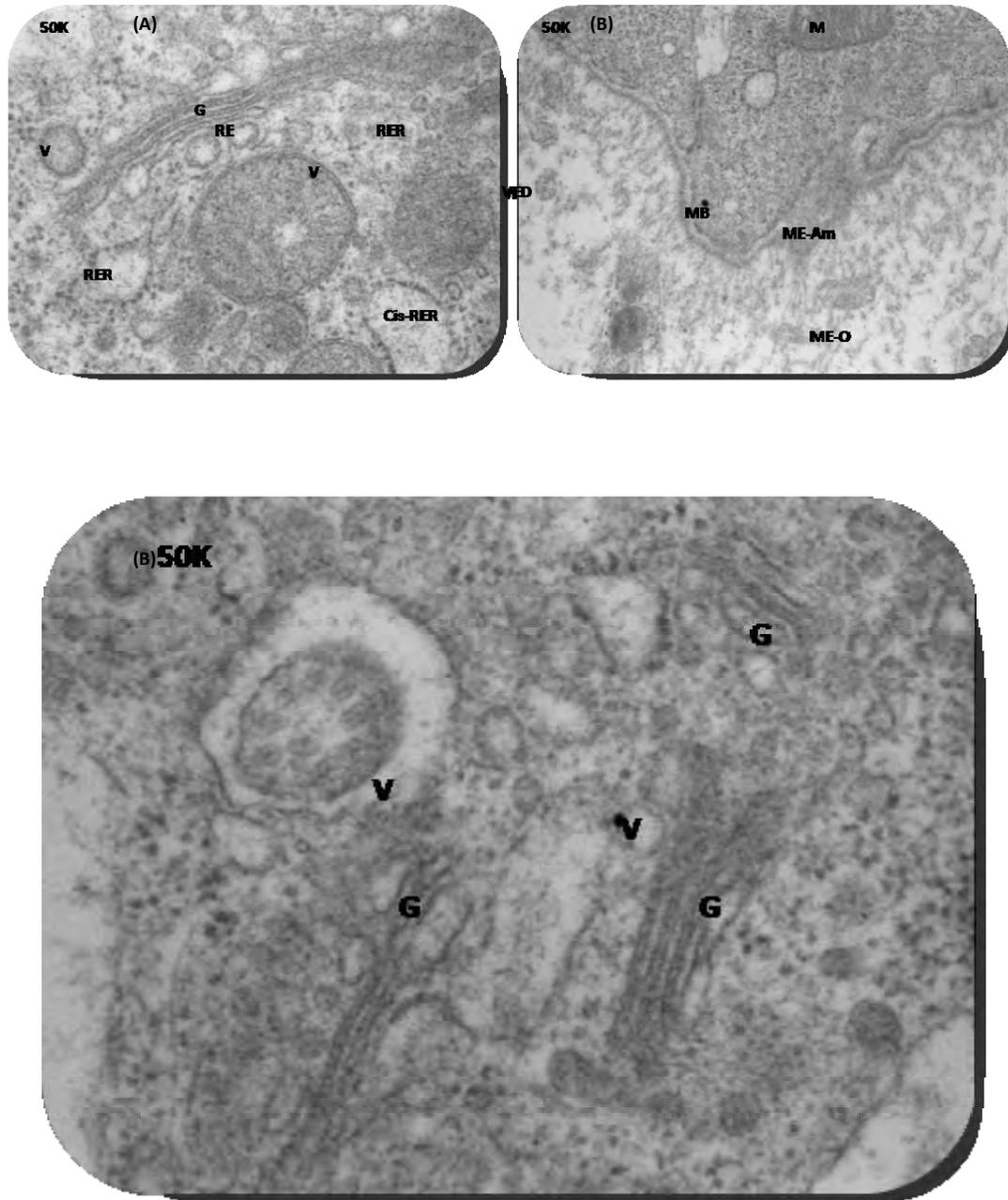


Fig. 13. GRUPO CONTROL. ORGANELOS DENTRO DEL CITOSOL a 50,000 aumentos. Los organelos contenidos en el citoplasma (Ci) son básicamente retículo endoplasmático liso (REL) y polirribosomas (PR). Núcleo (N), retículo

endoplasmático rugoso (RER), vesículas mixtas (VMix), uniones intercelulares (UI), Golgi (G), mitocondria (M), matriz extracelular (ME). El proceso de Tomes se forma con el contenido de RER, G, M y algunas vesículas.

### **3.1.2 Grupo experimental de 5%.**

En este grupo experimental se encontraron pocos cambios ultraestructurales en comparación con el grupo control, la observación a 2,500 aumentos mostró células columnares, con núcleo ovoide céntrico de bordes mal delimitados dentro del citoplasma celular; con dos polos como en el grupo control, un polo secretor o región basal (RB) y otro polo o región distal (RD). La relación núcleo citoplasma (N:C) fue de 2:1; no se presenta con frecuencia el nucléolo (No). En la cúspide del molar (zona de mayor desarrollo celular en el EI), las células se encontraron con retraso en su proceso de diferenciación, con poca o nula producción de matriz extracelular. Las uniones intercelulares (UI) se encontraron presentes. Los preameloblastos (PrAm) se encontraron relacionados hacia la papila dental con la membrana basal (MB), en la RD en contacto con las CEI (Fig. 14). La pérdida de la forma del núcleo fue otra característica importante, así como, su posición central en lugar de estar polarizado. Los organelos celulares no están distribuidos en forma normal en el citoplasma (Fig. 15).

### **3.1.3 Grupo experimental de 10%.**

Las células del EI se observaron de forma columnar, con núcleo amorfo céntrico y mal delimitado; solo por la relación anatómica de la célula con la membrana basal se pudieron identificar los dos polos, como en los dos grupos anteriores (RB y RD). La relación núcleo citoplasma (N:C) fue 1:1; no se encontró nucléolo (Fig. 16). En la cúspide del molar, las células se encontraron indiferenciadas, pero presentaron uniones intercelulares (UI). No hay matriz extracelular en la porción secretora del preameloblasto. Esto permite establecer el daño de los preameloblastos por su falta de desarrollo y diferenciación, esto se constata con la observación a 5000 aumentos en donde se apreciaron 5 células por campo, lo cual no fue posible de ver en el grupo control. El núcleo no tuvo forma definida y

tampoco estaba polarizado. Los organelos celulares se encontraron distribuidos en todo el citoplasma con alteraciones en tamaño y forma (Fig. 17; Tabla 7).

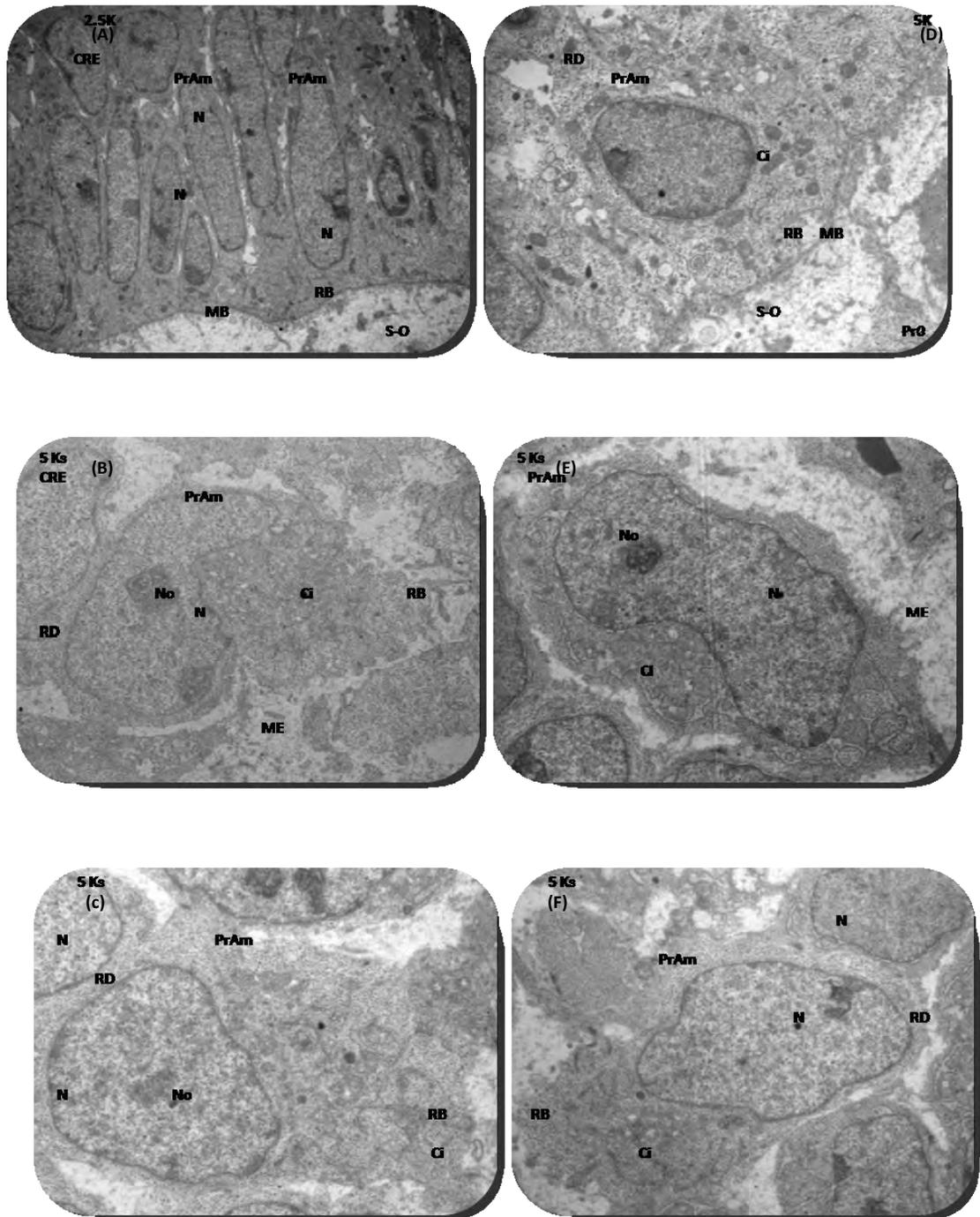


Fig. 14. GRUPO EXPERIMENTAL 5%. A) 2,500 aumentos Y B)-F) a 5,000 aumentos. Las células en estudio se definen como preameloblastos (PrAm). Células del retículo estrellado (CRE), región basal o secretoria (RB), región distal (RD), retículo endoplasmático rugoso (RER), núcleo (N), citoplasma (Ci), secreción del odontoblasto (S-O), nucléolo (No), membrana basal (MB), prolongaciones citoplasmáticas del odontoblasto (PrO), matriz extracelular (ME).

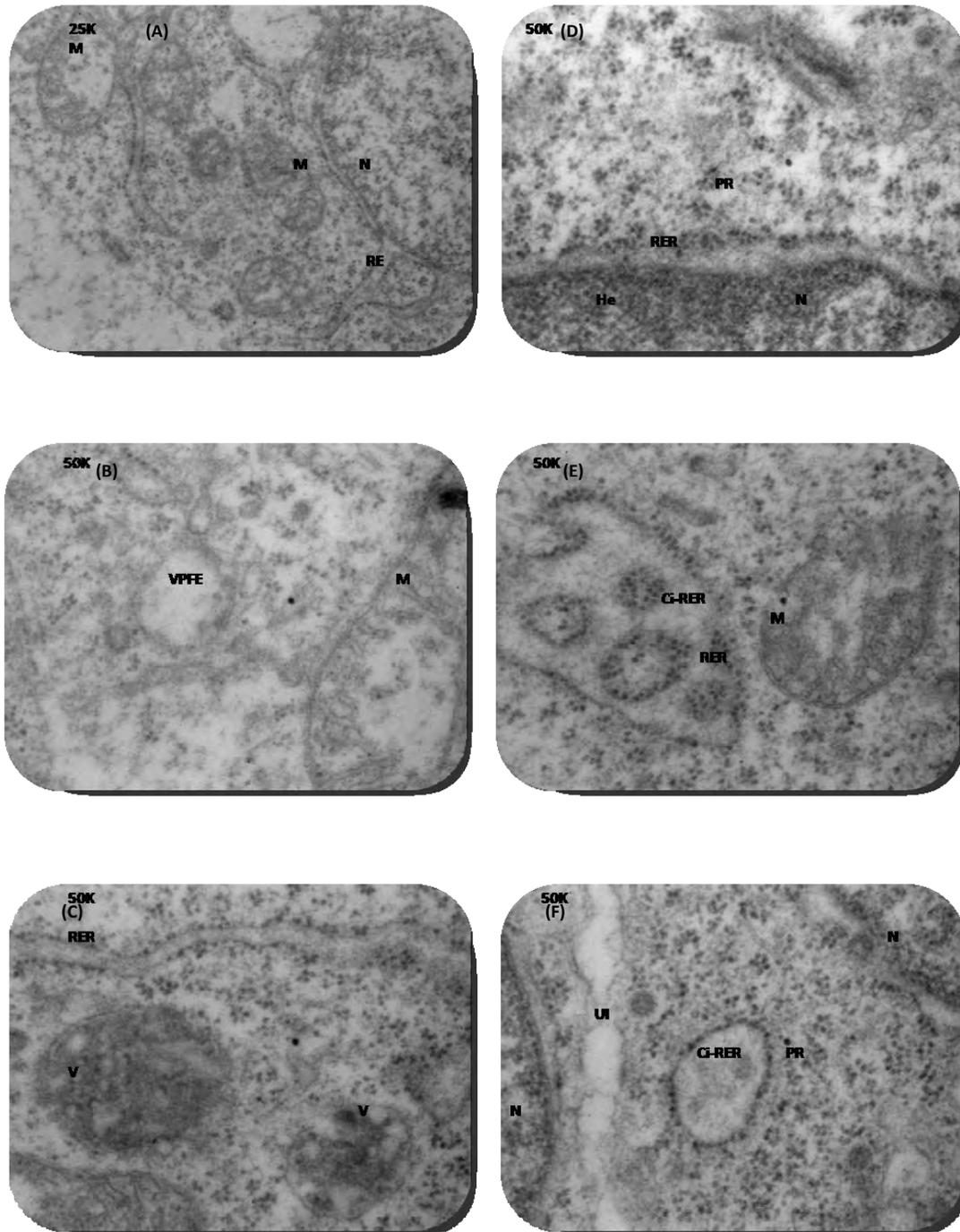


Fig. 15. GRUPO EXPERIMENTAL 5% a 50,000 aumentos y 25Ks. Diferentes organelos interactuando en el citosol (Ci). Mitochondria (M), núcleo (N), polirribosomas (PR), retículo endoplasmático rugoso (RER), cisternas del RER (Ci-RER), heterocromatina (He), vesículas permeables al flujo de electrones (VPFE), uniones intercelulares (UI), polirribosomas (PR).

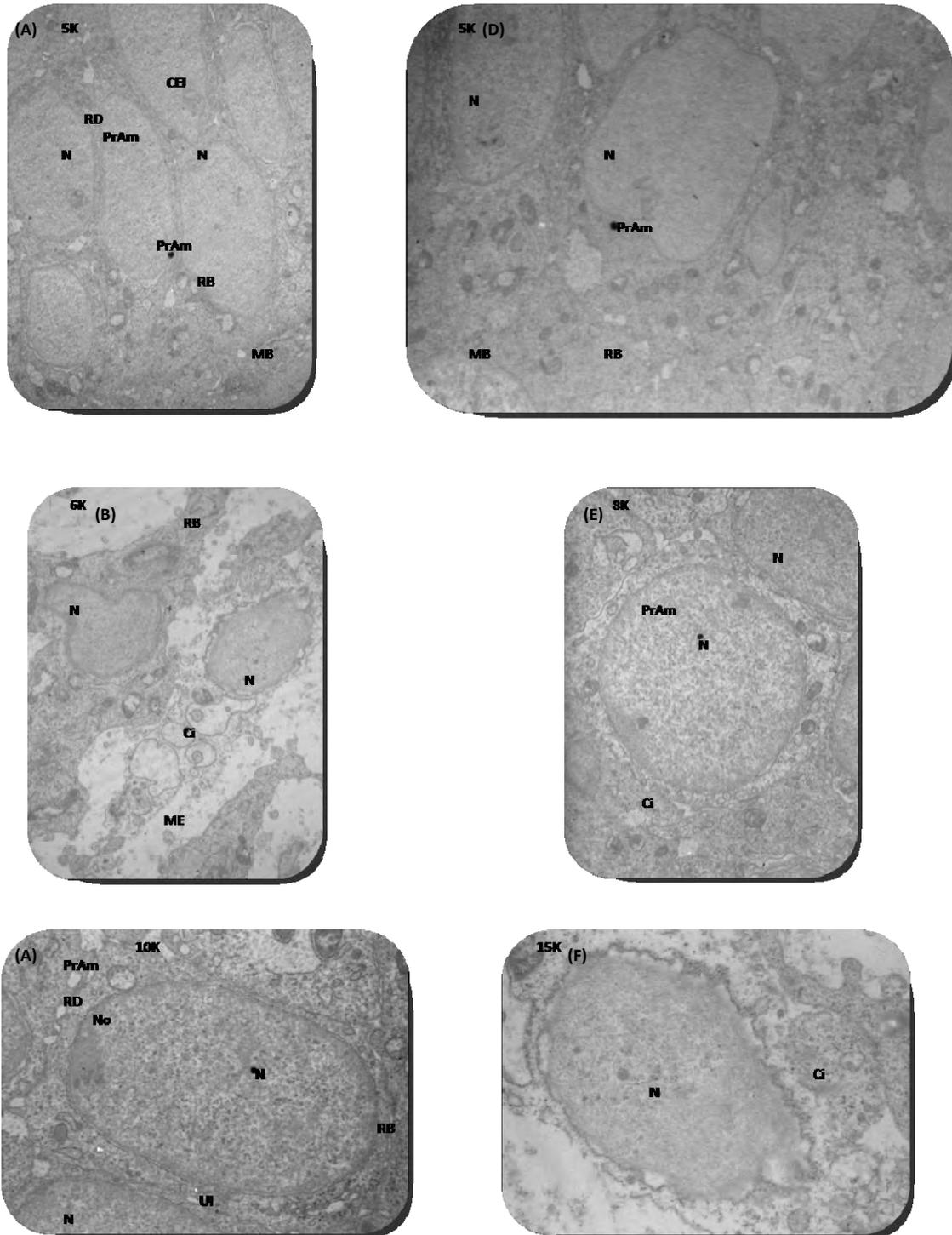


Fig. 16. GRUPO EXPERIMENTAL 10%. Los preameloblastos (PrAm) característicos de este grupo contienen un gran núcleo. Células del estrato intermedio (CEI), núcleo (N), región basal o secretora (RB), región distal (RD), células del retículo estrellado (CRE), membrana basal (MB), matriz extracelular (ME), citoplasma, N: núcleo (Ci), nucléolo (No), unión intercelular (UI).

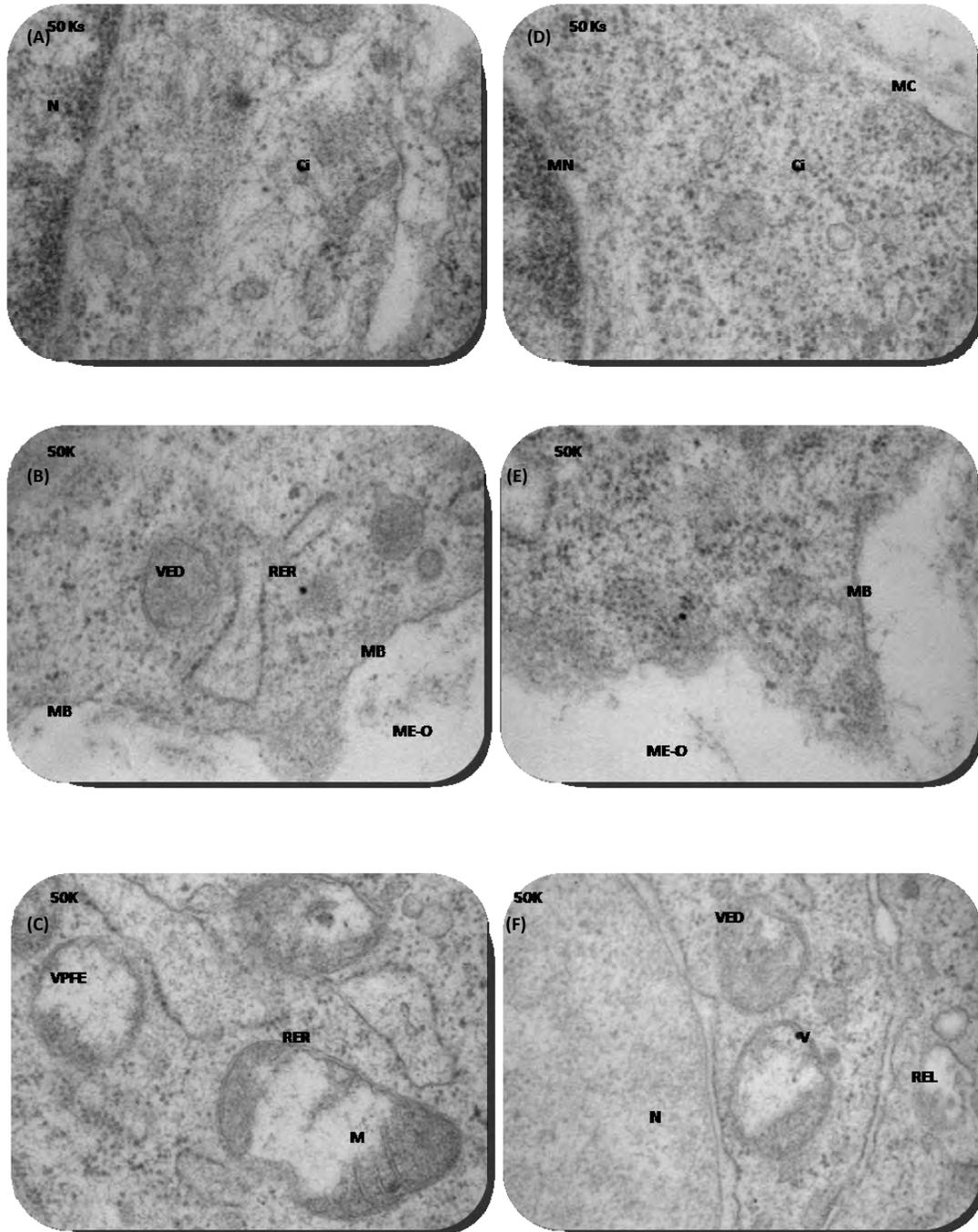


Fig. 17. GRUPO EXPERIMENTAL 10% a 50,000 aumentos. Se puede observar el citoplasma (Ci) vesículas (V) y polirribosomas (PR), pero pocos organelos incluidos dentro del C. núcleo (N), membrana citoplasmática (MC), retículo endoplasmático (RE), RE rugoso (RER), RE liso (REL), vesículas electrodensas (VED), vesículas permeables al flujo de electrones (VPFE), membrana basal (MB), matriz extracelular del odontoblasto (ME-O), mitocondria (M).

### 3.1.4 Grupo experimental de 15%.

En las observaciones realizadas con microscopía fotónica se encontró el germen dental de este grupo experimental en etapa de brote. Las células de la lámina dental no se encontraron diferenciadas, también no han formado el EI y el EE; por lo anterior las células son indiferenciadas y derivadas del ectodermo bucal por una invaginación al mesénquima. Las características celulares son de células de la lámina dental (CLD) del germen dental en brote (Fig. 18). Las CLD son poliédricas, con núcleo amorfo y mal definido; no se pudo definir la RB y la RD, sin embargo, la orientación se identificó por la MB y por células de la papila dental (PD). La relación núcleo citoplasma (N:C) es de 1:1; sin No. No se observó producción de matriz extracelular. Las interacciones entre célula y célula son por uniones intercelulares (UI). Las CLD de este grupo se encontraron en íntima relación con la papila dental por medio de la MB, en el área de lo que correspondería a la RD estuvieron en íntimo contacto con las células del propio ectodermo. En un campo de 5,000 aumentos se observaron de 6 a 10 células por campo. El núcleo no tiene forma definida y no se encontró polarizado. Los organelos celulares se vieron distribuidos en todo el citoplasma en forma desorganizada (Fig. 18; Tabla 7).

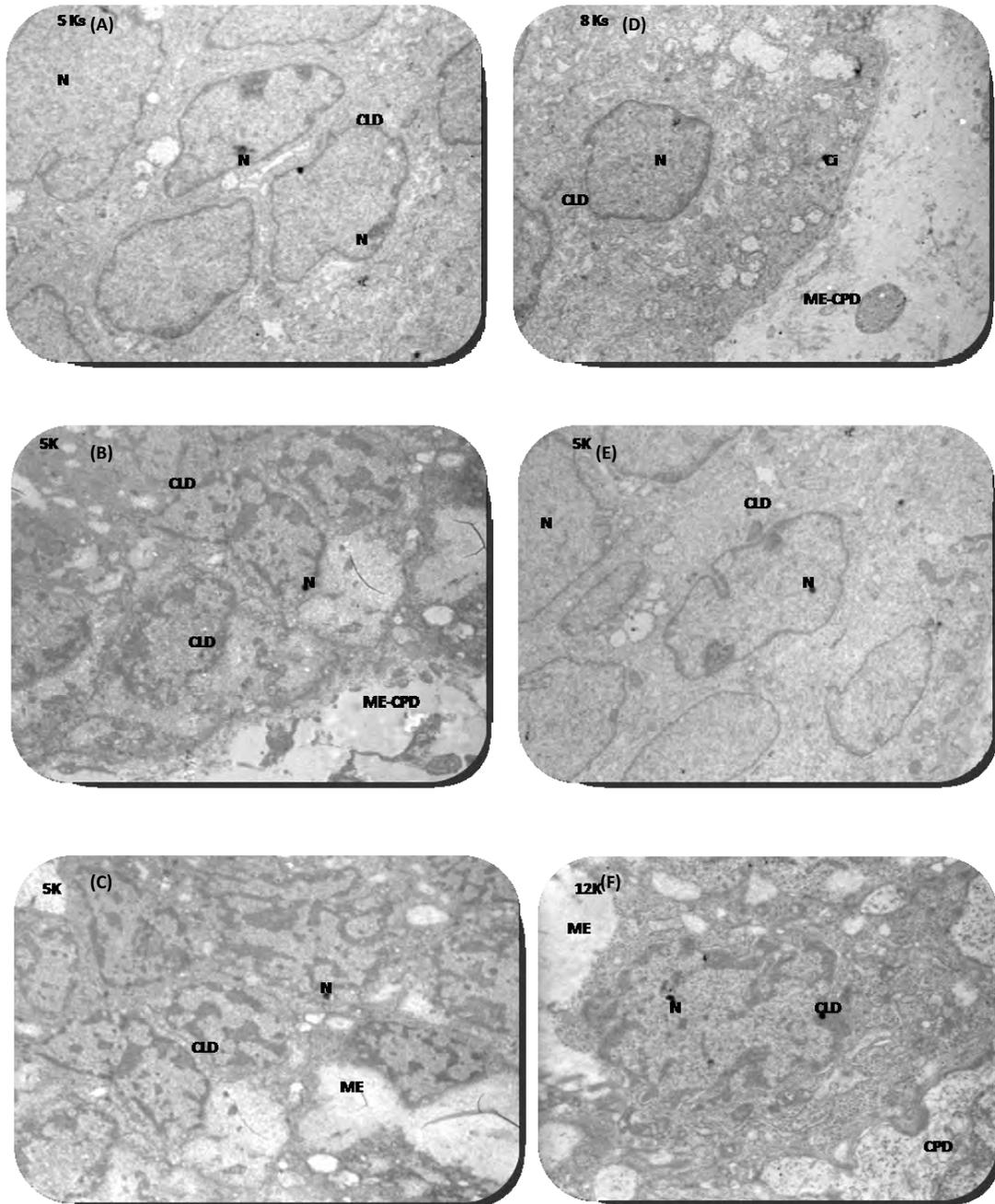


Fig. 18. GRUPO EXPERIMENTAL 15% CUERPO CELULAR a 5,000 aumentos. Células de la lamina dental (CLD) mal diferenciadas y desarrolladas con alteraciones en sus organelos a consecuencia del EG y el MC. N: núcleo, ME-CPD: matriz extracelular de las células de la papila dental. Células de la lámina dental (CLD); se pueden observar más de 6 células por campo en las fotomicrografías.

## **3.2 NÚCLEO.**

### **3.2.1 Grupo control.**

El núcleo es el organelo celular más grande presente en las células estudiadas. Mostró dos membranas la interna y la externa, cada una constituida por una bicapa fosfolipídica; la membrana interna generalmente estuvo acompañada por heterocromatina (cromatina compacta) y rodeaba parcialmente a la membrana interna del núcleo. La membrana externa conformó de forma parcial la envoltura nuclear debido a que el RER formó también parte de la envoltura, por lo que se encontró íntimamente relacionada con el RER (Fig. 19). La membrana externa del N se describirá con el RER debido a su relación. Se encontró un nucléolo por cada núcleo. La eucromatina, que contiene el material genético de forma extendida o laxa conforma el resto de los espacios nucleares. Se pudo observar la integridad del núcleo celular en interface, el nucléolo y la membrana nuclear (MN), la presencia de poros nucleares, compuesto por proteínas propias de la membrana nuclear de tipo anillo. El nucléolo (No) está compuesto por rRNA, algunos gránulos de heterocromatina y eucromatina que rodearon al nucléolo (Fig. 19).

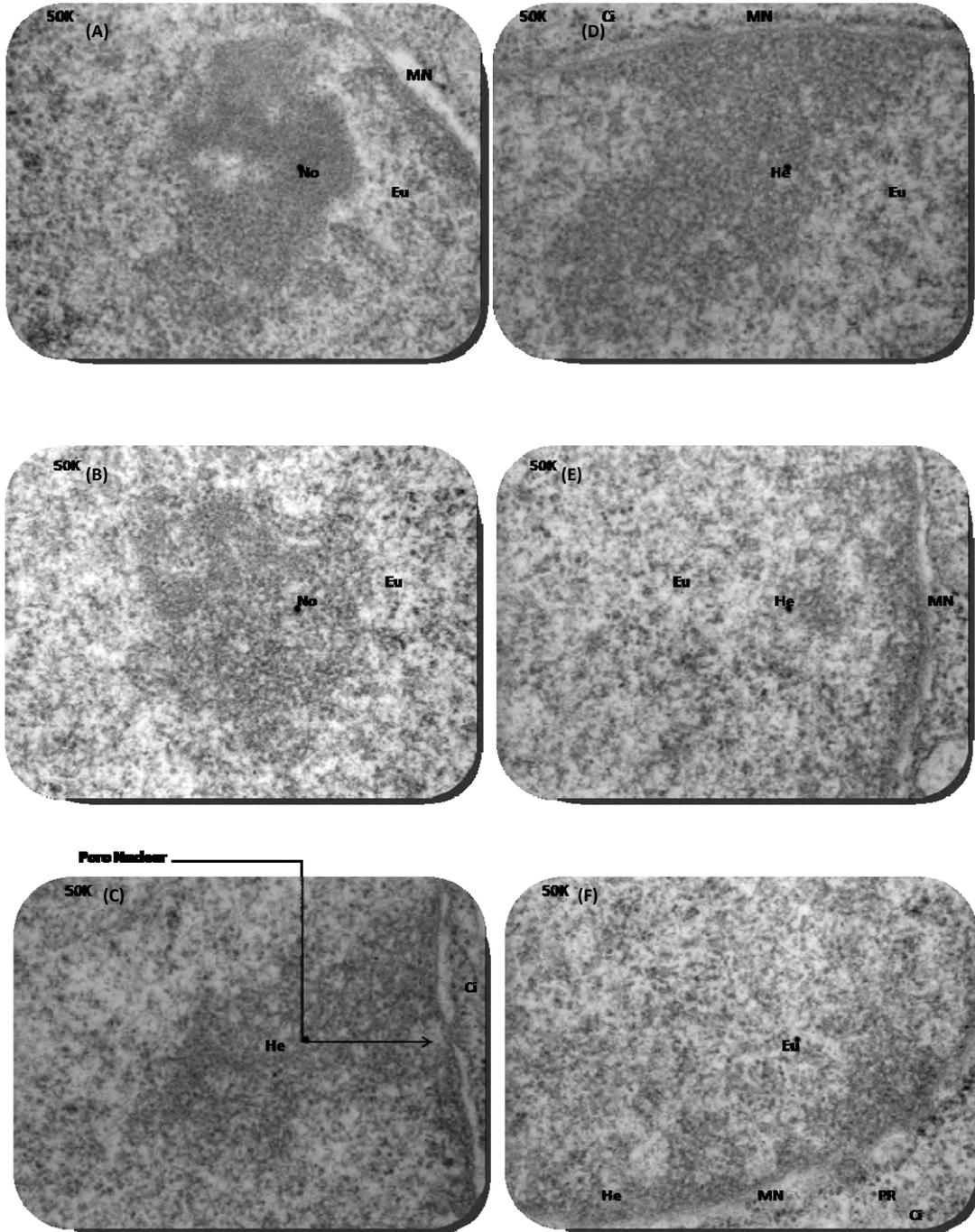


Fig. 19. GRUPO CONTROL A 50,000 AUMENTOS, NÚCLEO, NUCLEÓLO Y MEMBRANA NUCLEAR. Se observa la relación de la heterocromatina (HE) con la eucromatina (EU), la presencia de un poro nuclear en el panel C). Membrana nuclear (MN), citoplasma (Ci), nucléolo (No), polirribosomas (PR), poro nuclear (PN).

### 3.2.2 Grupo experimental 5%.

En este grupo se observaron cambios leves en la morfología nuclear. Como en él, los núcleos tendieron a ser ovoides en la región cuspídea, mientras que los núcleos de los preameloblastos de las fosas dentales no tienen una forma definida. Está constituido por dos membranas la interna y la externa; la membrana interna se relacionó pobremente con la heterocromatina (cromatina compactada) y recubrió el resto del material genético de la célula, también la heterocromatina rodeó parcialmente al nucléolo. La membrana externa se relacionó íntimamente con el RER y REL en dirección a la RB y puede llegar a formar grandes espacios (Fig. 20); se encontró como hallazgo importante dilataciones en la membrana nuclear que no se presentaron en las células del grupo control, correspondiendo a cisternas entre las dos membranas nucleares y por lo cual la envoltura nuclear estaba dilatada; también se observó una fusión de la MN con las membranas del RER (Fig. 20). Se encontró un nucléolo por cada núcleo. El material genético distribuido en el núcleo está constituido principalmente por eucromatina, mientras que la heterocromatina estaba presente en poca cantidad en las áreas periféricas del núcleo. Todos los núcleos que se estudiaron en este grupo se encontraron en estadio de interface del ciclo celular. Las dos envolturas de la membrana nuclear formaron los poros nucleares, los cuales no fueron muy frecuentes en los núcleos de los pre-ameloblastos de este grupo experimental.

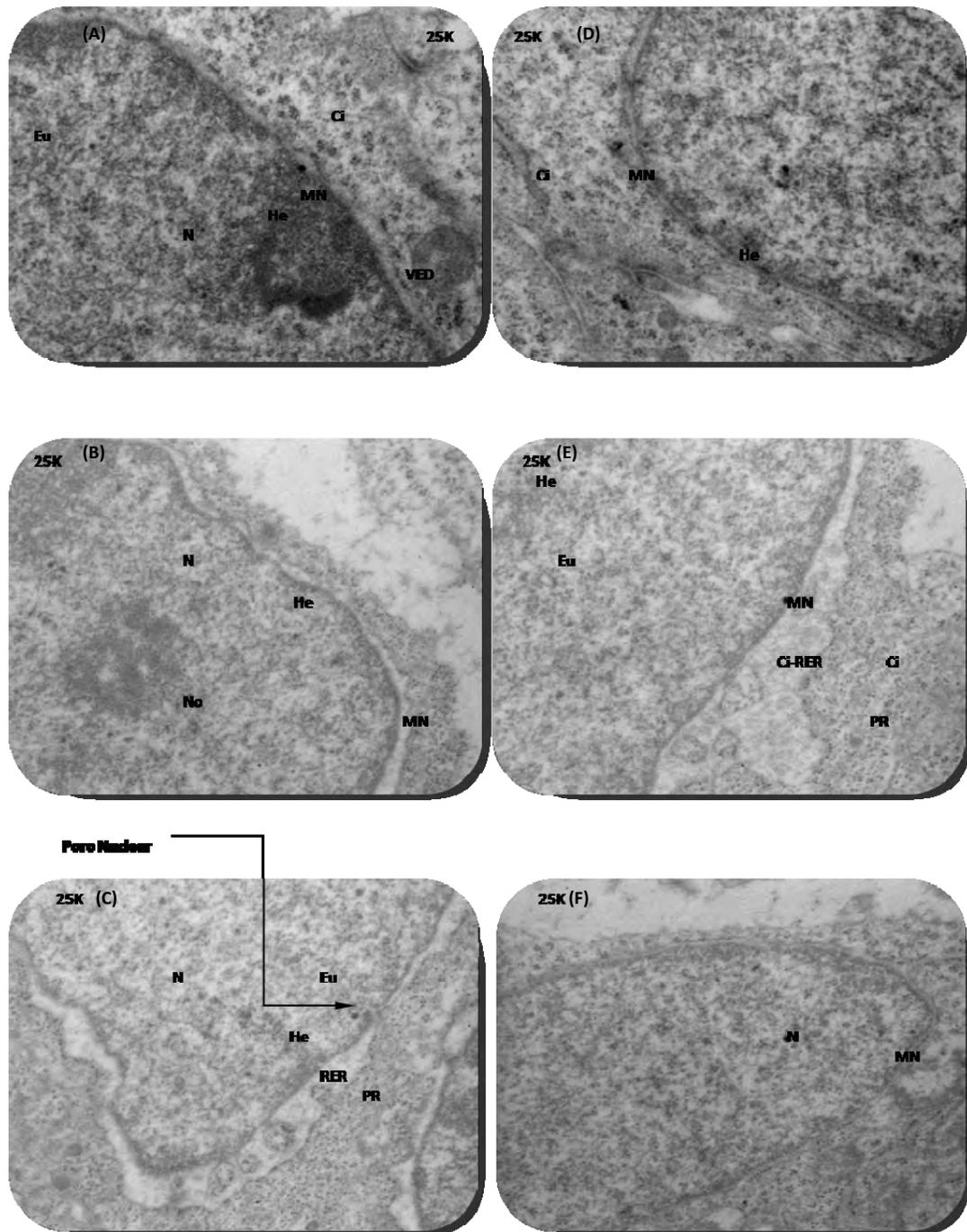


Fig. 20. GRUPO EXPERIMENTAL 5%, NÚCLEO A 25,000 aumentos. Se puede observar el inicio de daño porque la membrana nuclear externa (MNE) se separa de la membrana nuclear interna (MNI) muy marcado en el panel E). Membrana nuclear (MN), heterocromatina (He), eucromatina (Eu), núcleo (N), nucléolo (No), citoplasma (Ci), vesículas electrodensas (VED), polirribosomas (PR), retículo endoplasmático rugoso (RER).

### 3.2.3 Grupo experimental 10%.

La morfología nuclear a 50,000 aumentos mostró la presencia de las membranas interna y externa. A partir de las concentraciones administradas al grupo de 10% en adelante, se presentaron diferentes daños a nivel nuclear y en algunos núcleos celulares no se pudo diferenciar la eucromatina de la cromatina condensada (Fig. 21); en el resto de las células, la cromatina laxa ocupó un campo de visualización más grande que el de la heterocromatina, por lo cual la cromatina condensada quedó delimitada a pequeñas áreas del núcleo. La membrana interna del núcleo no se encontró en relación con la heterocromatina. La membrana externa se relacionó con los REL y RER en dirección al citoplasma formando grandes cisternas. La dilatación de la membrana nuclear fue más evidente en este grupo experimental que en el de 5%, esta dilatación se presentó en todas las células de estudio del presente grupo. No fue frecuente encontrar nucléolos. Todos los núcleos que se estudiaron en el grupo del 10%, se encontraron en interface dentro del ciclo celular (Fig. 21).

### 3.2.4 Grupo experimental 15%.

En el núcleo no se pudo diferenciar claramente la eucromatina de la cromatina condensada. La cromatina laxa ocupó un campo de visualización más grande que el de la heterocromatina, la cromatina condensada quedó delimitada a pequeñas áreas del núcleo. La membrana nuclear sufrió invaginaciones al interior del núcleo (Fig. 22). La membrana externa estaba relacionada con los REL y RER formando grandes cisternas. La dilatación de la membrana nuclear fue más evidente en este grupo experimental que en el de 5% y 10%, esta dilatación se presentó en todas

las células de estudio del presente grupo (Fig. 22). Las células de este grupo de estudio se encontraron en interface.

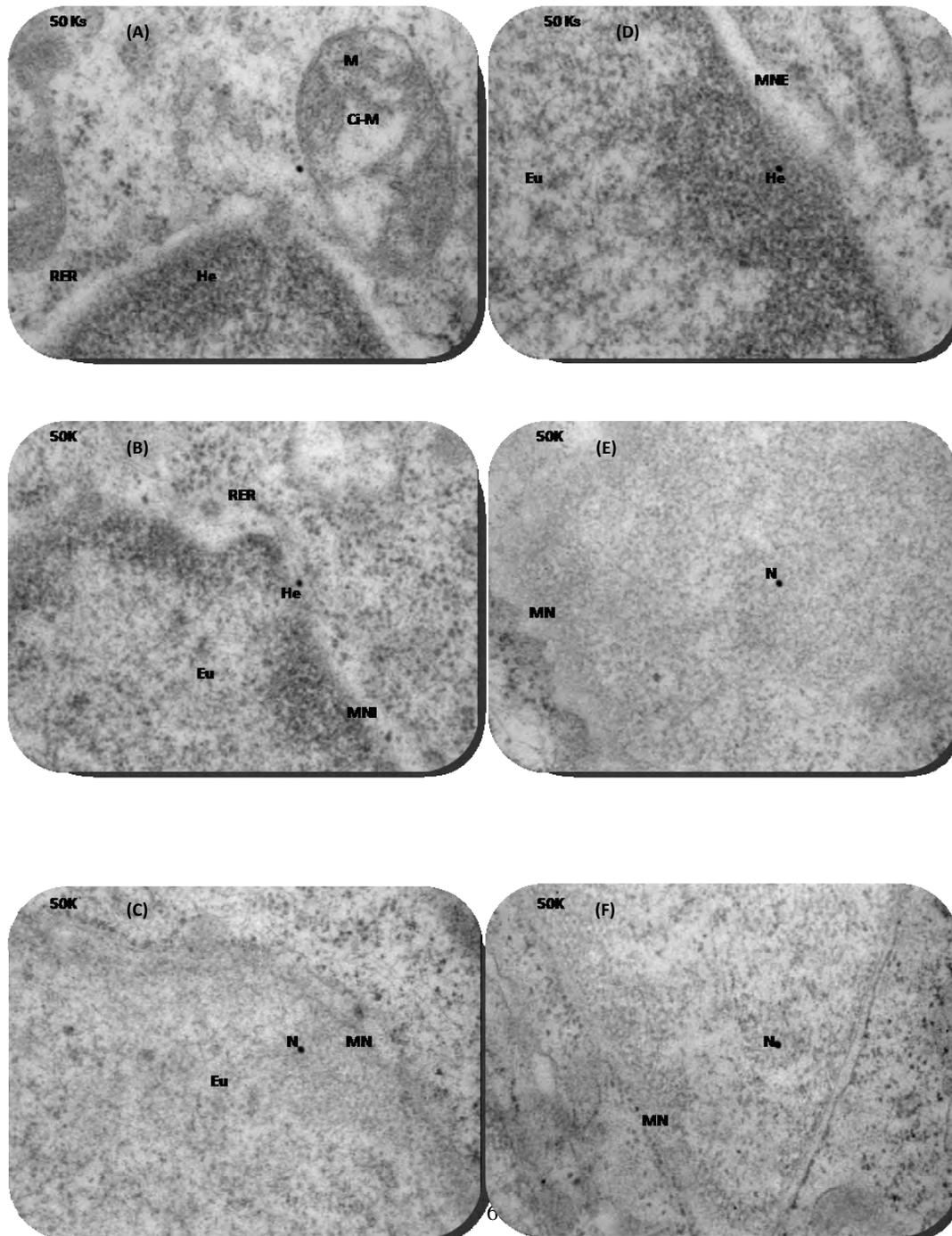


Fig. 21. GRUPO EXPERIMENTAL 10% NÚCLEO CELULAR a 50,000 aumentos. La heterocromatina (He) se observa con poca frecuencia y es más visible la eucromatina (Eu). Núcleo (N), membrana nuclear (MN), MN externa (MNE), MN interna (MNI), mitocondria (M), cisterna de la M (Ci-M), retículo endoplasmático rugoso (RER).

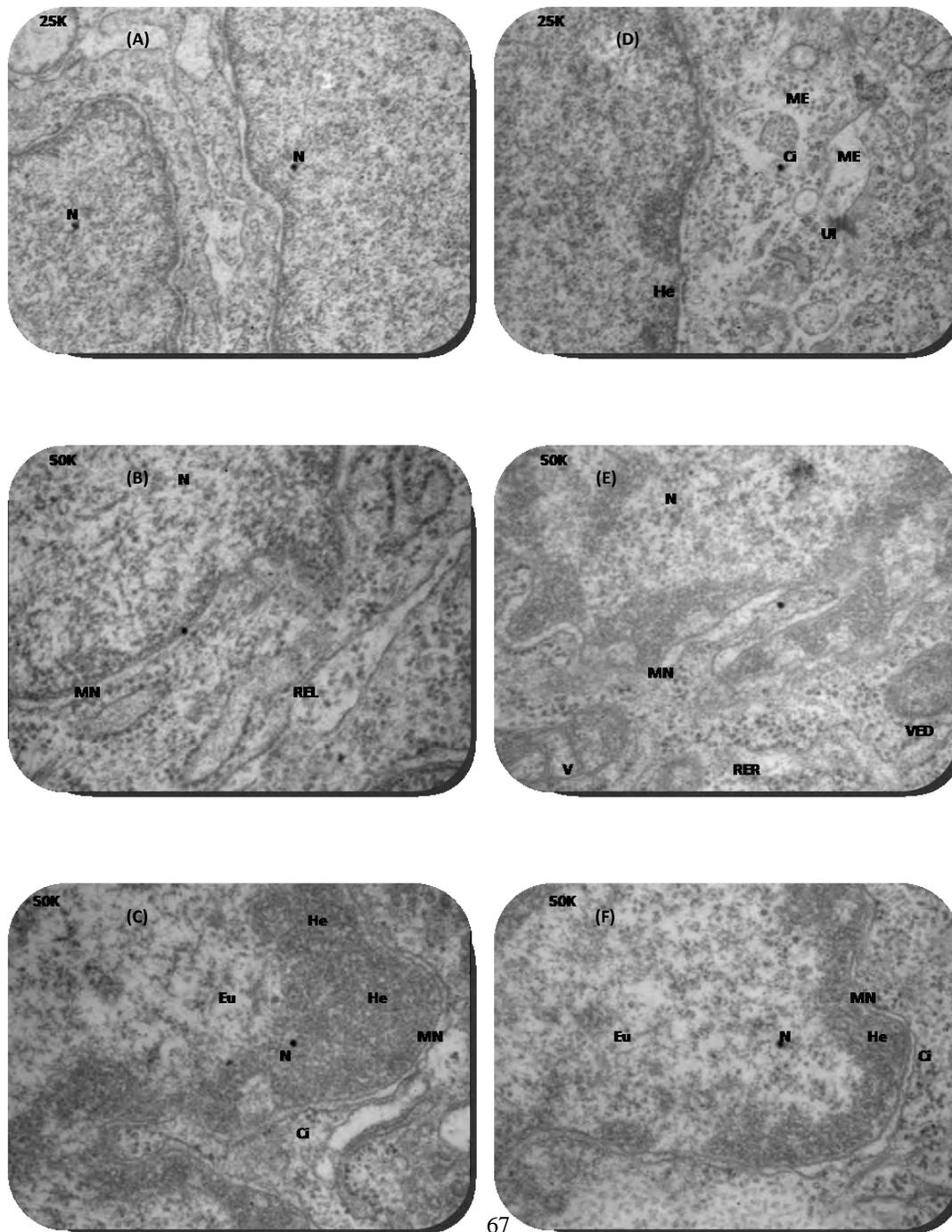


Fig. 22. GRUPO EXPERIMENTAL 15% núcleo. El contenido nuclear se hace difuso, en la fotomicrografía A) se demuestra la dificultad para distinguir la eucromatina del a heterocromatina. Núcleo (N), heterocromatina (He), eucromatina (Eu), matriz extracelular (ME), unión intercelular (UI), retículo endoplasmático rugoso (RER), vesículas electrodensas (VED), citoplasma (Ci).

### **3.3RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO.**

#### **3.3.1 Grupo control.**

La membrana nuclear externa contiene abundante cantidad de ribosomas (Fig. 21) y en pocas ocasiones se fusiona con el retículo endoplasmático rugoso sin embargo se observo una relación próxima entre las cisternas del RER (Cis-RER) con la membrana nuclear externa (MNE) (Fig. 23). Las redes formadas por los retículos endoplasmáticos parten desde el núcleo y se dirigen por todo el citoplasma hacia las dos porciones de la célula (basal y distal), en algunas situaciones se relacionó con la membrana citoplasmática fue frecuente ver la fusión de membranas en la región distal de la célula. El REL fue poco frecuente en este grupo y se caracterizó por no presentar ribosomas sobre su superficie, sin embargo se continuó siempre con el RER que presentó ribosomas adheridos a su superficie; el RER llego a formar una unidad con el REL. Las redes del RER contenían cisternas en donde se inició la producción de proteínas, por lo anterior las Cis-RER presentaron proteínas inmaduras. Estas cisternas presentaron dos morfologías: reticulares en forma de red (Fig. 23, panel A)) y semicirculares (Fig. 23 panel D)). El RER envolvía de forma semicircular a sus cisternas tomando la apariencia de una gran vesícula, sin embargo, se observaron ribosomas que se encontraron dispuestos sobre la membrana del RER.

El RE se relacionó, por su localización, por medio de vesículas y con el complejo de Golgi a menudo y cerca. Esta relación es muy importante debido a que las vesículas transportadoras que generan los organelos membranosos, formaron una

interconexión con los diferentes componentes celulares (citoesqueleto, proteínas acarreadoras y organelos celulares membranosos). Para que la célula acarree los productos proteicos de un organelo a otro, utiliza vesículas de transporte, las cuales se describirán en su apartado correspondiente (Tabla 7).

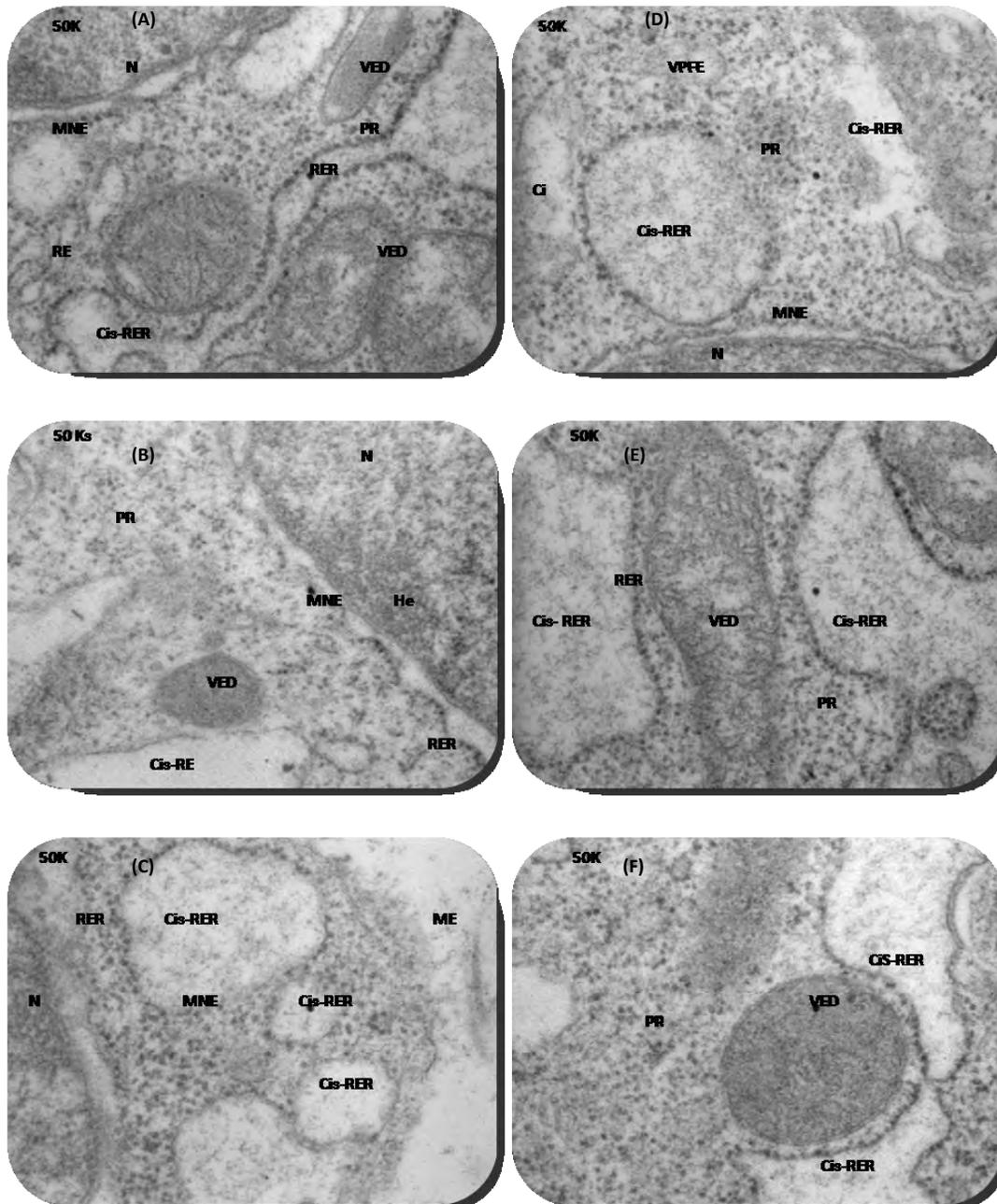


Fig. 23. GRUPO CONTROL, RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO, 50,000 AUMENTOS. Sobresale la presencia de retículo endoplasmático rugoso (RER) del retículo endoplasmático liso (REL). Vesículas electrodensas (VED), vesículas permeables al flujo de electrones (VPFE), cisternas del retículo endoplasmático rugoso (Cis-RER), polirribosomas (PR), membrana nuclear externa (MNE), citoplasma (Ci), heterocromatina (He), núcleo (N).

### 3.3.2 Grupo experimental 5%.

Como se definió en el grupo control, existe una relación de fusión de membranas entre el RE y la MNE en donde se acumulan ribosomas. Las redes del RE parten desde el núcleo y se dirigen por todo el citoplasma hacia las dos regiones celulares, en algunos sitios se encontró en relación con la membrana citoplasmática, fue frecuente ver la fusión de ambas estructuras principalmente en la RD del pre-ameloblasto. El RER también llegó a formar una unidad con el REL (Fig. 24). Las Cis-RER fueron reticulares y semicirculares. En este grupo experimental inició la presencia de poli-ribosomas libres dentro de las Cis-RER (Fig. 24). El RE se encontró distribuido por todo el citoplasma y fue el organelo membranoso más abundante en este grupo experimental, la única relación directa que mantuvo casi de forma constante el RE fue con el núcleo, pero también se encontró próximo a otros organelos celulares, principalmente con el Complejo de Golgi y las vesículas. Esta relación es muy importante debido al tránsito de las vesículas (Tabla 7, Fig. 24).

### 3.3.3 Grupo experimental 10%.

En este segundo grupo experimental se encontró fusión marcada y extensa (C) entre las membranas del RE y la MNE con sobre-posición de ribosomas. La presencia de REL fue de forma abundante y equiparable en cantidad al RER. En las Cis-RER había proteínas inmaduras. El RE ya no se encontró envolviendo de forma semicircular a sus cisternas y por lo cual adquirió solo la forma reticular con aspecto irregular y sin orientación definida. La presencia de ribosomas libres

dentro de las cisternas de los RER fue común de observar (Fig. 25). El RE se distribuyó ampliamente por todo el citoplasma y de nuevo fue el organelo más abundante para el grupo experimental de 10%, la única relación directa que mantuvo fue con el núcleo.

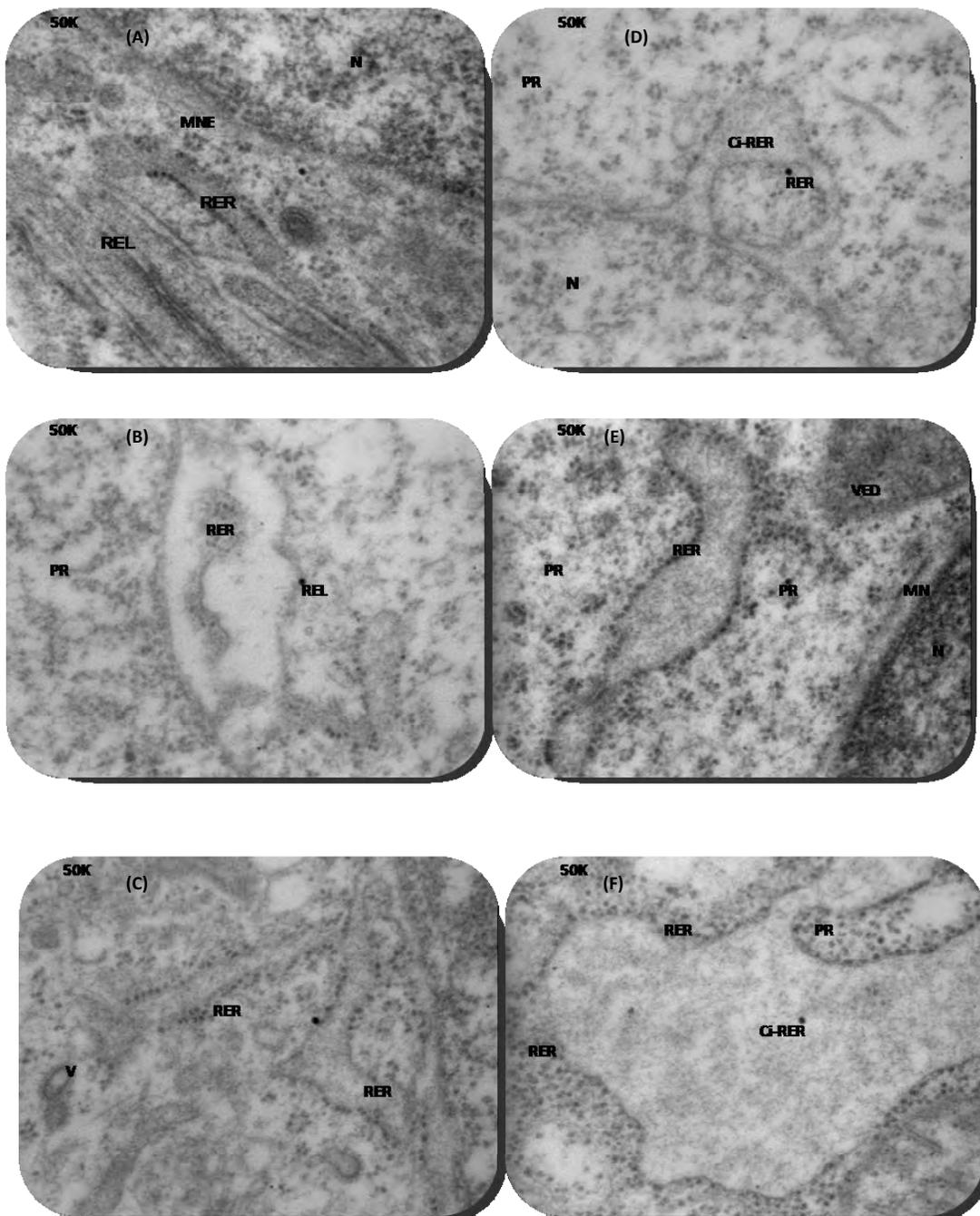


Fig. 24. GRUPO EXPERIMENTAL 5% RETICULO ENDOPLÁSMICO a 50,000 aumentos. Este organelo generalmente se fusiona constantemente con la membrana nuclear externa (MNE) como se observa en el panel D). Poli-ribosomas (PR), retículo endoplasmático rugoso (RER), cisternas del RER (Cis-RER), retículo endoplasmático liso (REL), vesículas electrodensas (VED).

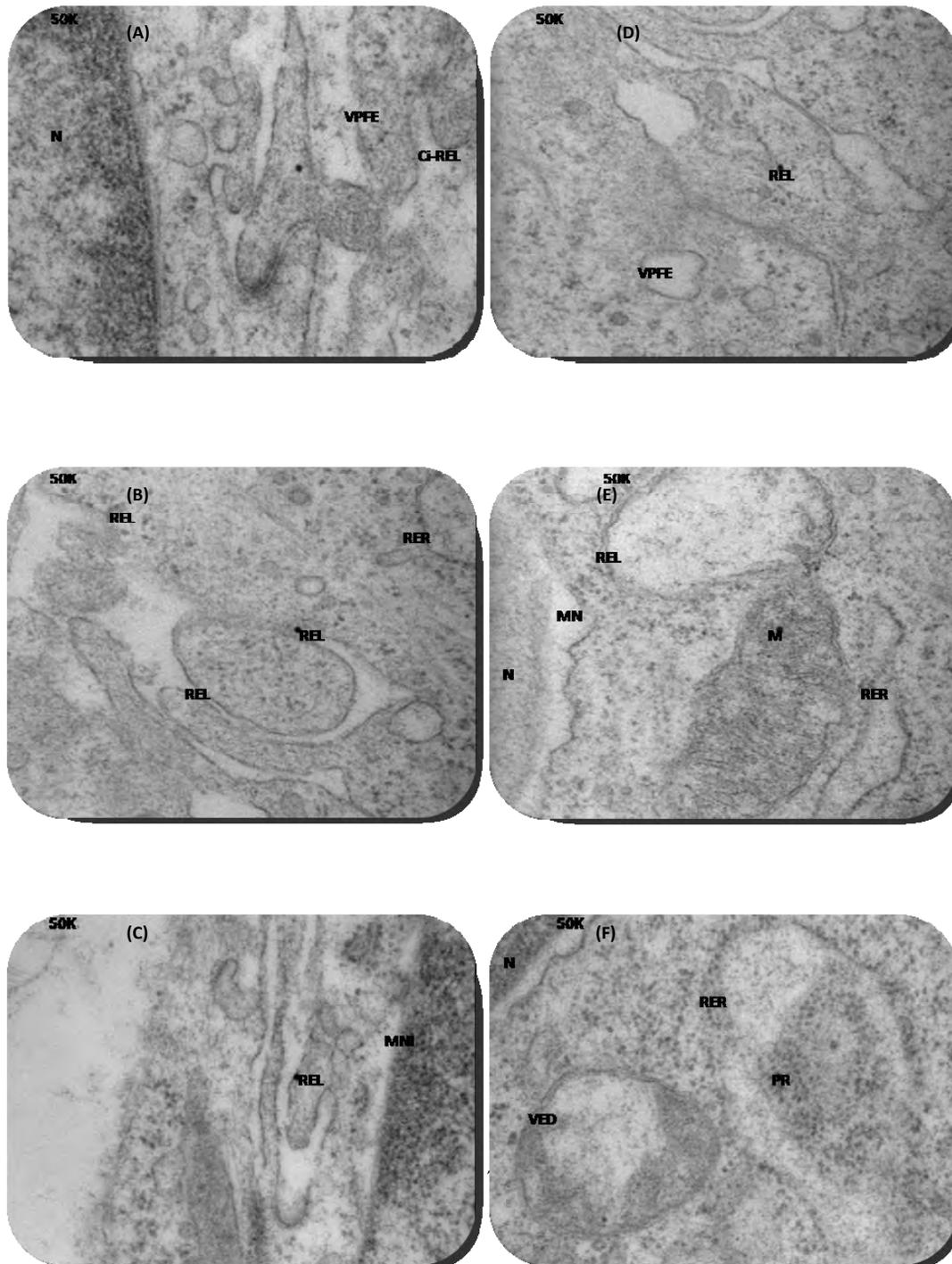


Fig. 25. GRUPO EXPERIMENTAL 10% RETÍCULO ENDOPLÁSMICO a 50,000 aumentos. En este grupo sobresale el retículo endoplasmático liso (REL), mientras que el retículo endoplasmático rugoso está desapareciendo (RER). Núcleo (N), vesículas permeables al flujo de electrones (VPFE), vesículas electrodensas (VED), cisternas del REL (Cis-REL), membrana nuclear (MN), MN interna (MNI), mitocondria (M).

#### **3.3.4 Grupo experimental 15%.**

Es importante hacer notar que en este grupo experimental el REL fue el tipo de RE que predominó, en este caso se encontró la fusión entre las membranas del REL y la MN a diferencia de los otros grupos en donde se encontró la unión del RER con la MN (Fig. 26). En las Cis-REL se encontraron embebidos algunos poli-ribosomas. La presencia de ribosomas libres dentro de las cisternas del REL, en el escaso RER y en algunas vesículas fue común (Fig. 26). La única relación anatómica ultraestructural que mostró el RE fue con el núcleo (Tabla 7).

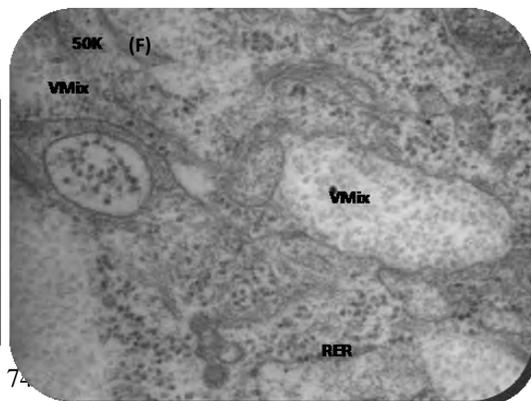
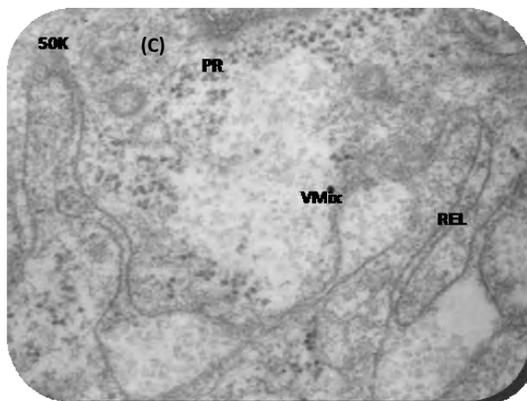
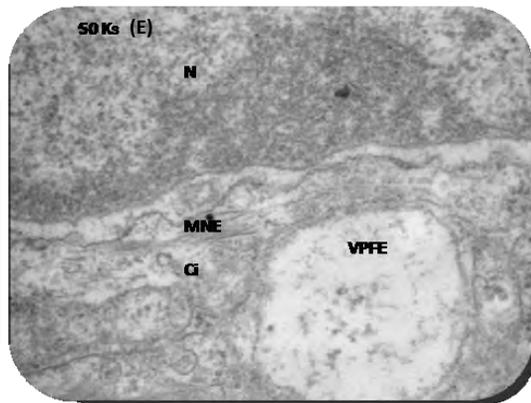
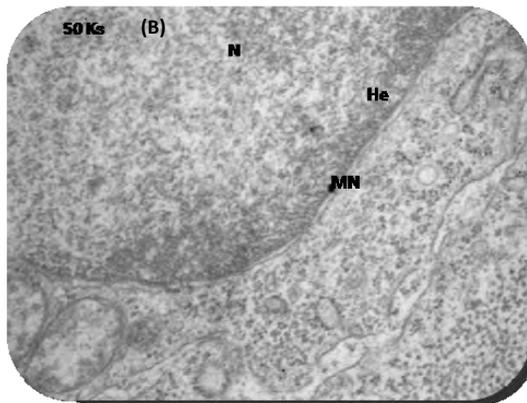
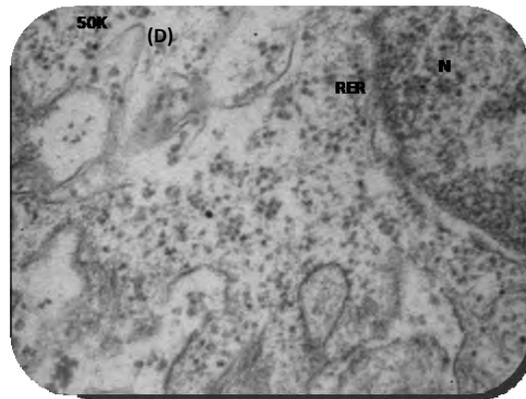
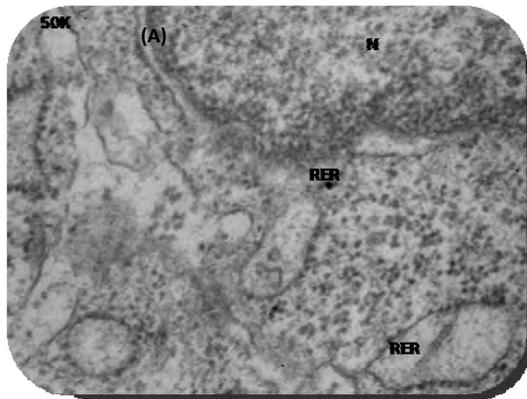


FIG. 26. GRUPO EXPERIMENTAL 15% RETICULO ENDOPLÁSMICO a 50,000 aumentos. El retículo endoplasmático liso (REL) es abundante y envuelve vesículas con poli-ribosomas (PR) libres dentro de sus cisternas (Cis). Retículo endoplasmático rugoso (RER), núcleo (N), citoplasma (C), heterocromatina (He), membrana nuclear externa (MNE), vesículas permeables al flujo de electrones (VPFE), vesículas mixtas (VMix).

### **3.4 APARATO DE GOLGI.**

#### **3.4.1 Grupo control.**

El complejo del Golgi se encontró muy cercano al núcleo (Fig. 27) y con dirección a la RB de la célula. El complejo fue dividido en tres áreas que fueron las cisternas cis, mediales y trans. Este organelo celular siempre estuvo rodeado por vesículas de dos naturalezas, unas de ellas impedían el paso del flujo de electrones a través de ella por lo que se denominaron vesículas electrodensas (VED) y las otras por lo contrario fueron vesículas que permitieron el flujo de electrones (VPFE). Otra relación anatómica importante y frecuente que presentó el complejo de Golgi fue con el RER, en algunas situaciones el RER envolvía de forma circular a sus propias cisternas aparentando ser una gran vesícula (Fig. 27). Los complejos de Golgi cercanos al núcleo no presentaron gran acumulo de vesículas mientras aquellos localizados en dirección a la RB de la célula mostró mayor número de vesículas en su periferia. Así como también, la organización rudimentaria del Golgi cercano al núcleo presentó la formación de dos a tres cisternas, siendo imposible diferenciar las porciones cis, medial y trans del Golgi (Fig. 27); en tanto que en la parte localizada hacia la RB se diferencio la madurez del Golgi a través del reconocimiento de la porción cis en contacto directo con RER, las cisternas del Golgi que conformaron la parte media y una porción trans donde se involucraron gran cantidad de vesículas con diferentes destinos, principalmente en dirección a la RB de la célula (Tabla 7, Fig. 27).

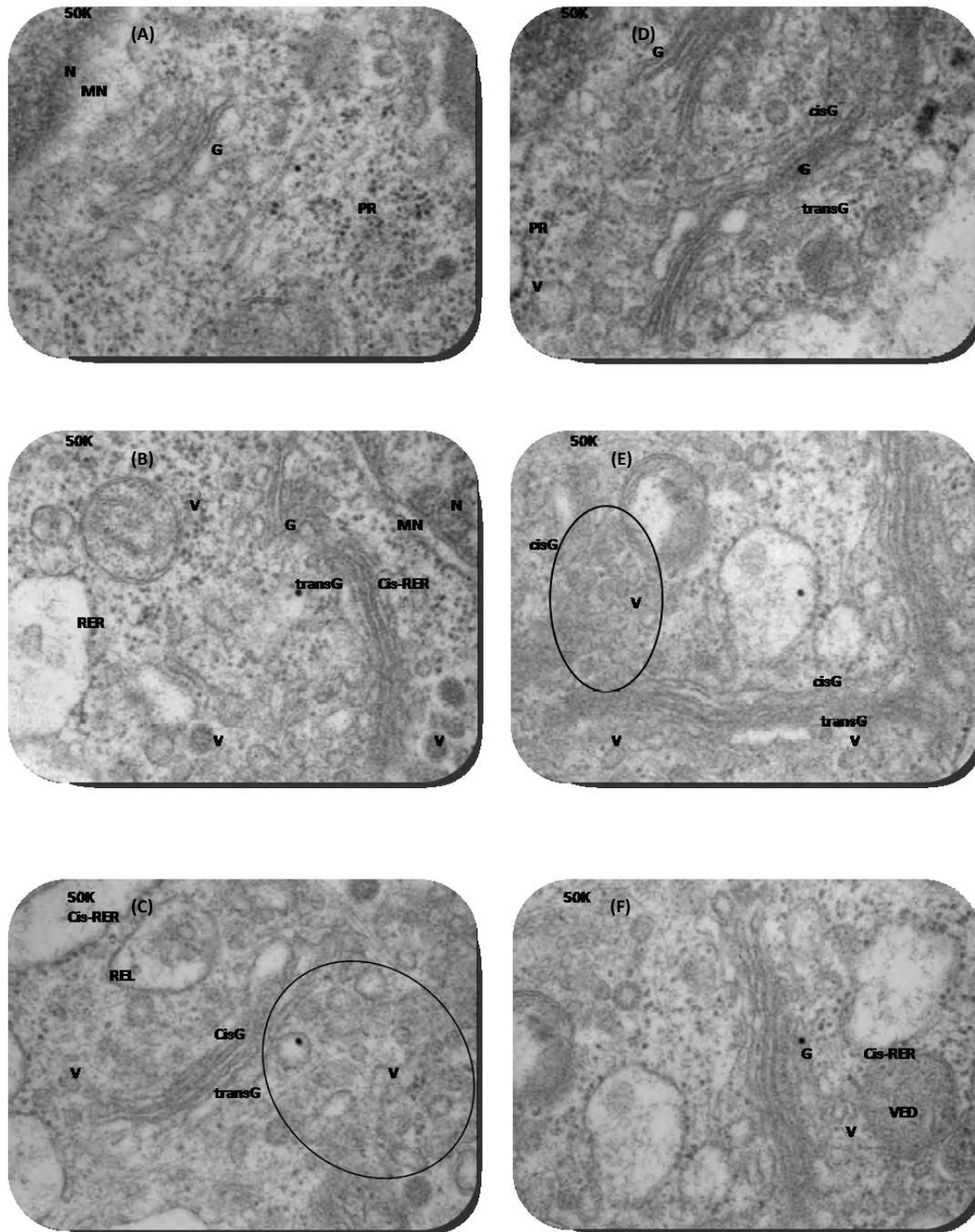


Fig. 27. GRUPO CONTROL. APARATO DE GOLGI A 50,000 AUMENTOS. Las tres porciones del Golgi (G) pueden ser bien definidas en este grupo; se marcó un círculo el cual contiene vesículas transitorias entre el RE y el G. Membrana nuclear (MN), vesículas (V), poli-ribosomas (PR), núcleo (N), cisternas del retículo endoplasmático rugoso (Cis-RER), retículo endoplasmático (RE), membrana nuclear (MN), núcleo (N).

### **3.4.2 Grupo experimental 5%.**

El complejo de Golgi se encontró muy cercano al núcleo (Fig. 28), mal organizado, mal diferenciado y mal desarrollado, que hizo imposible distinguir o definir sus tres áreas (cis, medial y trans), se encontró ubicado en la región basal del preameloblasto. Este organelo celular estaba rodeado por pequeñas vesículas permeables al flujo de electrones (VPFE). El Golgi en este grupo experimental se encontró organizado en dos o tres niveles o cisternas que lo conformaron pero siempre relacionado con pequeñas vesículas. No se definió correctamente la relación anatómica entre el RER y este Golgi rudimentario; la única relación anatómica que se pudo definir fue su proximidad con el núcleo. No se encontró Golgi maduro, tampoco se le vio localizado en la región basal (RB) de la célula.

### **3.4.3 Grupo experimental 10%.**

El complejo del Golgi estaba localizado cerca del núcleo (Fig. 29). Se encontró mal organizado y mal desarrollado, no se identificaron sus tres áreas (cis, medial y trans), solo se encontraron vesículas pequeñas en relación con sus propias cisternas. Sus vesículas no presentaron una dirección bien definida. El Golgi formo dos niveles o cisternas y siempre se relaciono con pequeñas VPFE, sin una buena relación anatómica entre el RER y el Golgi y solo se pudo observar su proximidad con el núcleo. No se encontró Golgi maduro (Fig. 29).

### **3.4.4 Grupo experimental 15%.**

Las características de este organelo celular fueron muy semejante a las encontradas en el grupo de 10%. Su localización fue cerca del núcleo (Fig. 30). Con mala organización, mal diferenciado y mal desarrollado, sin distinguirse las áreas cis, medial y trans. Igual que en el grupo anterior, careció de madurez y desarrollo. Solo presento VPFE (Tabla 7).

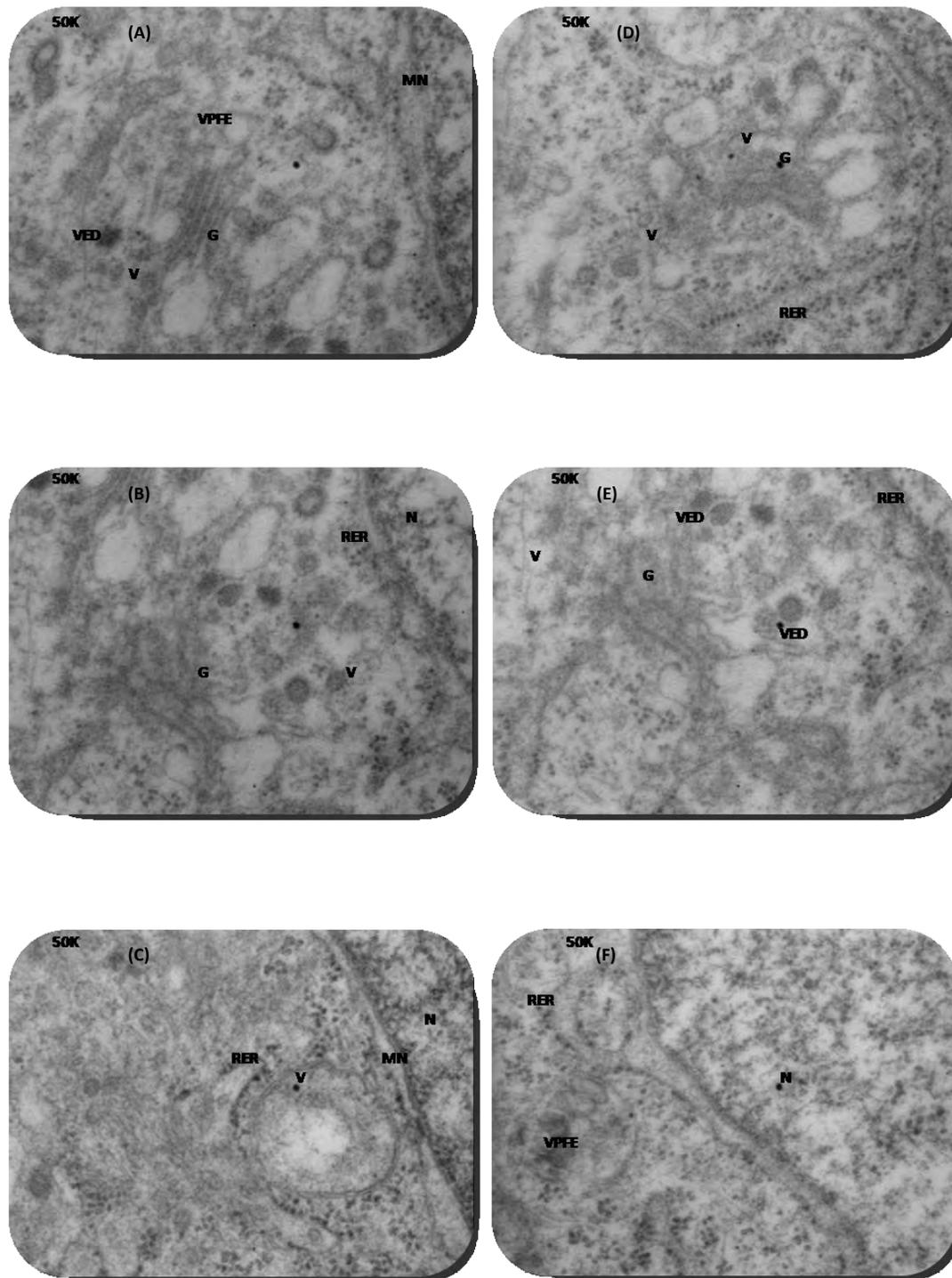


Fig. 28. GRUPO EXPERIMENTAL 5% APARATO DE GOLGI a 50,000 aumentos. No se definen las tres áreas del Golgi. Vesículas (V), vesículas electrodensas (VED), vesículas permeables al flujo de electrones (VPFE), Golgi (G), retículo endoplasmático rugoso (RER), núcleo (N), membrana nuclear (MN).

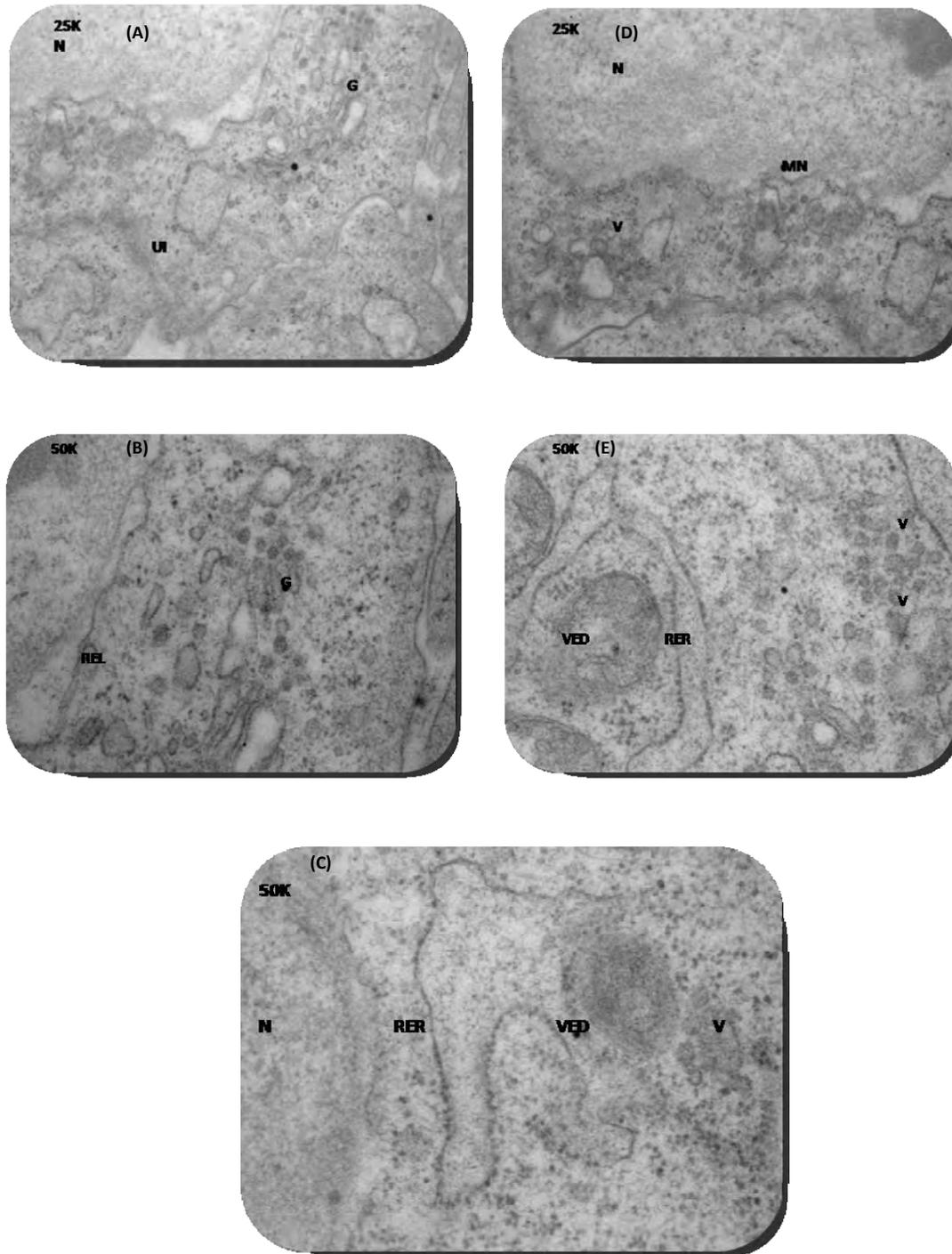


Fig. 29. GRUPO EXPERIMENTAL 10% APARATO DE GOLGI a 25,000 y 50,000 aumentos. No se pueden distinguir las tres áreas del Golgi (G), está fragmentado en vesículas permeables al flujo de electrones VPFE. Uniones intercelulares (UI), núcleo (N), membrana nuclear (MN), retículo endoplasmático (RE), RE liso (REL), RE rugoso (RER).

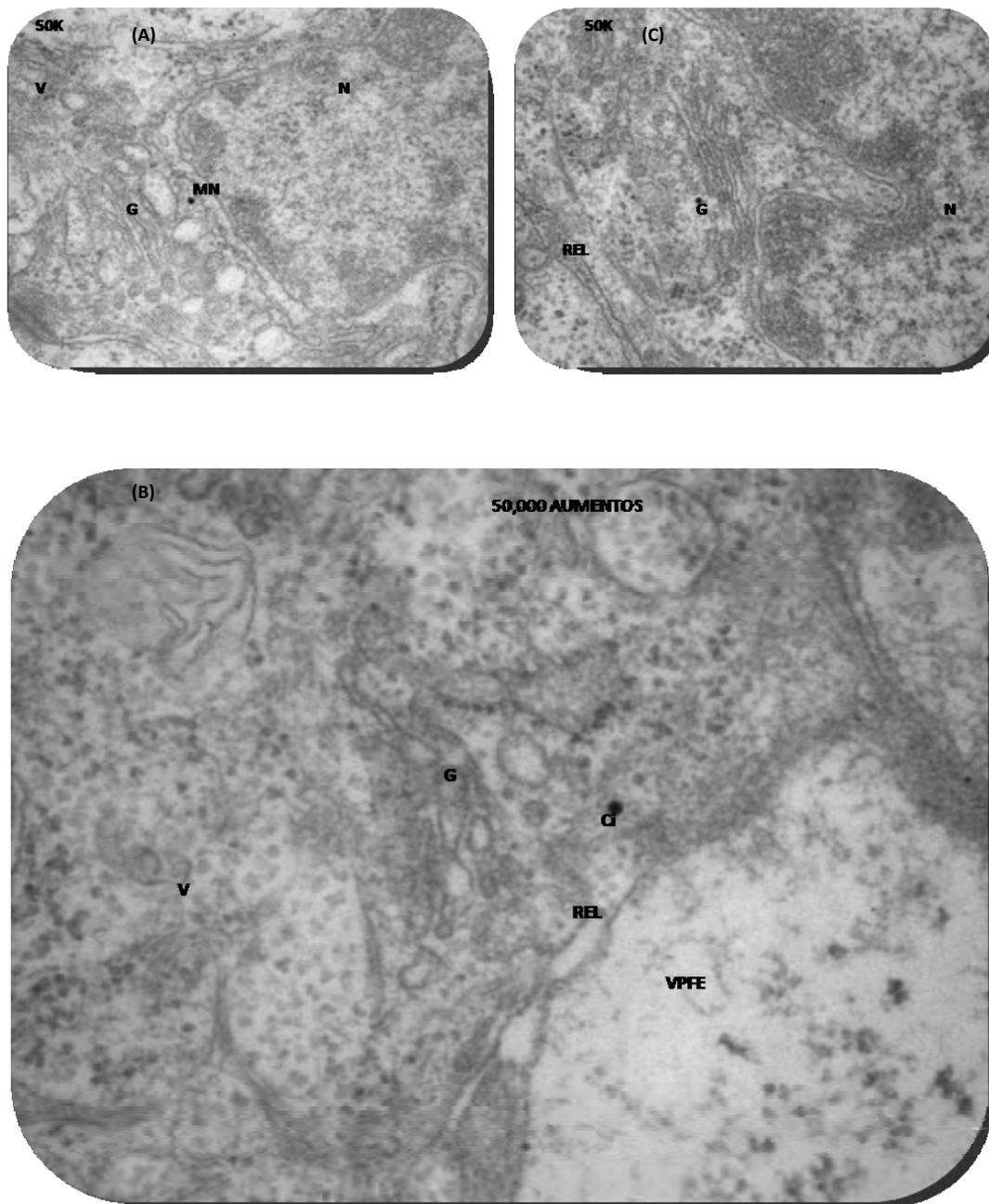


FIG. 30. GRUPO EXPERIMENTAL 15% APARATO DE GOLGI a 50,000 aumentos. El Golgi (G) es otro organelo con daños graves, no es posible identificar las cisternas del Golgi y se encontró desensamblado en vesículas permeables al flujo de electrones (VPFE). Retículo endoplasmático (RE), núcleo (N), citoplasma (C).

### **3.5 VESÍCULAS.**

#### **3.5.1 Grupo control.**

La morfología de las vesículas está formada por una membrana fosfolipídica que engloba material proteico. En el ameloblasto secretor se observaron dos tipos de vesículas diferentes, las que permiten el flujo a los electrones las VPFE y las vesículas electrodensas (VED). Las VPFE se encontraron ampliamente distribuidas por todo el citoplasma, formando numerosos grupos de pequeñas vesículas cuando están próximas a las tres porciones del Golgi, fueron abundantes en la zona medial del Golgi (Fig. 31), fue común encontrarlas de mayor tamaño cercanas a la membrana citoplasmática, sitio en donde realizan exocitosis (Fig. 31). En las VED la relación de distribución no fue tan amplia, su estancia estaba limitada a las cercanías del RER y a la membrana nuclear externa, no fue frecuente encontrarlas cercanas a la membrana citoplasmática. Las mitocondrias se encontraron relacionadas anatómica y morfológicamente con las VED. Las VED también llegaron a formar pequeñas vesículas rodeando al Golgi.

#### **3.5.2 Grupo experimental 5%.**

Con MET se encontró que las vesículas estaban formadas por una membrana que englobaba material proteico, estas vesículas se encontraron distribuidas por todo el citosol. En los preameloblasto de este grupo experimental se observaron vesículas electrodensas (VED) y vesículas que permiten el flujo de electrones (VPFE). Las VPFE estaban en todo el citoplasma, formando grupos de pequeñas vesículas próximos al Golgi, cerca de la membrana citoplasmática y en las porciones laterales del preameloblasto (Fig. 32). En las VED su distribución fue semejante con las del grupo control, las VED se encontraron realizando movimientos de exocitosis. Algo característico de estas vesículas fue que presentaron puntilleo en todo su interior, principalmente en el centro de estas vesículas, dando la pauta para realizar una nueva clasificación de vesículas (Tabla 7, Fig. 32).

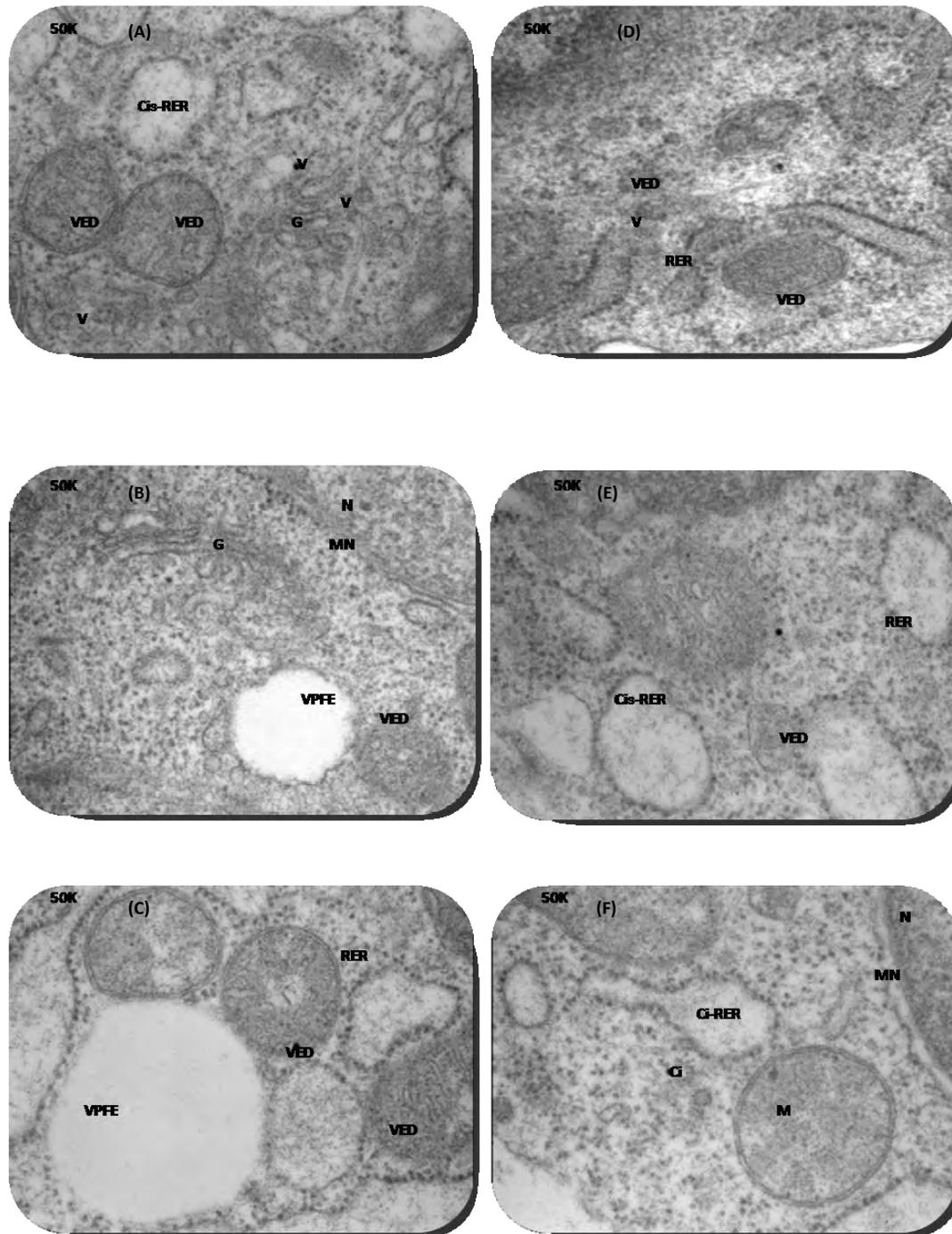


Fig. 31. GRUPO CONTROL. VESÍCULAS A 50,000 AUMENTOS. Se pueden observar dos tipos de vesículas las VED que son vesículas electrodensas y las VPFE que son vesículas permeables al flujo de electrones. Cisternas del retículo endoplasmático rugos (Cis- RER), Golgi (G), mitocondrias (M), citoplasma (Ci), membrana nuclear (MN).

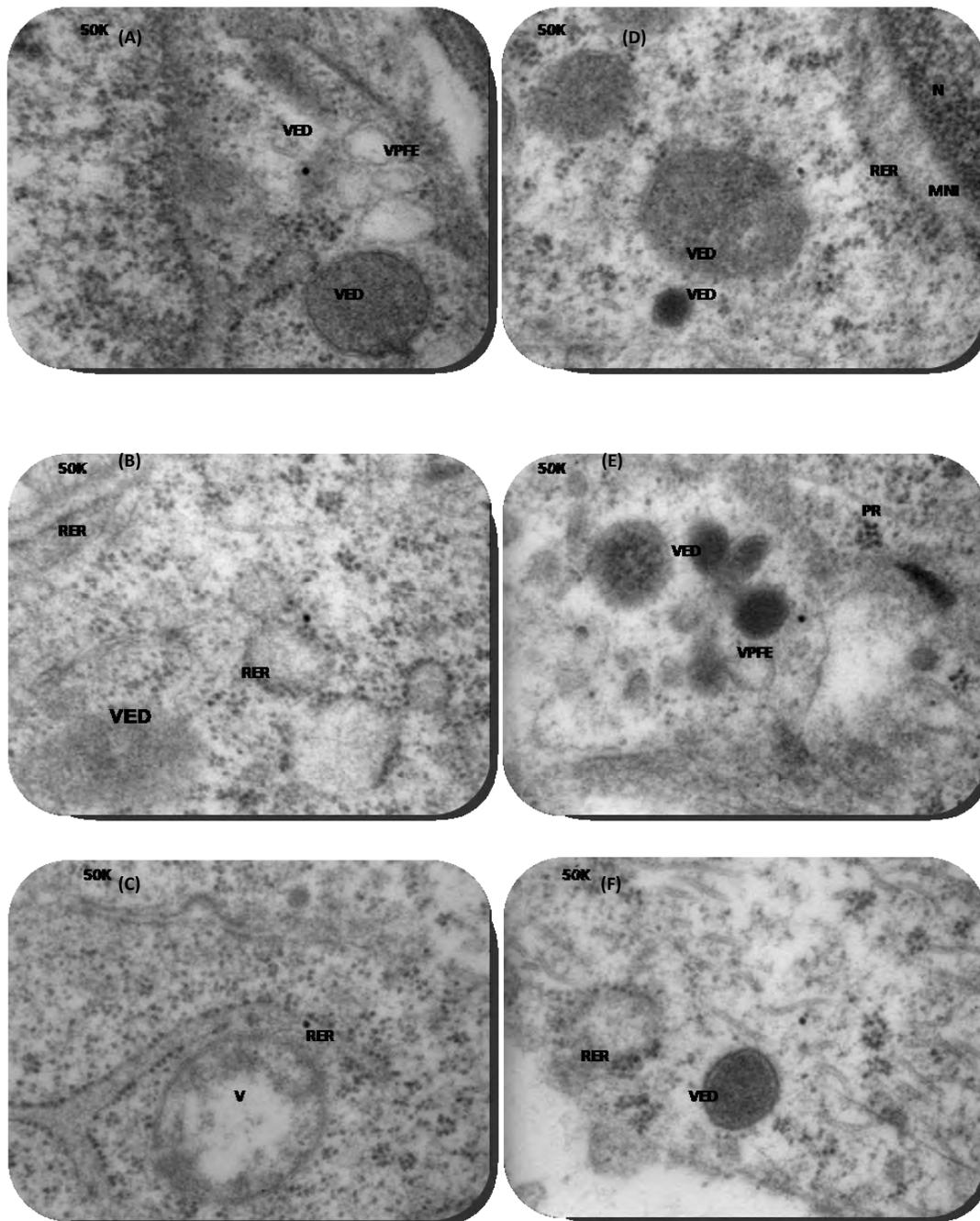


Fig. 32. GRUPO EXPERIMENTAL 5% VESÍCULAS A 50,000 aumentos. Se pueden observar dos tipos de vesículas las electrodensas (VED) y las vesículas permeables al flujo de electrones (VPFE). Núcleo (N), membrana nuclear interna (MNI), retículo endoplasmático rugoso (RER), polirribosomas (PR).

### **3.5.3 Grupo experimental 10%.**

En este patrón celular experimental se observaron tres vesículas diferentes en relación al grupo control en el cual aparecen solo dos tipos de vesículas. Estas son: vesículas electrodensas (VED), vesículas que permiten el flujo de electrones (VPFE) y las vesículas que presentan las características de las dos anteriores, a las cuales denominamos vesículas mixtas (VMix). Los diferentes tipos de vesículas se encontraron distribuidos por todo el citoplasma, formando grupos numerosos pero de pequeñas vesículas, su localización fue principalmente cerca de la membrana citoplasmática y en las porciones laterales del preameloblasto (Fig. 33), las vesículas en comparación con el grupo control, fueron de menor tamaño, esto se estableció en base a los aumentos con los que fueron observadas ya que se necesitaron en ocasiones 120,000 aumentos para visualizar las vesículas (Fig. 33 panel F)). Algo característico de las VMix fue la presencia del puntillado en su interior, en algunos casos hubo un gran flujo de electrones en el centro de estas vesículas (Fig. 33).

### **3.5.4 Grupo experimental 15%.**

Las vesículas que se encontraron con las CLD estaban ampliamente distribuidas por todo el citosol. Se distinguieron tres vesículas diferentes. Estas tres vesículas son: vesículas electrodensas (VED), vesículas que permiten el flujo de electrones (VPFE) y las vesículas que presentan las características de las dos anteriores, a las cuales denominamos vesículas mixtas (VMix). Las VMix presentaron un puntillado en el interior algunas presentaron gran flujo de electrones en el centro. Las VED se presentaban con menor frecuencia y su densidad fue visiblemente menor en relación con el grupo control (Fig. 34; Tabla 7).

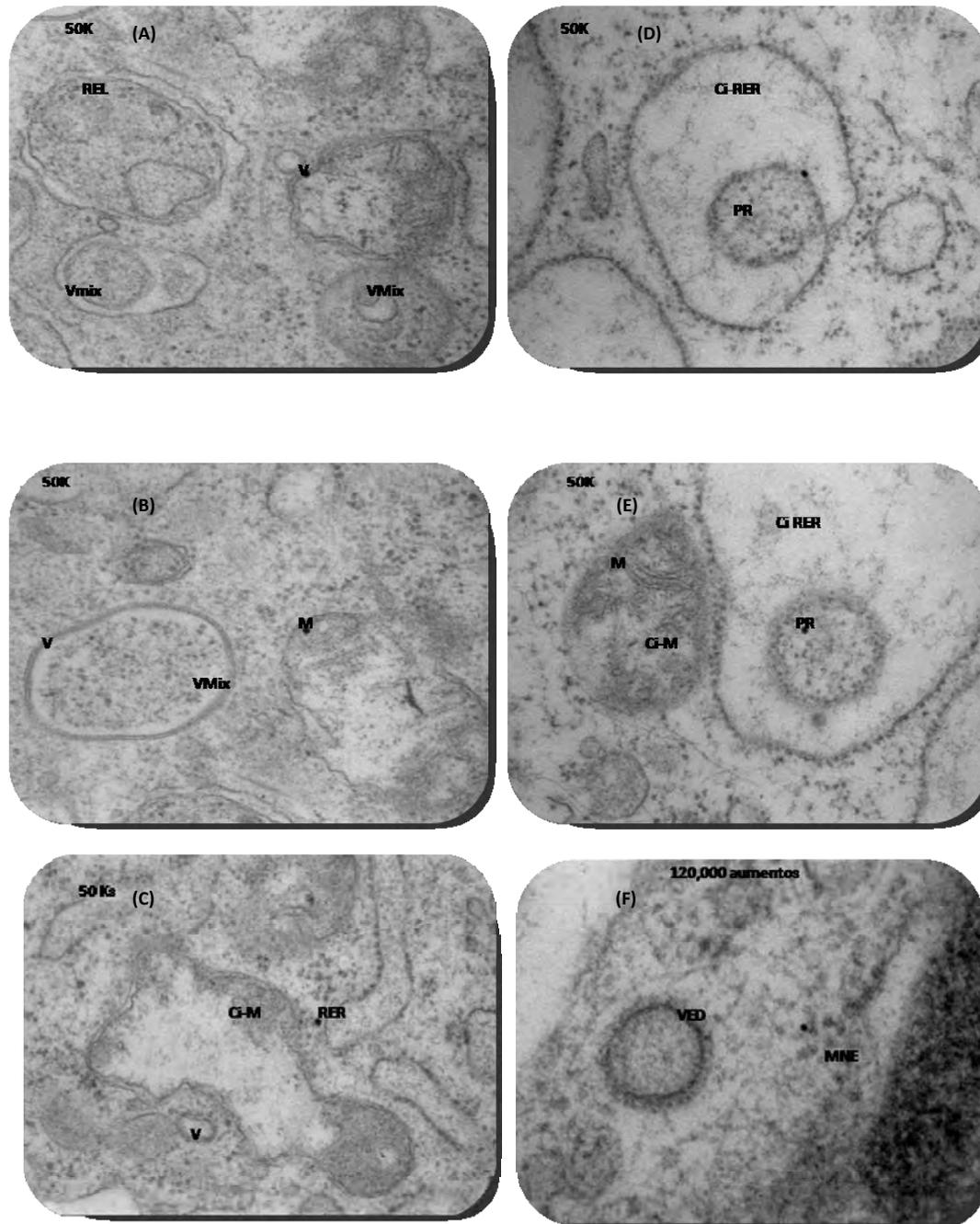


Fig. 33. GRUPO EXPERIMENTAL 10% VESÍCULAS a 50,000 aumentos. Las vesículas electrodensas (VED) se hacen menos permeables al flujo de electrones y teniendo áreas completamente permeables a este flujo definiéndose como vesículas mixtas (VMix). Vesículas (V), cisternas del retículo endoplasmático (Cis-RER), poli-ribosomas (PR), mitocondrias (M), cisternas de M (Cis-M), membrana nuclear externa (MNE).

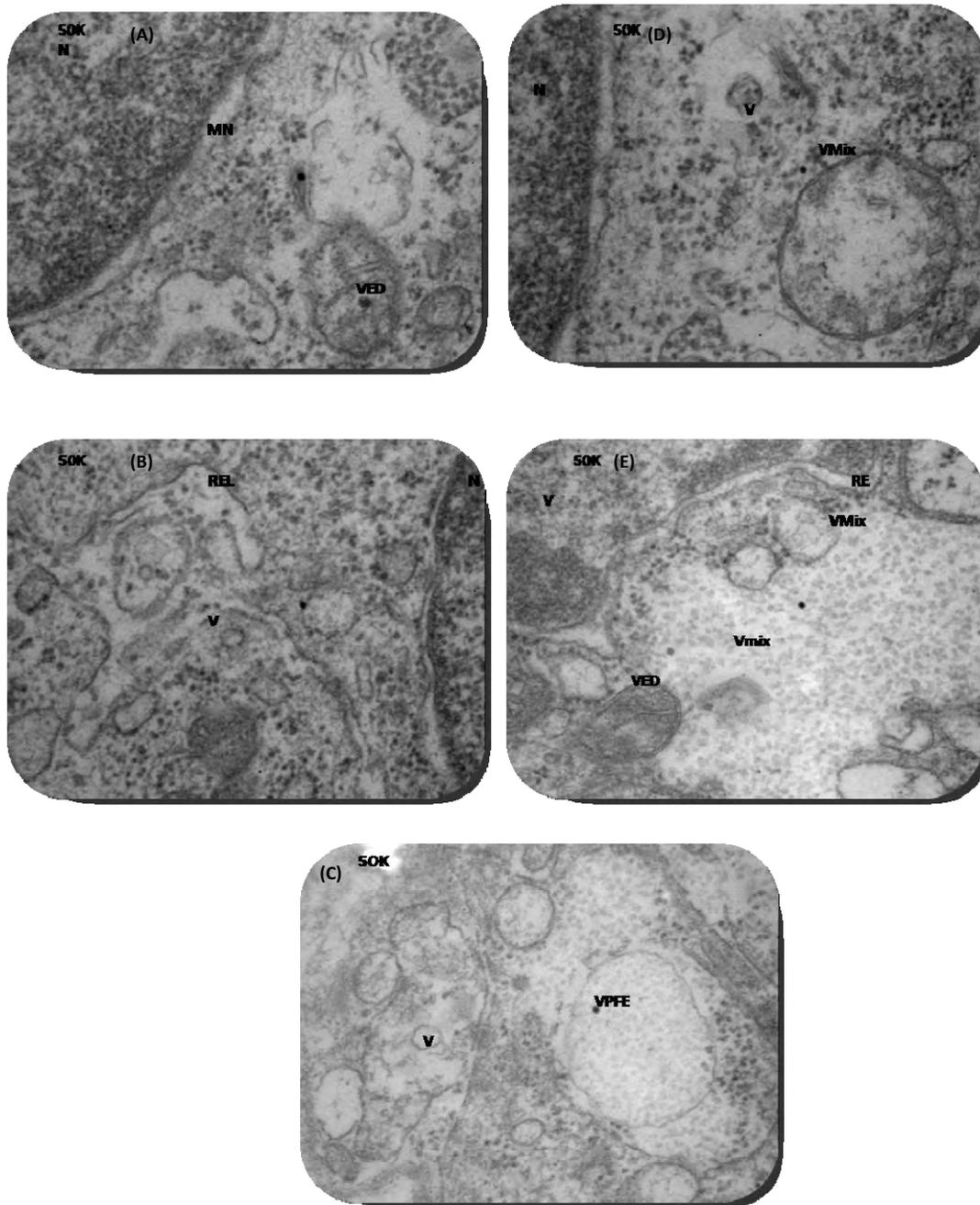


Fig. 34. GRUPO EXPERIMENTAL 15% VESÍCULAS a 50,000 aumentos. El retículo endoplasmático liso (REL) conforma cisternas con poli-ribosomas (PR) las cuales forman VMix (Vesículas mixtas). Vesículas electrodensas (VED), vesículas permeables al flujo de electrones (VPFE).

### **3.6 MITOCONDRIAS.**

#### **3.6.1 Grupo control.**

Estos organelos se encontraron constituidos por dos membranas plasmáticas, la membrana interna de la mitocondria (MI-M) que constituye las crestas, que son invaginaciones de la MI-M, estas invaginaciones tienen una dirección al centro de la matriz mitocondrial. La membrana externa de la mitocondria (ME-M) se relacionó por el exterior con el citoplasma, y por el otro sentido se relacionó con cisternas formadas por los espacios intermembranosos que se observaron entre las dos membranas mitocondriales. Las mitocondrias se vieron ampliamente distribuidas por todo el citoplasma pero dentro de los ameloblastos presecretorios del grupo control se encontraron preferentemente acompañando al RER y a las vesículas (Fig. 35), se encontraron en grupos de 2 a 4 mitocondrias como lo comprueba (Fig. 35). Con el MET, en un corte horizontal de una mitocondria a 50,000 aumentos, se observó la relación que tenía la membrana nuclear externa, con el retículo endoplasmático rugoso en una gran área de la periferia mitocondrial. A 50,000 aumentos; se observó claramente la integridad de las crestas mitocondriales (C-M), cisternas mitocondriales (Cis-M) que son espacios en la matriz de la mitocondria formados entre las crestas y sus dos membranas interna y externa, al mismo tiempo se apreció la relación anatómica entre la mitocondria, el RER y las vesículas. También se encontró el inicio de la formación del proceso de Tomes, con la interrupción de la membrana basal por la secreción del ameloblasto y por consiguiente se apreció el inicio de la formación del esmalte, lo que corresponde a un ameloblasto presecretor que ya recibió el estímulo para iniciar su transformación a ameloblasto secretor (Fig. 35, Tabla 7)

#### **3.6.2 Grupo experimental 5%.**

Las mitocondrias no presentaron cambios morfológicos significativos en comparación con el grupo control, se encontraron distribuidas por todo el citoplasma, pero dentro de los preameloblastos del grupo experimental de 5% se

encontraron principalmente cercanos al núcleo (Fig. 36) a diferencia del grupo control, en donde se encontraron cercanos al RER y a las vesículas. En este grupo se observaron disminuidas en tamaño, lo que se constata al observarse varias mitocondrias a 50,000 aumentos y en un solo campo (Fig. 36). Se logró apreciar las crestas mitocondriales (C-M), cisternas mitocondriales (Cis-M) que estaban distribuidas en el interior de las M. Dentro del citosol es común encontrar pequeños conjuntos de M.

### **3.6.3 Grupo experimental 10%.**

Se observó que las mitocondrias estaban distribuidas pobremente por todo el citoplasma, con disminución de su tamaño y ubicadas alrededor del núcleo (Fig. 37). Las cis-M se encontraron dilatadas, abarcando un amplio espacio del interior de la mitocondria. También se observó que las crestas mitocondriales desaparecen.

### **3.6.4 Grupo experimental 15%.**

Las mitocondrias se encontraron distribuidas pobremente por todo el citoplasma y rodeando al núcleo (Fig. 38), agrupadas en 2 ó 3 mitocondrias, no mostraron un contorno definido, y su membrana externa se invaginó sobre la matriz mitocondrial y también presentaron evaginaciones de la membrana externa. Se observaron M de diferente forma con cisternas amplias que ocuparon gran parte del espacio en el interior de la mitocondria. Los daños morfológicos en las mitocondriales que originó el EG y el MC, hicieron difícil diferenciar una mitocondria de una VMix (Fig. 38).

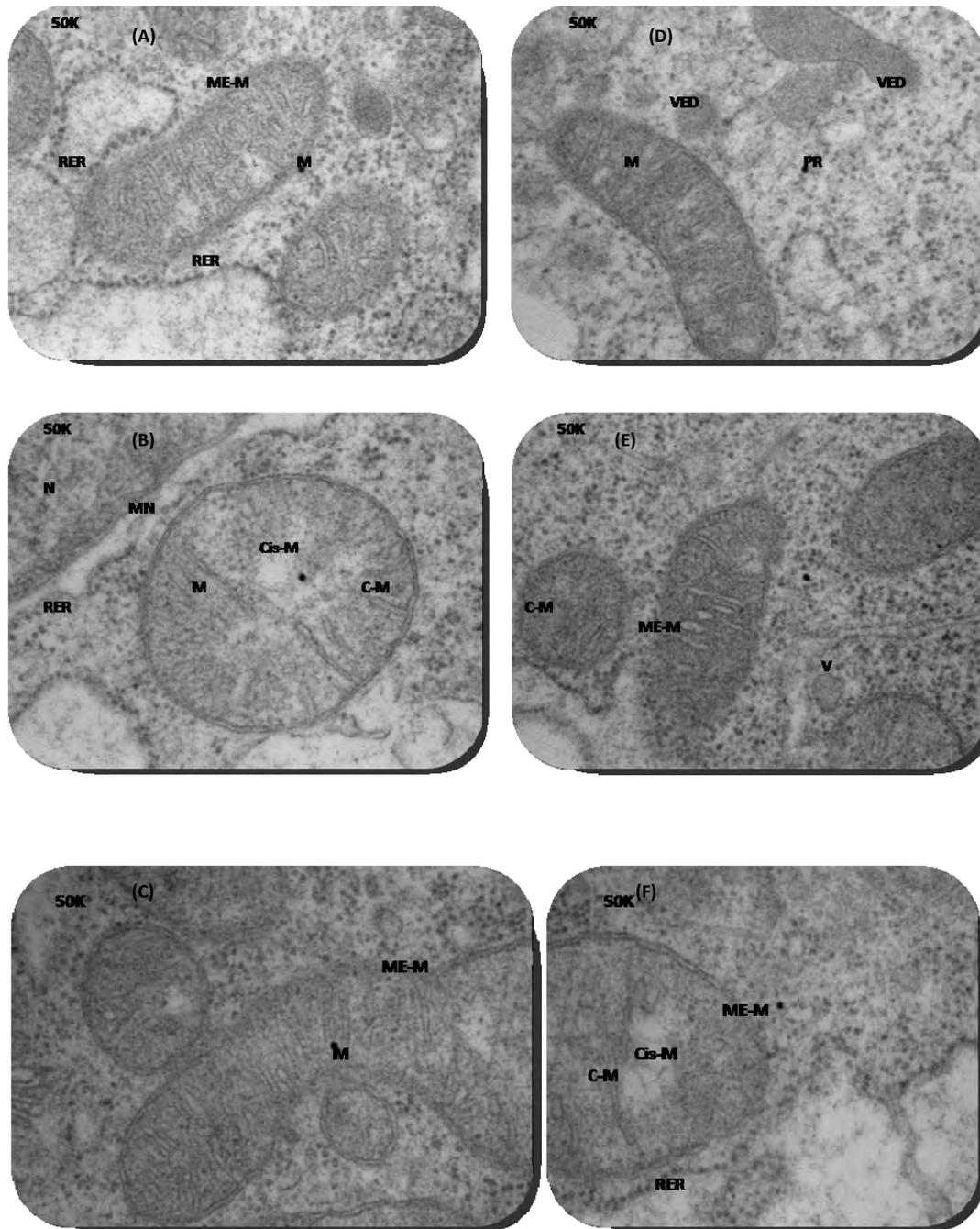


Fig. 35. GRUPO CONTROL. MITOCONDRIAS A 50,000 AUMENTOS, se distribuyen ampliamente por todo el citoplasma. La mitocondria (M) puede abarcar un campo de 50 Ks o más. Vesículas electrodensas (VED), polirribosomas (PR), cresta mitocondrial (C-M), membrana externa de la mitocondria (ME-M), retículo endoplasmático rugoso (RER), núcleo (N), cisterna mitocondrial (Cis- M), vesícula (V), membrana nuclear (MN).

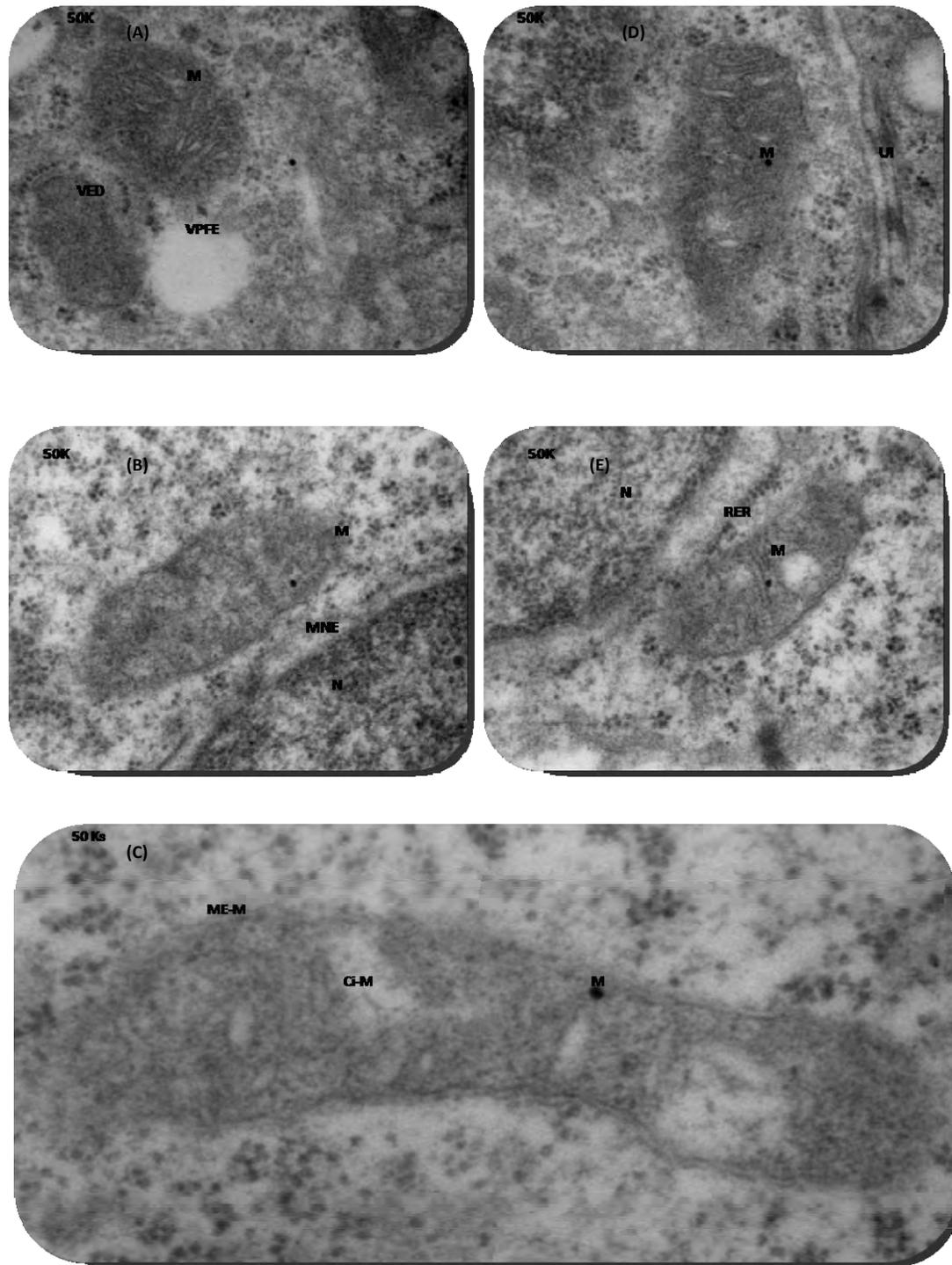


Fig. 36. GRUPO EXPERIMENTAL 5% MITOCONDRIAS A 50,000 aumentos. Posiblemente la mitocondria sea el organelo mas afectado, el inicio del daño se refleja con aumento en las cisternas mitocondriales (Cis-M). Vesículas electrodensas (VED), vesículas permeables al flujo de electrones (VPFE), unión intercelular (UI), núcleo (N), membrana nuclear externa (MNE), retículo endoplasmático rugoso (RER), crestas mitocondriales (Cr-M).

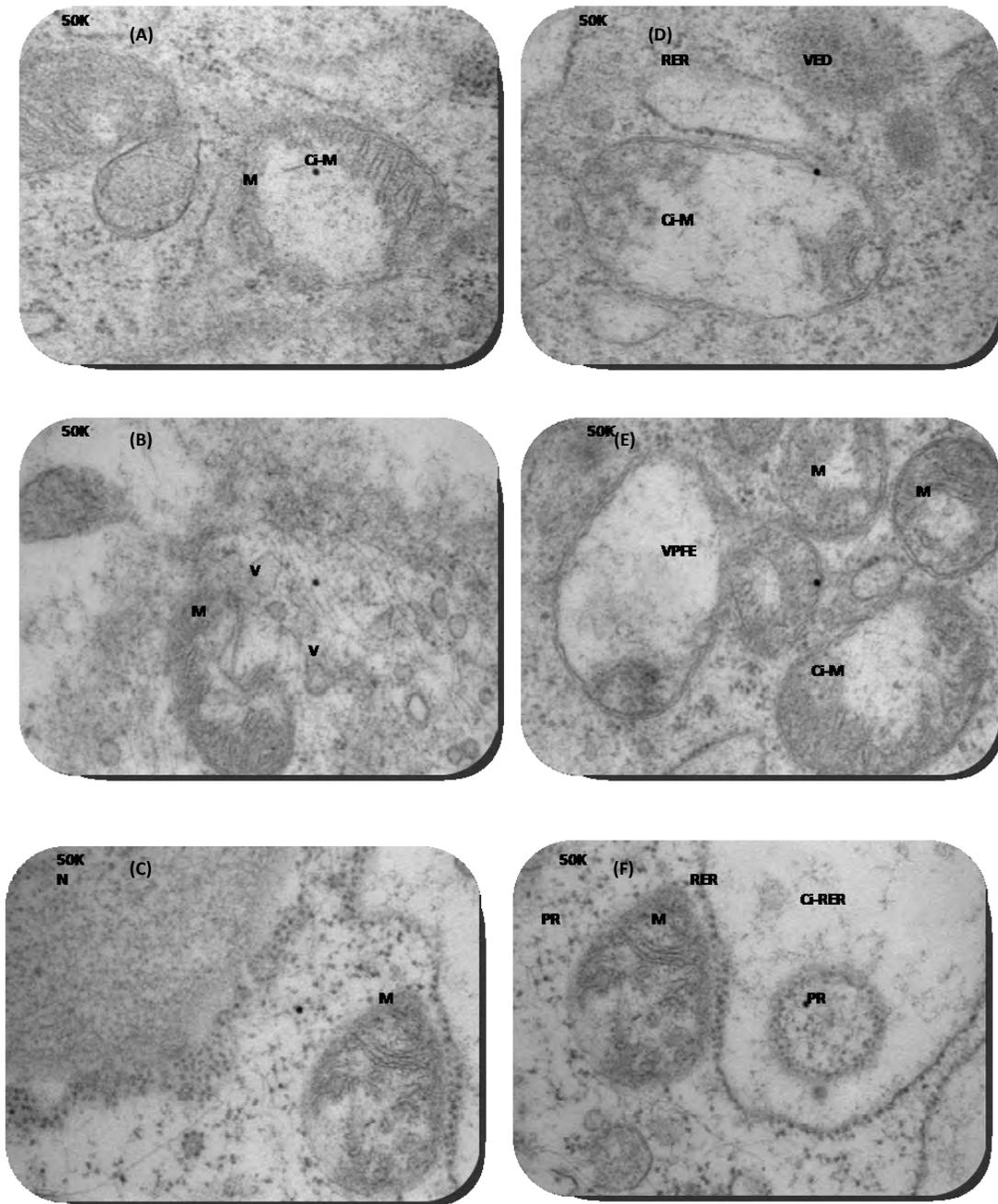


Fig. 37. GRUPO EXPERIMENTAL 10% MITOCONDRIAS a 50,000 aumentos. El daño mitocondrial es evidente la disminución de crestas mitocondriales (Cr-M) y el gran tamaño de las cisternas mitocondriales (Cis-M). Mitochondria (M), retículo endoplasmático rugoso (RER), vesículas electrodensas (VED), vesículas permeables al flujo de electrones (VPFE), polirribosomas (PR), núcleo (N).

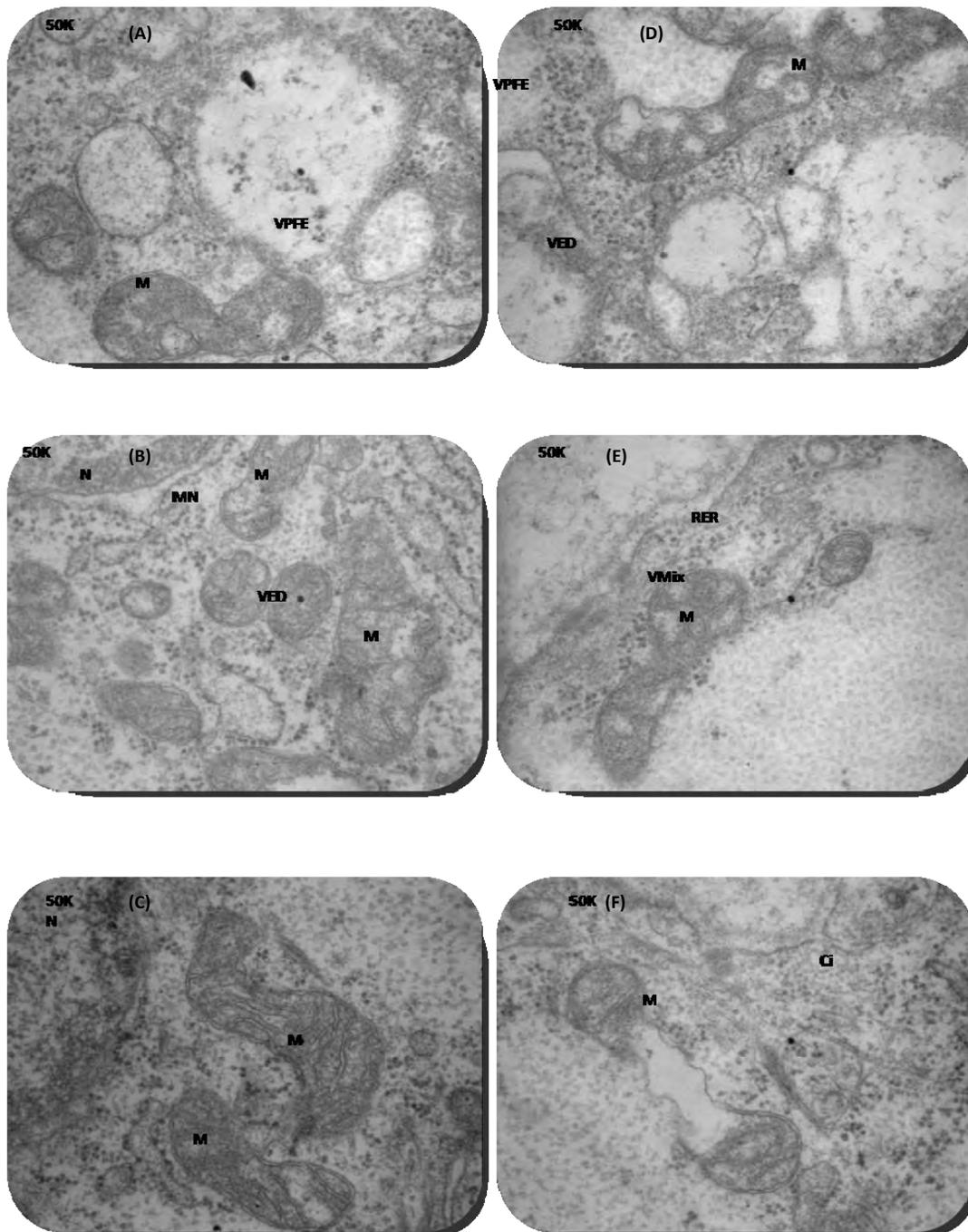


Fig. 38. GRUPO EXPERIMENTAL 15% MITOCONDRIAS a 50,000 aumentos. Las mitocondrias (M) presentan prolongaciones de sus membranas al exterior de ellas. Vesículas permeables al flujo de electrones (VPFE), vesículas electrodensas (VED), vesículas mixtas (VMix), retículo endoplasmático (RE), RE liso (REL), RE rugoso (RER), membrana nuclear (MN), citoplasma (C), matriz extracelular (ME).

**TABLA 7. RESULTADOS DE MET QUE RESUME LAS ALTERACIONES PRODUCIDAS POR  
LOS GLICOLES.**

ORGANELOS CELULARES	GRUPO CONTROL	GRUPO EXPERIMENTAL 5%	GRUPO EXPERIMENTAL 10%	GRUPO EXPERIMENTAL 15%
<b>CÉLULA</b>	Ameloblasto Presecretor, Columnares.	Preameloblasto, Columnares.	Preameloblastos, Columnares y C. Poliédricas.	Células de la Lámina Dental, Poliédricas
<b>NÚCLEO</b>	Semicircular, excéntrico al polo distal.	Algunos ovoides y otros amorfos, excéntrico al polo distal.	Amorfo, céntrico.	Amorfo, céntrico.
<b>RELACIÓN N:C</b>	3:1	2:1	1:1	1:1
<b>CITOPLASMA</b>	Abundante, con todos los organelos íntegros.	Poco abundante, con alteración morfológica en algunos organelos.	No es abundante, con alteración morfológica en todos los organelos.	No es abundante, con alteración morfológica en todos los organelos.
<b>RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO</b>	Abundante RER.	Abundante RER, unido al REL.	Proporciones equitativas de RER con REL.	Abundante REL.
<b>APARATO DE GOLGI</b>	Presente en todo el citoplasma, en la zona secretora está bien estructurado	Mal estructurado y cercano al núcleo.	Mal estructurado y cercano al núcleo.	Se define como pequeñas vesículas cercanas al núcleo.
<b>VESÍCULAS</b>	Presencia de dos vesículas (VED y VPFE).	Presencia de dos vesículas (VED y VPFE).	Presencia de tres vesículas (VED, VPFE y VMix), apareciendo con una frecuencia semejante.	Presencia de tres vesículas (VED, VPFE y VMix) y sobresalen las VMix.
<b>MITOCONDRIAS</b>	Distribuidas en todo el citoplasma.	Aparecen cisternas entre las crestas.	Las cisternas son más grandes y sustituyen a las crestas.	Son amorfos, con amplias cisternas y poca cantidad de crestas.

## XI. DISCUSIÓN.

El desarrollo dental como es bien conocido da inicio con la proliferación de la lámina dental que da origen durante el proceso de diferenciación celular a las distintas capa del germen dental, pero principalmente al epitelio interno en donde se diferencian en los ameloblastos como células productoras del esmalte, la papila dental se forma a partir del ectomesénquima que se deriva de la cresta neural y se diferencia en los odontoblastos. La secreción producida por los odontoblastos se dirige al área secretora de la célula y este acto funciona como inductor para que el proceso de diferenciación del ameloblasto presecretor permita que el ameloblasto se convierta en secretor <sup>(27,28,30-33)</sup>. Los ameloblastos secretan la matriz extracelular hacia la RB por lo que se localiza en la futura unión amelodentinaria y se conjunta con la matriz producida por los odontoblastos. En los grupos experimentales se observó una notoria disminución en el proceso de diferenciación de las células del epitelio interno, en el grupo experimental de los grupos de 5% y 10%, la matriz observada correspondió a la producida por los odontoblastos y no por los ameloblastos pre-secretorios. Otro aspecto importante fueron los cambios citomorfológicos encontrados en las células del EI del órgano del esmalte y fue que en el grupo control las células presentaron aspecto columnar, con núcleo excéntrico localizado hacia la RD de la célula, con una relación N:C de 3:1 como se establece en la literatura <sup>(27,28,31)</sup> y en el grupo control, lo cual no se presentó en los grupos experimentales. En el grupo con administración del 5% se encontró pérdida gradual de las características normales del ameloblasto pre-secretor, siendo evidente en el grupo de 10%, en lo que respecta al grupo de 15%, los gérmenes dentales se encontraron en proceso de brote como se puede encontrar en la literatura <sup>(27,28)</sup>, en este grupo se perdieron por completo las características morfológicas propias de la célula ameloblástica presecretora, con pérdida de la relación N:C siendo en las imágenes de 1:1, con formas cúbicas y poliédricas como se compara en la Tabla 7. Otro aspecto fue que tampoco se observó proceso de diferenciación celular en las células de la papila

dental, por lo que la producción de matriz extracelular por parte de este grupo fue escasa o nula. Esto obliga a pensar que el retraso en el proceso de diferenciación celular causado por la administración de los solventes se presentó en todos los niveles de las células que constituyen al diente. Los resultados de los grupos experimentales de 5% y 10% coinciden con los obtenidos por Morales <sup>(4)</sup>; estos resultados permiten comprender porque los pacientes con Síndrome de éteres del glicol presentaban microdoncia y algunos de ellos agenesia dental, por lo que se puede inferir que los problemas teratogénicos comienzan a partir de la administración del solvente a una concentración del 5%. Los daños más severos se presentaron en el grupo experimental tratado con 15% de los solventes orgánicos, en donde el retraso y la lisis celular fueron evidentes como se aprecia en las Figuras 5-9.

Pero tomando en cuenta que la microscopía fotónica tiene una serie de limitantes, la MET permitió identificar daños ultraestructurales importantes en organelos vitales en el funcionamiento del ameloblasto presecretor. Con MET se pudo establecer en el grupo control que las células pertenecientes al EI del órgano del esmalte se encontraban como ameloblastos presecretorios, ésto debido a: primeramente la edad o periodo de desarrollo embrionario del cual fueron tomadas, a la localización o el lugar de donde fueron estudiadas y lo más importante sus características estructurales, morfológicas y ultraestructurales.

Ten Cate's y Gómez de Ferrari <sup>(27 y 28)</sup> en sus estudios de MF y MET, han clasificado a las células que conforman al EI del germen dental, sin embargo, Katchburian, et al; con su estudio de MET convencional permite identificar claramente las características, establece y revela los rasgos morfológicos característicos de las células del epitelio interno en los distintos estadios del desarrollo. En su artículo establece las características de dichas células desde preameloblastos hasta ameloblastos maduros secretores; este estudio permitió identificar y comparar con el grupo control del presente estudio que concordaron

con los resultados de él, lo cual permite identificarlos como ameloblastos presecretorios.

En el grupo control de este estudio, las células del EI correspondieron a ameloblastos presecretorios, sin actividad secretoria en su RB, sin embargo, se observaron todos sus organelos bien diferenciados, listos para producir matriz extracelular y secretar proteínas del esmalte, esto se observó en la superficie de la cúspide en donde el proceso de diferenciación es mayor que en cualquier otro sitio del germen dental, esta célula no terminó su ciclo de desarrollo por lo cual no se encontró diferenciada totalmente. En cuanto a los grupos experimentales, se encontraron daños leves en los organelos, las características del núcleo, nucleolo, RER, mitocondrias y las vesículas se encontraron parecidas a las del grupo control. En comparación con los grupos a los que se les suministró la concentración al 10%, la heterocromatina no se define en su totalidad confundiendo con la eucromatina, los nucléolos estuvieron presentes en escasas células, lo que habla de un posible daño en el material genético, inducido por intoxicación con el EG y MC, esta intoxicación permite comprender la disminución del RER y el incremento del REL, por el hecho de que en las células con niveles elevados de sustancias tóxicas el REL predomina como fenómeno de defensa de la célula <sup>(50)</sup>. También es probable la desaparición de proteínas encargadas de la condensación del ADN y con daño genético. Las proteínas del núcleo-esqueleto como la laminina que se encuentra relacionada con la membrana interna de la envoltura nuclear, confiere la estructura del núcleo (ovoide o semicircular); la conformación de estas proteínas propias del núcleo-esqueleto podrían estar afectadas por los solventes orgánicos debido a que en todos los grupos experimentales, se pierde el patrón que le da forma o estructura al núcleo. Las células del grupo control mantienen una relación anatómica estrecha entre el aparato de Golgi y el núcleo, por esta razón se puede inferir que estas células no se encontraban totalmente maduras debido a que una célula secretora o madura mantiene sus complejos del Golgi muy cercanos a la membrana citoplasmática, con gran actividad de transporte vesicular y orientados

en la zona secretora pudiendo ser parte del proceso de Tomes. Lo anterior ayuda fielmente a clasificar a las células del epitelio interno del grupo control como ameloblastos presecretorios. El Golgi se encontró rodeado por dos tipos de vesículas, las VPFE y las VED; las primeras su contenido no era denso y por lo cual el paso de electrones a través de ellas no es obstaculizado; mientras que las VED, contienen proteínas condensadas y algunos autores (Katchburian, et al y Gómez, et al) <sup>(28,31)</sup> las califican como vesículas con un contenido semejante al esmalte, esto es, por el contraste que presentan las VED con la matriz mineralizada del esmalte. Las vesículas que rodean al complejo del Golgi estarán involucradas en procesos de secreción, de reciclaje de proteínas, de lisis y para almacenamiento. Algunas vesículas son almacenadas por algún periodo determinado y están en la espera de una orden intracelular para ser expulsadas al exterior por mecanismos de exocitosis. La presencia de RER próximo al Golgi nos hace pensar en una vía secretoria que inicia con la transcripción del DNA en el núcleo, la síntesis proteica en RE, transporte a través de vesículas a Golgi, almacenamiento y exocitosis.

Las mitocondrias como fuente principal de energía de la célula por que realizan actividades metabólicas complejas y vitales; entre ellas la cadena respiratoria, la generación de ATP a partir de glucosa o al oxidar ácidos grasos <sup>(41, 42, 43)</sup>; como se ha podido observar los daños mitocondriales son severos y van en aumento conforme la dosis incrementa para los diferentes grupos experimentales. Es muy probable que las células de los grupos experimentales tengan un menor aporte de ATP en el citoplasma, lo que impide o retrasa las actividades metabólicas intracelulares dependientes de energía ATP. Se observan cambios importantes en las mitocondrias, disminuyendo el número de crestas y aumentando las cisternas de las M; probablemente sea el organelo celular más afectado por el EG y el MC

En todos los grupos experimentales se observó la presencia de polirribosomas libres en las cisternas del RER, esto nos habla de un daño en el RE, que podría

causar una mala formación de los productos proteicos y por consiguiente la deficiencia metabólica celular. La ausencia de Golgi maduros en todos los grupos experimentales nos habla de una falta de desarrollo y diferenciación celular, porque este organelo es importante para el procesamiento y almacenamiento de proteínas que intervienen en la mineralización de la matriz extracelular. Mientras que los daños se pueden definir como más severos para el grupo experimental de 15% por que hay una mínima presencia de Golgi el cual está mal definido.

Un aspecto importante que hay que remarcar son las funciones de los RE, es bien conocido que la función principal del RER es la producción de proteínas en tanto que el REL cumple con la función de producir hormonas y otros productos <sup>(41-43)</sup>, pero en casos de intoxicación su función es la de eliminar todas las sustancias nocivas en la célula <sup>(49, 50)</sup>, por ello un hallazgo importante fue el incremento de REL conforme se incrementaron las dosis y la disminución del RER.

## XII. CONCLUSIONES

1. Se observó retraso en el proceso de diferenciación celular en las diferentes capas del germen dental en los animales tratados con EG y MC a concentraciones de 5%, 10% y 15%.
2. En los grupos experimentales (5% y 10%) se observó una notoria disminución en el proceso de diferenciación de las células del epitelio interno.
3. Se observaron cambios citomorfológicos en las células del órgano del esmalte en todos los grupos experimentales (como relación N:C de 2:1 en los grupos de 5 y 10% y en el grupo de 15% fue de 1:1, en tanto en el grupo control fue de 3:1).
4. Se observó pérdida gradual de las características normales del ameloblasto pre-secretor, entre el tratamiento de 5 al 10%.
5. Los gérmenes dentales se encontraron en proceso de brote en los animales tratados con concentraciones de 15% de EG y MC y se perdieron por completo las características morfológicas propias de la célula ameloblástica presecretora.
6. La producción de matriz extracelular por parte del grupo experimental de 15% fue escasa o nula.
7. Los problemas teratogénicos se observaron a partir de la administración del EG y MC a una concentración del 5%.
8. Los daños más agresivos se presentaron en el grupo experimental tratado con los solventes orgánicos al 15%, en donde el retraso y la lisis celular fueron evidentes.
9. En el grupo con concentración al 10%, la heterocromatina no estaba definida en su totalidad, confundándose con la eucromatina.
10. Los nucléolos estuvieron presentes en escasas células, lo que habla de un posible daño en el material genético, inducido por intoxicación con el EG y MC.

11. Las proteínas del núcleo-esqueleto que se encuentran relacionadas con la membrana interna de la envoltura nuclear, y que confieren la estructura del núcleo (ovoide o semicircular), están afectadas por los solventes orgánicos debido a que en todos los grupos experimentales, se perdió el patrón que le da forma o estructura al núcleo.
12. El Golgi se encontró rodeado por dos tipos de vesículas, las VPFE y las VED en los grupos experimentales de 5% y 10%.
13. En todos los grupos experimentales se observó la presencia de polirribosomas libres en las cisternas del RER, esto nos hablan de un daño en el RE, que podría causar una mala formación de los productos proteicos y por consiguiente la deficiencia metabólica celular.
14. La ausencia de Golgi maduros en todos los grupos experimentales indica una falta de desarrollo y diferenciación celular en relación a la mineralización de la matriz extracelular.
15. Los daños se pueden definir como más agresivos en el grupo experimental de 15% en base a la mínima presencia de Golgi, que además se encuentran mal definidos.
16. El incremento de REL va directamente proporcional al incremento de las dosis y la disminución del RER.
17. Los solventes orgánicos como el EG y el MC administrados por vía oral en ratas gestantes causan daño a nivel celular en los gérmenes dentales de los productos y este daño es a dosis-dependiente.

### **XIII. ABREVIACIONES PARA MF y MET.**

#### **Abreviaciones en microscopía fotónica:**

Ameloblastos presecretorios (APS), células de la lámina dental (CLD), capa odontoblástica (CO), dentina (D), esmalte (E), epitelio externo (EE), epitelio interno (EI), estrato intermedio (EIn), germen dental (GD), hueso alveolar (HA), membrana basal (MB), matriz extracelular (ME), núcleo (N), odontoblasto (O), órgano del esmalte (OE), pre-ameloblasto (PA), papila dental (PD), preodontoblastos (PO), retículo estrellado (RE), secreción de (S-), saco folicular (SF), unión amelo dentinaria (UAD), vaina epitelial de Hertwig (VEH).

#### **Abreviaciones utilizadas en microscopía electrónica de transmisión:**

Ameloblastos presecretorios (AmPS), aparato de Golgi (G), células del estrato intermedio (CEI), células de la lámina dental (CLD), células de la papila dental (CPD), células del retículo estrellado (CRE), cisternas de (Cis-), citoplasma (Ci), dentina (D), esmalte (E), eucromatina (Eu), heterocromatina (He), matriz extracelular (ME), membrana basal (MB), membrana citoplasmática (MC), membrana nuclear (MN), membrana nuclear interna (MNI), membrana nuclear externa (MNE), mitocondrias (M), núcleo (N), nucléolo (No), odontoblasto (O), polirribosomas (PR), preameloblasto (PrAm), preodontoblastos (PrO), prolongaciones citoplasmáticas del odontoblasto (PCO), región basal o secretoria (RB), región distal (RD), retículo endoplasmático (RE), retículo endoplasmático liso (REL), retículo endoplasmático rugoso (RER), ribosomas (R), secreción de (S-), unión amelo dentinaria (UAD), unión intercelular (UI), vesículas (V), vesículas electro-densas (VED), vesículas permeables al flujo de electrones (VPFE).

#### **XIV. BIBLIOGRAFÍA.**

1. Saavedra-Ontiveros D, Arteaga-Martínez M. Teratogenesis caused by industrial organic solvent occupational exposure. *Salud Pública Mex* 1996; 38:3-12.
2. Martínez HL. Efectos de los solventes orgánicos en el cartílago, hueso, músculo esquelético, hígado y riñón en un modelo experimental. México, D.F. Tesis. F.O.-U.N.A.M., 2001. pp.111.
3. Noya PT. Análisis morfométrico de estructuras faciales en fetos de ratas en el síndrome de éteres de glicol (Síndrome de Saavedra). México, D.F. Tesis. F.O.-U.N.A.M., 2003. pp. 74.
4. Morales SI. Efectos teratogénicos de los solventes orgánicos etilén glicol y metil celosolve en la odontogénesis empleando un modelo experimental. México, D.F. Tesis. F.O.-DEPeI-U.N.A.M., 2006. pp. 68.
5. Piedras CS. Manifestaciones clínicas del síndrome de éteres del glicol (Síndrome de Saavedra). México, D.F. Tesis. F.O.-U.N.A.M., 2003. pp. 63.
6. Vega RII. Estudio comparativo de las diferencias craneofaciales entre el síndrome de éteres del glicol y el síndrome del feto alcoholizado. México, D.F. Tesis. F.O.-U.N.A.M., 2003. pp. 86.
7. Velasco UV. Cambios citomorfológicos en los tejidos de la lengua en el síndrome de éteres del glicol. México, D.F. Tesis. F.O.-U.N.A.M., 2003. pp. 65.
8. Thomas JA, DeSesson JM. NTP-CERHR. Expert panel report on the reproductive and developmental toxicity of ethylene glycol. *Reprod Toxicol* 2004; 18:457-532.
9. Enciclopedia de la salud y seguridad en el trabajo. Disponible en: [http://www.mtas.es/insht/EncOIT/pdf/tomo4/104\\_06.pdf](http://www.mtas.es/insht/EncOIT/pdf/tomo4/104_06.pdf), accesado en sep. 2007.
10. Carney EW. An integrated perspective on the developmental toxicity of ethylene glycol. *Reprod Toxicol* 1994; 8:99-113.

11. Sigma-Aldrich. Hoja de datos de seguridad. 293237 ethylen glycol, 99 +%. Versión 1.10, agosto, 2006.
12. Sigma-Aldrich. Hoja de datos de seguridad. 270482 2-methoxyethanol, 99.9 %. Versión 1.8, agosto, 2006.
13. Church AS, Witting MD. Laboratory testing in ethanol, methanol, ethylene glycol, and isopropanol toxicities. *J Emerg Med* 1997; 15:687-92.
14. Burkhart K. Methanol and ethylene glycol toxicity. *J Toxicol Clin Toxicol* 1997; 35:149-50.
15. Davis DP, Bramwell KJ, Hamilton RS, Williams SR. Ethylene glycol poisoning: case report of a record-high level and a review. *J Emerg Med* 1997; 15:653-67.
16. Browning RG, Curry SC: Clinical toxicology of ethylene glycol monoalkyl ethers. *Hum Exp Toxicol* 1994; 13:325-35.
17. Burd L. Diagnosis of FAS: a comparison of the fetal alcohol syndrome diagnostic checklist and the Institute of Medicine criteria for fetal alcohol syndrome. *Neurotoxicol Teratol* 2003; 25: 719-24.
18. Sulik KK. Genesis of alcohol-induced craniofacial dimorphism. *Exp Biol Med* 2005; 230:366-75.
19. Jiménez-Farfán D, Guevara J, Zenteno E, Malagón H, Hernández-Guerrero JC. EGF-R and erbB-2 in murine tooth development after ethanol exposure. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2005; 73:65-71.
20. Degitz JS. Developmental toxicity of methanol: pathogenesis in CD-1 and C57BL/6J mice exposed in whole embryo culture. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2004, 70:179-84.
21. Degitz JS. Pathogenesis of methanol-induced craniofacial defects in C57BL/6J mice. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2004, 70:172-78.
22. Moore SE. The subtle facial signs of prenatal exposure to alcohol: An anthropometric approach. *J Pediatr* 2001; 123:215-9.

23. Hernández-Guerrero JC, Ledesma Montes C, Loyola-Rodríguez JP. Effects of maternal ethanol intake on second alcoholic generation murine skull and mandibular size. *Arch Med Res* 1998; 29:297-302.
24. Astleley JS. Fetal alcohol syndrome: changes in craniofacial form with age, cognition, and timing of ethanol exposure in the macaque. *Teratology* 1999; 59:163-72.
25. Zeichner-David M. Regeneration of periodontal tissues: cementogenesis revisited. *Periodontology* 2000 2006; 41:196-217.
26. Rincon JC, Young WG. The epithelial cell rests of Malassez-a role in periodontal regeneration? *J Periodontal Res* 2006; 41:245-52.
27. Nanci A. Ten-Cate's Oral Histology Development, Structure and Function. 6th ed. St. Louis, Mosby; 2003.
28. Gómez FM, Campos MA. *Histología y Embriología Bucodental*. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 1999.
29. Grezesik WJ. Cementum and periodontal wound healing and regeneration. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2002, 13:474-84.
30. Ramos RH, Pinzón CV. Modelos experimentales para el estudio de la odontogénesis. *Gac Fac Odont* 1991; 39(5):19.
31. Katchburian E, Holt J. Studies on the development of ameloblasts I. Fine structure. *J Cell Sci* 1972; 2:415-47.
32. Linde A, Goldberg M. Dentinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993; 4:679-728.
33. Smith CE. Cellular and chemical events during enamel maturation. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998; 9:128-61.
34. Hu B, Unda F. Bone marrow cells can give rise to ameloblast-like cells. *J Dent Res* 2006; 85:416-21.
35. Palmer RM, Lumsden GS. Development of periodontal ligament and alveolar bone in homografted recombinations of enamel organs and papillary, pulpal and follicular mesenchyme in the mouse. *Arch Oral Biol* 1987; 4:281-9.

36. Goldberg M, Septier D. Phospholipids in amelogenesis and dentinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13:276-90.
37. Farris JE, Griffith QJ. *The Rat in Laboratory Investigation*. New York. Macmillan; 1949.
38. Chen D, Zhao M, Mundy G. *Bone morphogenetic proteins*. Taylor & Francis Healthsciences 2004; 22:233-41.
39. Hubbard MJ. Calcium transport across the dental enamel epithelium. *Crit Rev Oral Biol Med* 2000; 11:437-66.
40. Scott FG. *Developmental Biology*. 7<sup>th</sup> edition. Sunderland, Massachusetts: Sinaure; 2006.
41. Jiménez LF, Merchant HL. *Biología celular y molecular*. México: Prentice Hall; 2003.
42. Alberts B, Johnson A, Raff M, Roberts K, Wattson JD. *Biología Molecular de la Célula*. 4<sup>a</sup> ed. Barcelona: Omega; 2004.
43. Lodish H, Berk A, Matsudaira P, Kaiser CA, Krieger M, Scott MP, et al. *Biología Celular y Molecular*. 5<sup>a</sup> ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2005.
44. Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 9<sup>th</sup> ed. U.S.A.: McGraw-Hill; 1999.
45. ISO 10993-1. *Biological evaluation of medical devices—Part 2: Animal Welfare Requirements*. 2006; 41:1-19.
46. Beesley JE. *Colloidal gold: A new perspective for cytochemical marking*. Oxford University Press. Royal Microscopical Society. 1989.
47. Roldan J, Frauca C, Dueñas A. Intoxicación por alcoholes, *An Sist Sanit Navar* 2003; 26 (suppl 1):129-39.
48. Durfort, M. Vilaró, S. Renau, J, Serratosa, J. *Técnicas de Inmunocitoquímica en Microscopía Electrónica*. Universidad de Barcelona. Barcelona. 1991.

49. González AM, Borniquel S. Ultrastructural alterations in ciliated protozoa under heavy metal exposure. *Cell Biol Int* 2005; 29:119-26.
50. Geuze JH, Luc JM, Stroobants AK, Griffith JM, Kleijmeer MJ, Koster AJ, et al. Involvement of the Endoplasmic Reticulum in Peroxisome Formation. *Mol Biol Cell* 2003; 14:2900-7.