



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DOCTORADO EN ANTROPOLOGÍA
FACULTAD DE FILOSOFÍA Y LETRAS
/ INSTITUTO DE INVESTIGACIONES ANTROPOLÓGICAS

**DIFERENCIA ENTRE LA EDAD BIOLÓGICA Y CRONOLÓGICA:
¿ES POSIBLE MEDIR EL RITMO DE ENVEJECIMIENTO EN RESTOS ÓSEOS
HUMANOS?**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTORA EN ANTROPOLOGÍA

PRESENTA:
LOURDES ROCÍO COUOH HERNÁNDEZ

TUTOR:
DR. LUIS ALBERTO VARGAS GUADARRAMA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES ANTROPOLÓGICAS/UNAM

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:
DR. LAURO BUCIO GALINDO
INSTITUTO DE FÍSICA/UNAM
DR. CARLOS SERRANO SÁNCHEZ
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES ANTROPOLÓGICAS/UNAM

MÉXICO, D.F. JUNIO DE 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

It's what we think we know that keeps us from learning.
Claude Bernard (1813-1878)

Writers love having written, but we hate to write.
Richard Walter (2010)

*Knowledge has to be improved, challenged,
and increased constantly, or it vanishes.*
Peter Drucker (1909-2005)

*A los hombres de mi vida
Gordon y Jamie*

Tabla de contenido

TABLA DE CONTENIDO	IV
LISTA DE FIGURAS	VII
LISTA DE TABLAS	X
AGRADECIMIENTOS	XII
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1. LONGEVIDAD HUMANA. PERSPECTIVA EVOLUTIVA	8
1.1 ¿DESDE CUÁNDO VIVIMOS TANTO?	8
1.2 ¿CUÁL FUE LA ESTRATEGIA EVOLUTIVA PARA EXTENDER LA ESPERANZA DE VIDA?	11
1.3 ¿CÓMO SE DIERON LOS EQUILIBRIOS ENERGÉTICOS EN LA EVOLUCIÓN DEL CICLO VITAL? ..	12
1.3.1 Primer nivel: Inversiones del cuidado materno y nuevo soporte para el desarrollo del menor	13
1.3.1.1 Destete temprano.....	14
1.3.1.2 Nuevos alimentos en la dieta: carne, tuétano y grasa animal.....	14
1.3.1.3 La encefalización: costos y beneficios.....	18
1.3.2 Segundo nivel: Equilibrio entre el grupo social y el infante.....	19
1.3.3 Tercer nivel: Nuevas etapas pre-reproductivas en el ciclo vital	20
1.3.4 Cuarto nivel: Largo periodo pre-reproductivo, larga vida post-reproductiva.....	22
1.4 LOS ALBORES DE LA MORTALIDAD	23
1.5 TEORÍA EVOLUTIVA DEL ENVEJECIMIENTO.....	27
1.5.1 Genes versus medio ambiente.....	29
CAPÍTULO 2. LA EDAD HUMANA Y SU RELACIÓN CON LOS CAMBIOS EN EL TEJIDO ÓSEO Y DENTAL.....	34
2.1 DIFERENCIAS ENTRE LA EDAD CRONOLÓGICA Y LA EDAD BIOLÓGICA	34
2.1.1 ¿Cómo se mide la edad biológica (EB)?.....	36
2.1.2 Principales biomarcadores utilizados en población viva y esquelética para estimar la EB.....	38
2.1.3 Correlación de BMs de población viva en esquelética	39
2.2 CAMBIOS EN EL TEJIDO ÓSEO RELACIONADOS CON LA EDAD	40
2.2.1 Remodelación ósea	40
2.2.2 Función de los esteroides sexuales en los cambios del hueso con la edad	43
2.2.3 Intervención de otros mecanismos en los cambios del hueso con la edad.....	46
2.3 CAMBIOS EN EL TEJIDO DENTAL RELACIONADOS CON LA EDAD.....	47

2.3.1 Cambios en el periodonto	48
2.3.2 Cambios en el esmalte dental.....	50
2.3.3 Cambios en la dentina.....	50
CAPÍTULO 3. LÍNEAS INCREMENTALES DE CEMENTO DENTAL	52
3.1 BIOLOGÍA DEL CEMENTO DENTAL	52
3.1.1 Tipos de cemento	54
3.1.2 Composición del cemento.....	59
3.1.2.1 Proteínas no colágenas (PNC)	59
3.1.2.2 Los proteoglicanos (PGs).....	61
3.1.3 Formación del cemento.....	61
3.1.3.1 Las células de la vaina epitelial radicular de Hertwig (HERS Hertwig's epitelial rooth sheath).....	63
3.1.3.2 Hipótesis sobre el origen de los cementoblastos.....	63
3.1.3.3 Cemento acelular vs. cemento celular	66
3.1.4 Reguladores de la mineralización	68
3.1.4.1 Hormona Paratiroidea (HPT).....	70
3.1.4.2 Vitamina D, 1,25 (OH) ₂ D ₃ (Vit D).....	71
3.1.4.3 Fosfatoninas	74
3.1.4.4 El Pirofosfato	75
3.2 LÍNEAS INCREMENTALES DE CEMENTO DENTAL (LICD)	79
3.2.1 Naturaleza microestructural de las LICD	79
3.2.2 Las LICD en contexto.....	82
3.2.3 El ritmo biológico circanual.....	83
3.2.4 Las LAGs en el crecimiento cíclico anual del hueso en mamíferos no	86
3.2.5 Crecimiento cíclico anual de las LICD	87
CAPÍTULO 4. MATERIAL Y TÉCNICAS	94
4.1. LAS MUESTRAS.....	94
4.2. LA TÉCNICA PARA ANALIZAR LAS LICD	100
4.2.1 Procedimiento	101
4.3 ESTIMACIÓN DE LA EDAD POR MEDIO DE INDICADORES MORFOLÓGICOS	105
4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	106
CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	107
5.1 RESULTADOS.....	107
5.1.1 Población contemporánea con edad cronológica (EC) conocida.....	107
5.1.1.1 Estimación de la EC por LICD (eLICD)	107
5.1.1.2 Estimación de la EB por Superficie Auricular (eSA)	108
5.1.1.3 Estimación de la EB por Sínfisis Púbrica (eSP).....	108
5.1.1.4 Comparación de las técnicas LICD, SA y SP con la EC	109
5.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS	142

5.2.1 Las LICD como BM de EC.....	142
5.2.1.1 Posibles causas de la diferencia y asociación entre EC y eLICD	142
5.2.1.2 Efectos de patologías orales en el CAFE	143
5.2.1.3 Diferencias entre EC y eLICD	144
5.2.1.4 Relación de eSA y eSP con EC.....	145
5.2.1.5 Las LICD como BM de la EC y su relación con eSA, eSP y eOIM en las poblaciones sin EC conocida	150
CONCLUSIONES	153
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	157

ANEXO

Lista de figuras

CAPÍTULO 1.....	8
Figura 1.1. Evolución de la esperanza de vida.....	11
Figura 1.2. Comparación demográfica entre los sexos del grupo Ache y los chimpancés	25
CAPÍTULO 3.....	52
Figura 3.1. Anatomía del diente.....	52
Figura 3.2. Tipos de cemento.....	55
Figura 3.3. Vista microscópica del área de contacto del ligamento periodontal	58
Figura 3.4. Estado de casquete del desarrollo dental.....	62
Figura 3.5. Formación radicular con detalle de la Vaina epitelial radicular de Hertwig.....	64
Figura 3.6. Asa cervical	64
Figura 3.7. Restos epiteliales de Malassez.....	65
Figura 3.8. Propuestas sobre los orígenes de los cementoblastos y del cemento	65
Figura 3.9. Representación esquemática del circuito de control hormonal para el metabolismo y el funcionamiento de la vitamina D	72
Figura 3.10. Síntesis y activación de la vitamina D.....	73
Figura 3.11. Modelo hipotético de la formación del cemento acelular	76
Figura 3.12. El método de líneas incrementales de cemento dental	79
Figura 3.13. Patrón de alternancia laminar del cemento celular (CCFI).	80
Figura 3.14. Localización, de acuerdo a su latitud, de diferentes poblaciones humanas en las que se han analizado las líneas incrementales de cemento dental	93
CAPÍTULO 4.....	94
Figura 4.1. Sistema de identificación FDI o dígito dos.	95
Figura 4.2. Ejemplo del registro fotográfico.....	101
Figura 4.3. Sección de 2 mm del corte transversal de la raíz en su tercio medio	101
Figura 4.4. Se explica la diferencia de los cortes transversales	102
Figura 4.5. Proceso de preparación de las muestras inmersas en la resina autocurable.	103

CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN107

Figura 5.1. Resultados de la eLICD y su comparación con la EC en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida 131

Figura 5.2. Resultados de la eSA y su comparación con la EC en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida 131

Figura 5.3. Resultados de la eSP y su comparación con la EC en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida 132

Figura 5.4. Resultados de las eLICD, eSA y eSP, así como su comparación con la EC en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida..... 132

Figura 5.5. Dispersión de los resultados de las estimaciones de edad que indican el tipo de correlación entre los tres métodos utilizados con la edad cronológica conocida..... 133

Figura 5.6. Resultados de las eLICD y eSA en la Población Contemporánea Sin Edad Cronológica Conocida 133

Figura 5.7. Resultados de las eLICD y eSP en la Población Contemporánea Sin Edad Cronológica Conocida 134

Figura 5.8. Resultados de las eLICD, eSA y eSP en la Población Contemporánea Sin Edad Cronológica Conocida 134

Figura 5.9. Dispersión de los resultados de las estimaciones de edad que indican el tipo de correlación entre el método de LICD con los de SA y SP en la Población Contemporánea Sin Edad Cronológica Conocida..... 135

Figura 5.10. Resultados de las eLICD y eSA en la Población Prehispánica 135

Figura 5.11. Resultados de las eLICD y eSP en la Población Prehispánica 136

Figura 5.12. Resultados de las eLICD, eSA, eSP y eOIM en la Población Prehispánica 136

Figura 5.13. Dispersión de los resultados de las estimaciones de edad que indican el tipo de correlación entre el método de LICD con los de SA y SP en la Población Prehispánica 137

Figura 5.14. Diagrama de cajas de la diferencia en años entre EC / eLICD, eSA y eSP, en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida 137

Figura 5.15. Barras de error que indican la media y la desviación estándar de la diferencia en años entre EC / eLICD, eSA y eSP en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida 138

Figura 5.16. Diagrama de cajas de la diferencia en años entre EC y eSA, así como entre la eLICD y eSA en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida..... 138

Figura 5.17. Diagrama de cajas de la diferencia en años entre EC y eSP, así como entre eLICD y eSP en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida	139
Figura 5.18. Diagrama de cajas de la diferencia en años entre la eLICD / eSA y eLICD / eSP en la Población Contemporánea Sin Edad Cronológica Conocida	139
Figura 5.19. Barras de error que indican la media y la desviación estándar de la diferencia en años entre eLICD / eSA y eSP, así como entre eSA / eSP en la Población Contemporánea Sin Edad Cronológica Conocida	140
Figura 5.20. Diagrama de cajas de la diferencia en años entre eLICD / eSA y eLICD / eSP en la Población Prehispánica	140
Figura 5.21. Barras de error que indican la media y la desviación estándar de la diferencia en años entre eLICD / eSA y eSP, así como entre eSA / eSP en la Población Prehispánica	141
Figura 5.22. Ejemplo de la destrucción de la microestructura del cemento dental por procesos diagenéticos	141
Figura 5.23. Ejemplo de tres casos con evidente lesión de enfermedad periodontal en los que se realizó la eLICD de manera exitosa	143
Figura 5.24. Superficies auriculares del individuo LICD-12 de 26 años de edad	149

Lista de tablas

CAPÍTULO 3	52
Tabla 3.1. Principales investigaciones que han utilizado el método de las líneas incrementales de cemento dental en humanos para estimar la edad biológica. (LICD= Líneas Incrementales de Cemento Dental; EC= Edad Cronológica)	90
CAPÍTULO 4	94
Tabla 4.1. Lista de muestras de la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida.....	96
Tabla 4.2. Lista de muestras de la Población Contemporánea Sin Edad Cronológica Conocida.....	97
Tabla 4.3. Lista de muestras de la Población Prehispánica	98
Tabla 4.4. Causas de muerte en algunos de los individuos de la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida	99
Tabla 4.5. Referencia de la edad del brote dental en una población mexicana	105
CAPÍTULO 5	107
Tabla 5.1. Resultados de la eLICD en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida.....	110
Tabla 5.2. Resultados de la eSA en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida.....	111
Tabla 5.3. Resultados de la eSP en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida.....	113
Tabla 5.4. Resultados de la eLICD, eSA y eSP en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida.....	115
Tabla 5.6. Resultados de la eSA en la Población Contemporánea Sin Edad Cronológica Conocida.....	117
Tabla 5.7. Resultados de la eSP en la Población Contemporánea Sin Edad Cronológica Conocida.....	119
Tabla 5.8. Resultados de las eLICD, eSA y eSP en la Población Contemporánea Sin Edad Cronológica Conocida	121
Tabla 5.9. Resultados de la eLICD en la Población Prehispánica	122
Tabla 5.10. Resultados de la eSA en la Población Prehispánica	123
Tabla 5.11. Resultados de la eSP en la Población Prehispánica	125
Tabla 5.12. Resultados de la eLICD, eSA, eSP y eOIM (*cierre epifisiario; ** desgaste dental) en la Población Prehispánica	127
Tabla 5.13. Resultados de las pruebas no paramétricas y de estadística descriptiva de la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida.....	128

Tabla 5.14. Resultados de las pruebas no paramétricas y de estadística descriptiva de la Población Contemporánea Sin Edad Cronológica Conocida.....	129
Tabla 5.15. Resultados de las pruebas no paramétricas y de estadística descriptiva de las Población Prehispánica.....	130

Agradecimientos

Sin la libertad y confianza con que me dejaron investigar tanto mi tutor, Dr. Luis Alberto Vargas, como mis asesores, Dr. Lauro Bucio y Dr. Carlos Serrano, esta tesis no habría sido posible. Por ello les daré siempre las gracias.

Asimismo, agradezco la lectura y comentarios que vertieron sobre este manuscrito las doctoras Josefina Mansilla Lory y Abigail Meza, miembros de la mesa de Jurado.

Al Dr. Lauro Bucio le agradezco infinitamente que me abriera las puertas del Laboratorio de Cristalofísica y Materiales Naturales del IFUNAM. Porque desde hace diez años me ha brindado su continua enseñanza y apoyo incondicional para forjar y alcanzar mis metas académicas. Su espíritu siempre entusiasta, en aras del conocimiento, ha sido inspirador y un ejemplo a seguir.

El incondicional apoyo técnico y moral, la amabilidad y disponibilidad de los integrantes del laboratorio arriba mencionado, ha sido crucial para la sección experimental de este trabajo: Leticia Trejo, Eréndira Martínez, Ángel Osornio, Gabriela García y en especial al Dr. Eligio Orozco, por su interés y apoyo con su proyecto Conacyt.

Agradezco al Dr. Jesús Arenas del IFUNAM por su ayuda en el área de microscopía, así como al personal del Laboratorio Central de Microscopía del IFUNAM: Roberto Hernández, Diego Quiterio y Mario Monroy.

De manera especial quiero dar las gracias a Pedro Mexia Hernández del Laboratorio de Física de Nuevos Materiales, del Departamento de Materia Condensada del IFUNAM, por permitirme utilizar el equipo del mismo. Además, sin su ayuda, consejo y confianza no hubiera podido desvelar y fotografiar las líneas incrementales de cemento dental. Así también agradezco al Dr. José Reyes Gasga, titular de dicho laboratorio.

Al bioarqueólogo, investigador, profesor, emprendedor, pionero y amigo de tantos años Jorge Arturo Talavera González le agradezco su confianza y apoyo incondicional para llevar a cabo esta investigación. Aprecio de manera infinita el que me haya permitido analizar la colección osteológica mexicana San Nicolás Tolentino, resguardada en la Dirección de Antropología Física (DAF) del INAH, en las instalaciones del Museo Nacional de Antropología, en la Ciudad de México. De igual manera, a David Volcanes de la Osteoteca de la DAF, le agradezco su ayuda en el manejo de los materiales.

El amor y apoyo incondicional de mi esposo y compañero de vida, Gordon, fueron fundamentales para llevar a término este ciclo académico y lo serán para abrir nuevos.

Siempre les daré las gracias a mi mamá Serafina y a mi papá Victor Manuel, porque sin ellos no estaría aquí y no sería lo que soy.

Esta investigación fue realizada gracias al apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

A todos, muchas gracias.

Introducción

A lo largo de muchas décadas, para la antropología física, la búsqueda de una técnica que estime la edad al momento de la muerte con una correlación perfecta con la edad cronológica —es decir, el tiempo que ha vivido una persona, medido en años, meses, horas, minutos o segundos— ha resultado ser, por mucho, una empresa difícil de lograr. Pero no sólo eso, la falta de dicho método sigue siendo uno de los temas más controversiales en el campo de la osteología antropológica (Mays, 1998; Cox, 2000; Jackes, 2000; Chamberlain, 2006; Cunha *et al.*, 2009).

Cuando se evalúa un esqueleto para conocer la edad a la que feneció, se está frente a un 'documento' en el que se observan cambios que pueden asociarse al curso progresivo de la edad cronológica. Pero estos cambios en el hueso no son, en su mayoría, resultado del tiempo *per se*, sino que muchos de ellos resultan de la influencia sistémica que ejercen los cambios degenerativos de otros órganos y tejidos (Manolagas y Cummings, 2013). Lo que obtenemos cuando asignamos un valor cuantitativo a cada uno de dichos cambios es una estimación de la edad biológica, que no es absoluta como la edad cronológica. Si bien la edad biológica estima el estado funcional de un individuo tomando como referencia a sus iguales de edad cronológica para ver cuán bien están sus funciones en comparación con estos últimos (Karasik et al., 2005), también se refiere a los cambios morfológicos, biológicos, fisiológicos y mentales que experimentó el individuo a lo largo del tiempo, bajo condiciones ambientales aceptables.

Al momento de morir cada individuo tiene una edad cronológica particular —misma que sólo puede determinar con precisión el tiempo transcurrido desde el nacimiento— la edad biológica no tiene por qué ser necesariamente la misma. Por ejemplo, si se comparan dos personas con la misma edad cronológica una puede tener un mayor grado de deterioro en su organismo y la otra una acumulación menor de problemas de salud, por lo cual la primera se considera de mayor edad biológica (Milne, 2006). Empero, es importante señalar que la edad cronológica sirve como punto de referencia para comparar cuán distante está la edad biológica.

Pero ¿qué es lo que ocasiona que la edad biológica sea igual o diferente a la edad cronológica? La respuesta se concentra en las variaciones inter-individuales e inter-poblacionales de la longevidad, en el momento y/o magnitud en que se manifiestan las secuelas de los procesos del envejecimiento (Bae *et al.*, 2013), así como en el estilo y en las condiciones de vida¹. En este sentido, una estimación de la edad biológica confiable debería ser el resultado de las condiciones genómicas y medioambientales que alteran la asignación de energía para el mantenimiento y reparación del organismo (Levine, 2013).

En la actualidad se ha probado que la contribución genética para que varíe la duración de la vida y para que se presenten los procesos propios del envejecimiento sólo es del 25-30% (Herskind *et al.*, 1996; Hjelmborg *et al.*, 2006; Deelen *et al.*, 2013). Mientras que son los factores medioambientales quienes se encargan del resto. Los genes influyen en la longevidad pero no causan el envejecimiento (Barzilai *et al.*, 2012) y aunque este es un proceso biológico inevitable, hay una gran variación tanto en el ritmo en el cual la gente envejece como en los diferentes órganos y tejidos de un mismo individuo (Horvath, 2013). Si la expresión de los genes resulta alterada no es por su respuesta a la 'edad' *per se* sino por el estado del organismo (Kirkwood y Melov, 2011).

En la población viva, para la estimación de la edad biológica se utilizan biomarcadores o parámetros biológicos que cambian de forma sistemática con la edad cronológica. Sin embargo, en el curso a largo plazo el valor actual de cualquier biomarcador puede ser afectado por un efecto transitorio aleatorio. Por ello para aumentar de manera considerable la precisión de la estimación de la edad biológica se utiliza la edad cronológica como un biomarcador estándar adicional (Cho *et al.*, 2010).

En contraste, en el caso de las poblaciones pretéritas, con excepción de las momias, la estimación de la edad biológica está circunscrita al tejido óseo y dental, por lo cual el campo de acción para dicho propósito está reducido. Si bien algunos biomarcadores en hueso de la edad biológica han sido identificados, la comprobación de su variación concomitante con la edad cronológica no ha sido exitosa, en especial en individuos adultos (Mays, 1998, 2012; Jackes, 2000). Pero ¿por qué resulta tan difícil encontrar un biomarcador que cambie al compás del calendario y que deje sus huellas en los huesos? Primero hay que acentuar que en la población viva incluso los biomarcadores más constantes pueden ser sujetos a un comportamiento estocástico dinámico, lo que puede ocasionar una separación de la edad cronológica. Segundo, el tejido óseo es un sistema abierto, es decir que una multiplicidad de factores, aislados y combinados, confluyen,

¹ El estilo de vida se refiere a aquellas conductas que se adoptan de manera voluntaria o involuntaria, con repercusiones sobre la salud y la supervivencia. En cambio, las condiciones de vida son relativamente externas a la persona, aunque puedan modificarse en cierto grado (v.g. lugar en la familia, condiciones de higiene del hogar, nivel socioeconómico, calidad del aire que se respira, etc.) (Vargas 2014, comunicación personal).

repercuten y causan modificaciones en el metabolismo óseo y por lo tanto en su envejecimiento. Además, como el conocimiento sobre la dinámica biológica de los biomarcadores de la edad biológica en hueso continúa sin ser explorado, es probable que no estén asociados de manera exclusiva con la edad cronológica sino también con otros factores que aún no han sido identificados (Mays, 2012).

Aunado a lo anterior, el problema de la estimación de la edad en restos óseos adultos recae también en la falta de claridad sobre lo que se quiere conocer y los recursos que se tienen para llegar a ello. ¿Buscamos una estimación de la edad biológica para conocer qué tan normales, acelerados o retrasados se manifiestan los procesos de envejecimiento en un individuo o una población? o ¿requerimos de una estimación de la edad cronológica para poder identificar a un individuo? Las respuestas a esto corresponden, de manera respectiva, a las investigaciones bioarqueológicas y forenses. Como en ambos campos de estudio es necesario reconstruir el perfil biológico de los individuos, la 'edad' *per se* conduce a la identidad física básica de una persona y contribuye a generar el perfil demográfico de una población. No obstante, en la práctica cotidiana se asume de manera casi automática que los biomarcadores de la edad biológica en hueso únicamente están asociados con la edad cronológica y sólo de soslayo se entrevé que tanto la genética como el estilo de vida afectan los ritmos en que se presentan los cambios relacionados con la edad (Işcan, 1989; Boldsen *et al.*, 2002). Tan es así que a la fecha son contados los intentos por explicar cómo los factores extrínsecos interactúan y repercuten en la variabilidad de los biomarcadores en el hueso (v.g. Campanacho *et al.*, 2012).

Desafortunadamente, por lo anterior, hasta la fecha se sigue haciendo referencia al enunciado de Maples (1989) que dicta que la estimación de la edad en los restos esqueléticos es, en última instancia, '*un arte, no una ciencia precisa*'. (Entendiendo en este caso arte como una valoración subjetiva, pero con base en la experiencia y el conocimiento, frecuentemente inconsciente, al contrario de la ciencia, con pretensiones de objetividad, consciencia y replicabilidad.)

Lo que sí es un hecho es que para satisfacer las necesidades arriba planteadas, requerimos de biomarcadores para estimar tanto la edad biológica como la edad cronológica. Al igual como sucede en la población viva, la estimación de la edad cronológica debe fungir como el biomarcador a partir del cual se midan las diferencias con otros biomarcadores de la edad biológica, porque sólo de esta manera se podrá obtener una estimación de la edad biológica confiable. A diferencia del hueso, en el tejido dental se han encontrado biomarcadores con el potencial de estimar la edad cronológica. En años recientes la racemización del ácido aspártico de la dentina (v.g. Rajkumari *et al.*, 2013) y las líneas incrementales de cemento dental (v.g. Wittwer-Backofen, 2012) han probado ser biomarcadores que guardan una gran proximidad con

la edad cronológica. Esto se puede explicar, en parte porque, en comparación con el hueso, pertenecen a sistemas más cerrados. Además, en el caso de las líneas incrementales de cemento dental su núcleo potencial para la estimación de la edad cronológica radica en la naturaleza única del cemento acelular, ya que su aposición continua responde a un ciclo biológico circanual de curso libre, es decir, que no depende de factores externos. Por otro lado, el uso de la racemización y de las líneas incrementales de cemento dental, como biomarcadores para estimar la edad cronológica, no depende de la aplicación de estándares derivados de otras poblaciones (Mays, 2012) por lo cual no se tiene el problema de la ‘imitación’ de la distribución de la edad de la muestra de referencia (Boquet-Appel y Masset, 1985; Lucy *et al.*, 1996; Boldsen *et al.*, 2002; Hoppa y Vaupel, 2002; Ross y Kimmerle, 2009).

Un aspecto muy importante que permitiría ver la estimación de la edad biológica —con la estimación de la edad cronológica como biomarcador— es la dinámica de la longevidad humana, cómo ha cambiado a lo largo de la historia de la humanidad. A partir de la Revolución Industrial la senescencia se ha aplazado por los cambios culturales y tecnológicos (Vaupel, 2010) y por ende la presencia de los procesos del envejecimiento se ha retrasado. El aumento de la esperanza de vida (al nacimiento) está entre los mayores logros del mundo. Sin embargo, aunque algunos científicos argumentan de manera optimista que los avances tecnológicos, en un futuro cercano, podrían extender la vida humana mucho más de lo que se puede vivir en la actualidad (De Grey *et al.*, 2002), otros establecen que —por lo que se refiere al aumento de la esperanza de vida humana— ya ‘topamos con pared’ y quizá incluso estamos siendo testigos de su declive debido a la obesidad y a la re-emergencia de amenazas de enfermedades infecciosas (Olshansky *et al.*, 2005). En la actualidad la mayoría de las muertes en todas las naciones (incluyendo países de medio y bajo ingreso económico) se debe a enfermedades crónicas asociadas con la edad: enfermedad cardiovascular, cáncer, diabetes, Alzheimer, entre otras. Sin embargo, se ha estimado que 80% de las enfermedades coronarias y diabetes mellitus tipo 2, así como 40% de los diferentes tipos de cáncer podría ser prevenido, principalmente, si se modifica el patrón de dieta en el que todas las sociedades modernas han ido convergiendo: alto consumo de grasas saturadas, azúcar, carbohidratos refinados y comida procesada; bajo consumo de fibras, fitonutrientes, frutas y verduras (Willcox, 2014). Por lo que sobra decir que este tipo de patrón de dieta (también conocido como 'dieta del Occidente') va de la mano de un estilo de vida y no sólo lleva a deficiencias nutricionales sino que promueve un grupo de problemas metabólicos que incluyen la obesidad, la reducción a la sensibilidad de la insulina, intolerancia a la glucosa, dislipidemia, así como factores de riesgo inflamatorio sistémico de las enfermedades más comunes relacionadas con la edad, además de que reduce el periodo de vida saludable (*Ibid.*).

Hemos asumido que en las sociedades desaparecidas los procesos del envejecimiento se presentaban más temprano en la vida por no contar con una 'condición nutricia adecuada', avances tecnológicos y prácticas de salud pública, como las tenemos hoy en día. Pero, tomando en cuenta lo anterior ¿hasta qué punto podemos seguir asumiendo esto? Por ejemplo, las personas mayores de Okinawa representan una de las poblaciones más sanas y longevas del planeta debido al tipo de dieta que han llevado — diametralmente opuesta a la de occidente—, por lo cual se ha retrasado la morbilidad típica relacionada con la edad (*Ibid.*). En contraste, en las sociedades modernas de occidente, se ha visto cómo la obesidad puede acelerar tanto la madurez sexual como los procesos del envejecimiento (Burt y McCartney, 2010; Olza *et al.*, 2014), ya que, por ejemplo, es un fuerte factor de riesgo para desarrollar y contribuir al progreso de la osteoartritis (Sellan y Berenbaum, 2013).

Todo esto tiene el potencial de contribuir a la variabilidad de algunos de los biomarcadores que se observan en el hueso. En este sentido la pregunta obligada a formular es ¿con qué confiabilidad podemos seguir usando referentes de biomarcadores de edad biológica en hueso de población actual para evaluar poblaciones esqueléticas del pasado?

Por otro lado, desconocemos cuán diferente puede ser la edad biológica de la edad cronológica, es decir qué tanto se pueden acelerar o retrasar las secuelas de los procesos del envejecimiento. En este sentido en un estudio de 2,462 individuos, en población viva, Hochschild (1994) encontró que la discrepancia entre edad biológica y edad cronológica oscila entre los 5 y 10 años, y Klemera y Doubal (2006) demostraron que es muy difícil que pueda alcanzar los 20 años. Pero ¿será lo mismo para la población de hoy que del pasado?

Hipótesis

Por su buena correlación con la edad cronológica la estimación de la edad por líneas incrementales de cemento dental puede utilizarse como un biomarcador para estimar la edad cronológica. El cual, al mismo tiempo, sirve para comparar si la estimación de la edad biológica obtenida por biomarcadores observados en diferentes estructuras óseas, es similar o diferente. El resultado de esta comparación puede proporcionar información sobre el ritmo de envejecimiento del hueso.

Objetivo general

Se analizan las líneas incrementales de cemento dental en una población mexicana contemporánea con edad cronológica conocida para verificar su confiabilidad para estimar la edad cronológica y se compara con la estimación de la edad biológica obtenida por dos biomarcadores de hueso: sínfisis púbica y superficie auricular. La comparación de las estimaciones de edad cronológica y edad biológica se utiliza para discutir si las diferencias o similitudes son indicadores del ritmo de envejecimiento. El mismo procedimiento se aplica a otras dos poblaciones sin edad cronológica conocida, una mexicana contemporánea y otra prehispánica.

Objetivos específicos

- Analizar cómo se ha dado el proceso de la longevidad humana desde una perspectiva evolutiva.
- Definir y explicar las diferencias entre la edad biológica y la edad cronológica, así como el uso de las mismas.
- Explorar los cambios relacionados con la edad que tienen lugar en el tejido óseo y dental.
- Comprender las causas biológicas que están detrás de las líneas incrementales de cemento dental.
- Discutir cómo el ritmo del envejecimiento se puede asociar a las diferencias entre las estimaciones de edad cronológica y edad biológica.

Estructura temática

Esta investigación está dividida en seis capítulos, en el primero *Longevidad humana. Perspectiva evolutiva*, se discute cómo se han dado los cambios en la esperanza de vida a lo largo de la evolución del género *Homo* y cómo de manera evolutiva se explica el fenómeno del envejecimiento. En el segundo *La edad humana y su relación con los cambios en el tejido óseo y dental*, se explican las diferencias existentes entre edad cronológica y edad biológica y se exploran los cambios relacionados con la edad que tienen lugar en el tejido óseo y dental. En el tercero, *Líneas incrementales de cemento dental*, primero se hace una revisión exhaustiva sobre la biología del cemento dental para entender la naturaleza de las líneas incrementales de cemento dental y después se da paso a explicar en qué consiste la técnica que lleva el mismo nombre, así como a discurrir sobre la naturaleza microestructural de las mismas. En el cuarto, *Material y Técnicas*, se presenta el conjunto de muestras analizadas en este estudio. Éstas se distribuyen en tres poblaciones: 1) Contemporánea con edad cronológica conocida. 2)

Contemporánea sin edad cronológica conocida. 3) Prehispánica. La primera y la segunda pertenecen a la colección osteológica contemporánea mexicana San Nicolás Tolentino, mientras que la tercera a los sitios arqueológicos de Tlatelolco, La Laguna y Palenque. Además, se describe el procedimiento técnico que se empleó para analizar las líneas incrementales de cemento dental. Asimismo, se indican las técnicas morfológicas que se emplearon para analizar la edad biológica, así como las pruebas estadísticas utilizadas.

Finalmente en el quinto y sexto capítulos, de manera respectiva, se presentan los resultados y la discusión, así como las conclusiones.

Capítulo 1. Longevidad humana.

Perspectiva evolutiva

1.1 ¿Desde cuándo vivimos tanto?

El alargado ciclo de la vida humana y la prolongada supervivencia de las mujeres después de la menopausia caracteriza y diferencia a nuestra especie del resto de los primates. La esperanza de vida al nacer de 1950-1955, en las regiones más desarrolladas del mundo, era de 66 años, mientras que en los países en vías de desarrollo era de 42 años, situación que ha cambiado para el periodo de 2010-2015, ya que ha aumentado a 78 y 67 años respectivamente (United Nations, 2012). En los países desarrollados la expectativa de vida se ha presentado con un crecimiento lineal, a un ritmo de tres meses por año durante los últimos 16 decenios, en los cuales los hombres presentan una tasa de crecimiento menor que la de las mujeres (Oeppen y Vaupel, 2002). En promedio, las mujeres tienen una mayor esperanza de vida al llegar a los 60 años, éstas pueden vivir 22 años más, mientras que los hombres sólo 18 años (United Nations, 2012). En México la esperanza de vida al nacer en 2010 fue de 77.8 años para mujeres y 73.1 para hombres (Vargas, 2012).

Aunque los antiguos egipcios describieran una longevidad máxima en su sociedad de 110 años, los romanos en sus inscripciones funerarias señalaran individuos octogenarios y los restos óseos procedentes de cementerios medievales hayan apuntado a individuos de más de 60 años, sería un error asumir que la esperanza de vida y la estructura de la edad en las primeras sociedades fueran similares a las de hoy. Un hombre o mujer de 65 años nos es tan común en nuestros días que no llama nuestra atención; sin embargo, en el pasado individuos de edades próximas a ésta pudieron ser casos poco frecuentes. La esperanza de vida al nacimiento en la mayoría de las sociedades del pasado osciló entre los 25 y 50 años (Acscadi y Nemeskeri, 1970; Arking, 2006). Durante los últimos 200 años, en el periodo de industrialización, en menos de 10 generaciones la esperanza de vida se ha duplicado por cambios tecnológicos y culturales más que por los genéticos, en especial por los avances en la higiene, medicina y salud pública, así como por un mejoramiento en la nutrición (Finch, 2010). No obstante, la moda de la edad de muerte de grupos de cazadores recolectores actuales es de 72 años (entre 68 y 78 años de edad) (Gurven y Kaplan 2007, citados por Vargas, 2012).

Definir qué tan antigua es la longevidad humana, entendiéndola como el número de individuos que sobreviven a la adultez mayor (Caspari y Lee, 2004), resulta una tarea difícil debido a que los restos fósiles no son suficientes y no reflejan la estructura de la edad de las poblaciones ancestrales, se pueden presumir tendencias en la edad del deceso de los individuos pero no cambios en la longevidad (Hawkes y O'Connell, 2005).

La historia biológica del género *Homo* apunta a que desde el origen de nuestra especie se hizo patente la tendencia evolutiva a extender el ciclo de vida con cambios paulatinos y/o progresivos supeditados por diversos factores. No obstante, esta directriz no es exclusiva de los humanos porque también se establece en los grandes simios, quienes viven dos veces más que los monos y los prosimios, lo que responde quizá a una relación alométrica².

En general los primates se encuentran entre las especies de selección- k ³. De ahí que los rasgos característicos humanos correspondan de manera clara con dicho tipo de selección: inmadurez física de los neonatos, desarrollo somático lento, tanto en el útero como en la etapa post-natal, alcance demorado de la madurez reproductiva y de la primera reproducción, así como la supervivencia prolongada después de la madurez reproductiva. Las interrogantes de cuándo, por qué, y a través de qué tipo de interacciones evolutivas este cúmulo de características surgió, es hasta ahora materia de muchas conjeturas y debates. Las adaptaciones bio-culturales del género humano han contribuido a estructurar la evolución del ciclo vital en formas únicas no vistas en otras especies animales. Es probable que las presiones selectivas hayan variado entre las especies de los extintos homínidos y los humanos a lo largo de toda su historia evolutiva. Esto sugeriría que los patrones actuales de la vida humana pudieran ser de génesis reciente, más que adaptaciones establecidas por largo tiempo.

De esta manera, el análisis del ciclo vital en grupos humanos contemporáneos y en las poblaciones de chimpancés puede ayudar a entender las características vitales que existieron en los albores de la evolución humana.

² Regla de proporcionalidad entre la estatura del organismo, el ritmo de desarrollo y la duración de la vida. Los animales grandes tienden a un desarrollo más lento y a una vida más larga.

³ Estrategia de reproducción r/k : Modelo de selección de características biológicas que promueven el éxito en determinados ambientes. Las especies que tienen un rápido desarrollo tienden a madurar y a reproducirse pronto, tienen muchas crías y muestran un periodo de vida más corto (selección $-r$) que las que se desarrollan lentamente con periodos de crecimiento prolongados, madurez retrasada, reproducción tardía y menos frecuente, pocas crías o nacimientos únicos y largos periodos de vida (selección- k).

Los chimpancés se usan de manera frecuente como un modelo viviente limitado de los ancestros de nuestro género, debido a que se ha comprobado nuestra proximidad genética (Chen y Li, 2001; Wildman et al, 2003)⁴ y porque presentan similitudes en el cuerpo y en el tamaño de cerebro con los taxones ya extintos (Robson y Wood, 2008; Wood, 2010). Se especula que el ancestro común que dejamos de compartir con *Pan* hace 5-7 millones de años (Kumar et al, 2005) pudo tener una esperanza de vida como la del chimpancé en vida libre, de 10 a 16 años (Hill et al, 2001; Finch, 2007)⁵. Sin embargo, con el surgimiento de los primeros *H. sapiens* anatómicamente modernos la extensión de la longevidad se duplicó hasta alcanzar los 30-40 años de vida (Figura 1.1) (Finch, 2007)⁶.

Pero ¿cuándo fue que la esperanza de vida comenzó a sobrepasar la de los grandes simios? No se puede asumir que los cambios hayan sido directos o siempre progresivos. En el reino animal la duración de la vida puede aumentar o disminuir en 10 ó 15 generaciones, en respuesta a la depredación o a la selección artificial (Finch, 2007). Una aproximación para discurrir sobre los cambios demográficos en el pasado radica en una relación alométrica. El peso del chimpancé, y probablemente del ancestro común, oscila entre los 30-40kg, mientras que los *Australopithecus* y otros homínidos tempranos presentaban un tamaño ligeramente mayor, 32-45 kg, lo que implicaría una vida tenuemente más larga que los primeros. Cuando el género *Homo* surgió sobrepasó dicho intervalo, *H. habilis*, 46 kg, y *H. erectus*, 55-66 kg, seguido de *H. heidelbergensis*, 62-80 kg, y *H. sapiens* (en el Pleistoceno Tardío), 63-66 kg. Empero, el intervalo de incertidumbre de la estatura adulta imposibilita el cálculo del incremento de esperanza de vida utilizando la fórmula alométrica (*Ibid.*).

No obstante, el incremento en la longevidad de *H. sapiens* se ha registrado de manera clara en el Paleolítico Superior y se ha asociado con los cambios demográficos y culturales propios de este periodo y no con los atributos biológicos del taxón (Caspari y Lee, 2006).

⁴ Un análisis basado en una súper matriz molecular de 15 genes mitocondriales y 43 nucleares demostró que, sin lugar a dudas, *Pan* es la especie más cercana al *Homo* anatómicamente moderno. Mientras que los gorilas, por su parte, están más alejados de los humanos que de los chimpancés y el orangután resulta ser el que guarda mayor distancia genética con nosotros (Fabre et al, 2009; Grehan y Schwartz, 2009).

⁵ La esperanza de vida al nacer de las hembras chimpancés en vida libre es de 14.6 años y de los machos es de 11.2 años. La longevidad máxima no rebasa los 60 años (Hill et al., 2001).

⁶ Este dato se basa en la extrapolación de los cazadores-recolectores actuales. Esperanza de vida media: 36.7, calculada por los Hiwi, 28; Kung, 35; Ache, 38; Yanamomo, 41; Tsimane, 42 (Gurven et al., 2007).

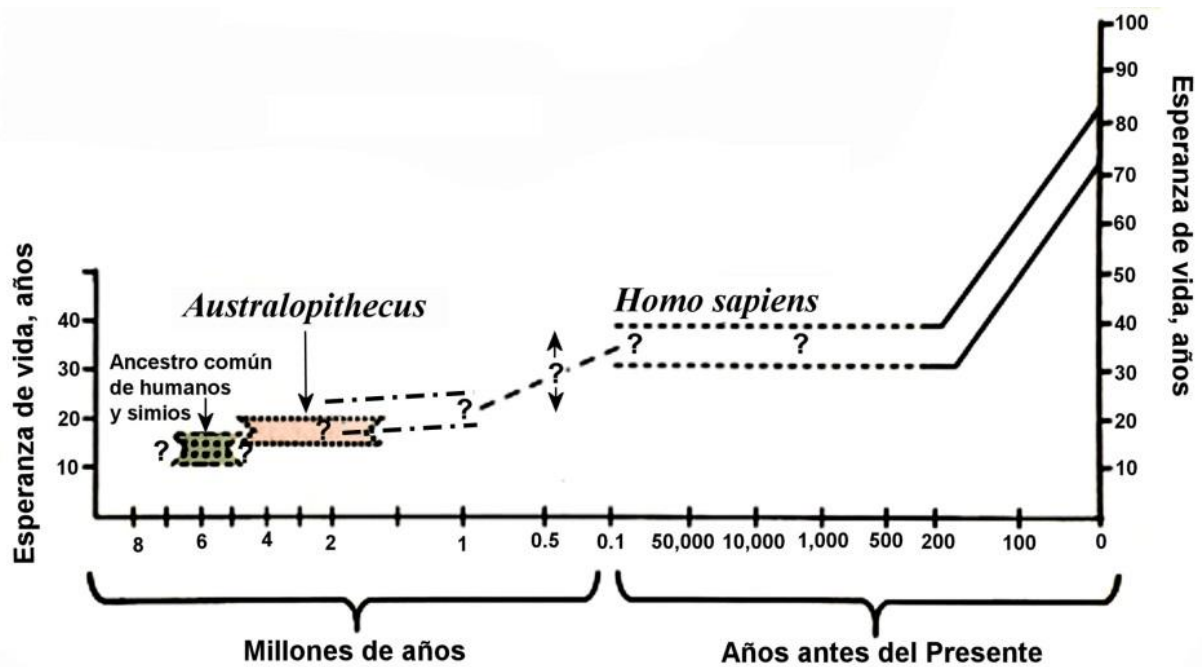


Figura 1.1. Evolución de la esperanza de vida (Tomado y modificado de Finch, 2007).

1.2 ¿Cuál fue la estrategia evolutiva para extender la esperanza de vida?

El ciclo vital de un organismo es la forma en que éste reparte, a lo largo de su existencia, sus probabilidades de supervivencia y reproducción (Stearns, 1992). Las estrategias evolutivas de las que se valen las especies están dirigidas para destinar la energía hacia el crecimiento, mantenimiento, reproducción, llevar a las crías a su independencia y evitar la muerte. Para los mamíferos estas estrategias son para saber cuándo nacer, destetar, cuántas y qué tipo de etapas pre-reproductivas de desarrollo se deben pasar, cuándo reproducirse y cuándo morir (Bogin, 1999).

De acuerdo con Bogin (2009) el motor detrás de este proceso evolutivo, dentro de la clásica selección Darwiniana, fue la búsqueda del éxito reproductivo —es decir, la habilidad para sobrevivir hasta la edad reproductiva y la capacidad de reproducirse—, a través del incremento de la capacidad de reserva (CR). Bajo este entendido, es probable que haya tenido lugar una evolución en las etapas vitales antes de alcanzar la madurez sexual. Por ello se pudo prolongar el periodo infantil, mientras que la adolescencia tuvo lugar como una nueva fase dentro del ciclo de vida. De esta forma, la fertilidad de la mujer pudo haber aumentado, así como la supervivencia y la longevidad.

El valor selectivo principal de estas nuevas etapas en el ciclo vital reside en la constitución de la CR, lo que conduce a ventajas reproductivas y de supervivencia para la vida adulta. Esta hipótesis se basa en que los sistemas fisiológicos de los mamíferos deben crecer, desarrollarse y madurar. Dichos sistemas (nervioso, pulmonar, cardiovascular, etc.), por lo general, rebasan su capacidad fisiológica necesaria durante los años previos a la adultez y al principio de la misma. En los humanos la CR es mayor que en el resto de los primates y en muchas especies de mamíferos; además, termina de construirse a los 25-30 años, que es cuando comienza el declive de muchos sistemas del cuerpo (Crews, 2003).

El aumento de CR en los humanos, en comparación con los grandes simios, se manifiesta en los recién nacidos al ser robustos con una reserva de grasa subcutánea que indica una inversión de recursos por la vía de la placenta durante el desarrollo prenatal; su cerebro es grande y continua con un crecimiento relativamente rápido.

La especie humana tiene más etapas de vida que ninguna otra especie de mamífero y más tiempo para crecer y desarrollarse que ningún otro primate. Si el ambiente es favorable, con sobreabundancia de recursos, físicos, biológicos, sociales y emocionales sobre los necesarios para mantener la capacidad física necesaria, entonces comienzan a tener un potencial mayor de CR cuando la etapa adulta y la reproducción comienzan. Crews y otros investigadores (Austad, 2006; Crimmins y Finch, 2006; Gurven et al., 2008; McDade, 2005) mantienen la hipótesis de que estas características conllevan a una gran CR en la vida temprana y tardía, y a “la inusualmente larga supervivencia post-reproductiva de las mujeres” (Crews, 2003). Un ambiente adverso causará una reducción de la CR, esto por lo general se expresa en la reducción del tamaño del cuerpo, capacidad de trabajo, funcionamiento cognitivo, éxito reproductivo y longevidad (Bogin et al., 2007).

1.3 ¿Cómo se dieron los equilibrios energéticos en la evolución del ciclo vital?

El costo energético para asegurar que los hijos sobrevivirán hasta la edad adulta y se reproducirán es muy alto. Para cualquier organismo la manera más simple de lograrlo puede ser la construcción de una capacidad suficiente dentro de las estructuras y mecanismos requeridos para almacenar más de la energía mínima necesaria (Crews, 2003). El desarrollo de la cultura hizo que el medio ambiente fuera menos estresante, lo que ocasionó que los humanos fueran capaces de usar sus recursos sobrantes para aumentar su CR corporal. Los animales que incrementan su CR desarrollan una “capacidad redundante” o una mayor “reserva fisiológica” (v.g. gran volumen

pulmonar; redundancia de células, tejidos y órganos; mayor número de células musculares; respuestas sensoriales más rápidas; mayor fuerza y velocidad; sistema inmune con mejor resistencia específica), por lo tanto están mejor capacitados para escapar de los depredadores y sobrevivir enfermedades, accidentes y ambientes con duras condiciones (*Ibid.*).

Los fenotipos que rebasan la capacidad mínima necesaria para sobrevivir y para tener éxito reproductivo aumentan su variabilidad e invierten la CR sobrante para alargar sus periodos de vida (*Ibid.*).

La supervivencia después de la madurez sexual, así como el potencial máximo de reproducción se determina por la CR que se tiene al llegar esa etapa. Durante el curso de la evolución la demanda para aumentar la CR para alcanzar un mayor éxito reproductivo, fue lo que movió al sistema. Hoy en día entre los humanos la CR remanente, después del esfuerzo reproductivo, es completa, vasta y está disponible para el mantenimiento corporal y para la longevidad (Larke y Crews, 2006).

La hipótesis de la CR postula cómo se dieron lugar los balances energéticos entre las características del ciclo vital, a través del modelo evolutivo multinivel. Este consiste en que la selección de cada nivel de la jerarquía biológica favoreció a distintas adaptaciones (Bogin, 2009; Wilson y Wilson, 2007). Estos niveles se explican a continuación.

1.3.1 Primer nivel: Inversiones del cuidado materno y nuevo soporte para el desarrollo del menor

Las mujeres en las sociedades tradicionales y los primates no humanos, en general, experimentan una reducción en la CR con el primer embarazo, la lactancia y otras inversiones del cuidado materno (Altmann y Alpert, 2003; DaVanzo et al., 2008; King, 2003). En el caso de las hembras chimpancés su etapa reproductiva comienza entre los 10 y 15 años (Goodall, 1986) — mientras que en los humanos actuales inicia, en promedio, a los 20 años (Gurven et al, 2007) —, tienen embarazos de una sola cría y el intervalo entre cada uno de ellos es muy amplio. Esto fue resultado de un destete tardío que tiene lugar entre los 5-10 años de edad, lo que marca el momento del siguiente periodo de gestación de la madre. Además sólo la madre procura a la cría y cabe señalar que pocos primates no humanos muestran una participación paterna en este sentido (Finch, 2007). Sin embargo, el cuidado materno extenso se encuentra en todos los simios, lo que implica que este rasgo se estableció desde hace por lo menos 10 millones de años.

1.3.1.1 Destete temprano

Aunque los humanos tienen un periodo de dependencia infantil mucho más largo que otros homínidos, los infantes son destetados antes que cualquier otro gran simio, a los 2.5 años en promedio (Kennedy, 2005). Cuando la selección favoreció un destete temprano en los humanos la CR de la madre aumentó. Al reducir el periodo de lactancia el intervalo de tiempo entre cada nacimiento se acortó. De esta forma las madres humanas generaron el potencial para producir dos crías en el tiempo que le toma a una hembra chimpancé producir una y conducirla hasta alcanzar su estado independiente. Para lograrlo, debió disponer de energía suficiente en reserva después del primer embarazo y de lactar, para entrar rápidamente en un nuevo periodo de gestación (Ellison, 2001).

Por otro lado, a pesar de los peligros que el destete temprano pudo acarrear para el menor, muerte por inanición, la selección apuntó hacia el desarrollo intelectual más que a la supervivencia del menor, como es el caso del destete tardío en los chimpancés. Para ello se favorecieron otros aspectos para soportar a la criatura durante un periodo crítico de desarrollo neurológico. El crecimiento del cerebro no pudo ser sostenido por más de un año sólo por la leche materna, por lo tanto el destete temprano debió complementarse por alimentos propios de los adultos, ya que esto es vital para la ontogenia de un cerebro de mayor tamaño. En este sentido además de la carne (Kennedy, 2005) el tuétano y los huevos de distintas especies pudieron servir de causa y solución.

1.3.1.2 Nuevos alimentos en la dieta: carne, tuétano y grasa animal

La incorporación de carne y tuétano en la dieta tuvo una fuerte participación en la evolución del cerebro y en el comportamiento complejo social. En los chimpancés el porcentaje calórico, de la ingesta total diaria, de tejido animal es aproximadamente el 5%, lo cual está muy por debajo del de los humanos. Algunos machos chimpancés cazan y comen monos u otros mamíferos pequeños, lo que en promedio resulta en 70g de carne por día. Sin embargo, su consumo regular no es esencial para su supervivencia; en algunas comunidades de chimpancés no se ha observado cacería ni consumo de carne (Finch, 2007). Los nutrientes importantes los obtienen de los insectos, en particular de las larvas de termitas que son ricas en grasa.

Mientras que los chimpancés ocupan el 75% de su caminata diaria buscando plantas para comer, los primeros Homo con la ingesta cárnica dejaron de invertir la mayor parte del día en un forrajeo interminable, además el trabajo digestivo se redujo de manera considerable.

La carne, de alto contenido energético, a diferencia de los vegetales, proporciona vitamina B12 y ácidos grasos poliinsaturados que se requieren para un desarrollo normal del cerebro. Al tener esta fuente alimentaria disponible, el riesgo de un mal funcionamiento neurológico por déficit esporádico en los infantes disminuyó.

La relevancia de aumentar el valor energético neto en la dieta diaria radica en que el equilibrio energético total afecta numerosos aspectos como la masa corporal, el ritmo de crecimiento, la reproducción, la defensa en contra de agentes patógenos y las inversiones en el aparato locomotor (Ellison, 2001; Aiello y Key, 2002).

En muchos sentidos el aumento del consumo cárnico pudo haber predicho un acortamiento más que un alargamiento en el ciclo de vida. Pero para que se pudiera dar este cambio en la dieta debió haber una serie de modificaciones genéticas para que se amortiguaran dichos efectos nocivos. El salto de una ingesta casi estrictamente vegetariana a una rica en proteínas y grasas de origen animal, favoreció la evolución del gen de la apolipoproteína E (ApoE)⁷. Este último se encarga de modular la inflamación crónica, varios aspectos del envejecimiento en el cerebro, así como la homeostasis del colesterol y lípidos en las arterias (Finch, 2010). También influye en el efecto del cortisol sobre la función cognitiva. Con el surgimiento de *Homo* el alelo apoE3 evolucionó, lo que otorgó una ventaja adaptativa al ser el regulador del colesterol producido por la grasa de la carne; además, redujo la fragilidad relacionada con la edad, los infartos cardíacos, el deterioro cognitivo y demencias en general.

El apoE de los grandes simios difiere en un aminoácido del de los humanos modernos, en la posición 61 (treonina a arginina, T61R). En algún momento en el pasado la mutación T61R ocurrió para producir la isoforma ancestral humana, apoE4. De manera subsecuente la isoforma apoE3 del género *Homo* surgió (arginina a cisteína, R112C) y se expandió ca. 0.226 mda (Fullerton et al., 2000), justo antes del primer fósil de *H. sapiens* 0.195 mda (McDougall et al., 2005). No obstante, el intervalo más bajo que se

⁷ El gen de la ApoE está situado en el brazo largo del cromosoma 19 y es polimórfico. Los tres alelos más frecuentes descritos en la población mundial son ε2, ε3, y ε4, que codifican las tres principales isoformas de la Apo E (E2, E3 y E4) y generan tres genotipos homocigotos y tres heterocigotos. La isoforma más frecuente de esta apolipoproteína es la E3, que se caracteriza por tener un residuo de cisteína en la posición 112 y uno de arginina en la 158 en la región de unión a receptores. Por su parte apoE4 (arginina y arginina) está asociada con colesterol elevado y es un factor que aumenta el riesgo de sufrir Alzheimer. En cuanto a apoE2 (cisteína y cisteína) está relacionada a la hiperlipidemia tipo III. Las tres isoformas difieren en su afinidad por la familia de receptores de lipoproteínas y partículas ricas en triglicéridos.

estima (0.176-0.579 mda) cae dentro del dominio de *H. erectus* (0.3-1.6 mda), lo que abre la posibilidad de que *H. neanderthal* compartiera apoE3 con *H. sapiens*. Por otro lado, la isoforma apoE2 (R158C) se expandió más recientemente (Finch y Stanford, 2004).

Hoy en día ApoE4 es el alelo que se presenta con menos frecuencia en toda la población. En general este alelo acorta la vida por varios años porque acelera los cambios degenerativos en las arterias y en el cerebro. Se relaciona de manera directa con niveles muy altos de colesterol en la sangre, mayor oxidación para los lípidos de la sangre y un alto riesgo de contraer enfermedad coronaria y demencias (Finch, 2010).

De esta manera, las modificaciones alimentarias y ambientales explican la aparición y fijación, por selección natural a favor de una ventaja evolutiva, del nuevo alelo apoE3, con el que se compensó o retrasaron las disfunciones y las enfermedades relacionadas con la nueva dieta (Finch y Stanford, 2004).

Por otro lado, otros genes evolucionados tienen funciones mediadoras en el metabolismo lipídico y en las defensas (Finch y Sapolsky, 1999). Los genes responsables de la eliminación de los priones son, a lo que parece, más eficaces en humanos que por ejemplo en chimpancés o en cualquier especie herbívora (Finch y Stanford, 2004).

La creciente resistencia a las infecciones debió ser crucial para reducir la mortalidad y alargar el ciclo de vida. Muchos genes, considerados como candidatos, influyeron en la resistencia a las infecciones transmitidas por la ingesta de órganos crudos (*Ibid.*). Así, en este mismo sentido, el ácido siálico en las membranas celulares debió tener una importancia principal en la resistencia de patógenos.

En lo que se refiere a la paleoantropología hay indicios de que *Australopithecus*, hace 2.5 mda, tenía una dieta omnívora, ya que se le asocian huesos de presas de mamíferos. Las huellas de corte corresponden al uso de herramientas de piedra para remover la carne o para partir los huesos largos de manera transversal, de forma tal que se pudiera extraer la médula ósea. A pesar de que la información es un tanto débil, al parecer el cambio de dieta se asocia con los orígenes de Homo, hace 2 mda. Hay indicios de que *Homo ergaster*, 1.9 mda aproximadamente, extraía la médula de los huesos y tanto *H. neanderthalensis* como los *Homo* más modernos consumían los cerebros de sus presas. Los *Homo* en comparación con los chimpancés y *Australopithecus* presentan una caja torácica menos acampanada y una pelvis más angosta, que son indicativos anatómicos de un sistema digestivo más pequeño (Carmody y Wrangham, 2009). De acuerdo con algunos análisis isotópicos, la dieta carnívora ya estaba establecida en el Pleistoceno Temprano (Bunn, 2007), así como también se ha visto en los especímenes de

Neandertal y en los humanos anatómicamente modernos en Europa, durante el Pleistoceno Tardío.

Por otro lado, el uso del fuego para cocinar los alimentos es otro aspecto relevante con impacto en el desarrollo de la evolución de nuestra especie. Actualmente no se conoce cuando inició el control del fuego. El intervalo que se propone va desde hace medio millón de años hasta el Paleolítico Superior, sin embargo un gran consenso estima que estuvo alrededor de los 200,000 años, justo cuando la emergencia de *Homo sapiens* comenzó (Wrangham, 2009). Empero aún no está claro si el fuego cuando se comenzó a controlar ya se usaba para cocinar. Además, el hecho de mantener el fuego en el campamento implicó un desarrollo cognitivo muy interesante al igual que sus consecuencias.

Al cocinar⁸ los alimentos el valor energético neto de los mismos aumenta de manera significativa y el costo de digestión disminuye en comparación con la carne cruda, asimismo se reduce el costo energético para desintoxicar y defenderse de ciertos agentes patógenos⁹. La cocción desnaturaliza las proteínas y gelatiniza el almidón, por lo cual se digieren los alimentos de forma más fácil. La cantidad de energía que se ganó por cocinar, indudablemente, tuvo una repercusión sobre la evolución (Carmody y Wrangham, 2009).

Por otro lado, de manera paradójica el proceso de cocimiento y asado de los alimentos también da paso a que se generen los productos de la glico-oxidación que son pro-inflamatorios e influyen en el daño oxidativo (Finch, 2007).

Una etapa posterior a la “adaptación de la carne” ocurrió con la emergencia de los asentamientos semi-permanentes, lo que introdujo nuevas presiones para la defensa inmunológica y la desintoxicación, así como beneficios de nuevos comportamientos higiénicos. Para el final del Paleolítico Medio se observan asentamientos más numerosos que implicaron un aumento a la exposición de infecciones y procesos inflamatorios por la presencia de carroña, heces, basura y humo de las hogueras al interior de las cuevas. La higiene debió ser problemática con el aumento de la densidad poblacional, en especial en los niños en etapa de aprendizaje de control de esfínteres (*Ibid.*). Este periodo pudo coincidir con la gradual reducción del tamaño del cuerpo humano después de 50,000 aap. Existe un consenso sobre la idea de que los primeros *H. sapiens* anatómicamente modernos tuvieron dimensiones más grandes que el promedio global actual. La biología del esqueleto de Homo, desde *H. erectus* hasta *H.*

⁸ Cocinar se define como el uso del calor para preparar la comida (Carmody y Wrangham, 2009).

⁹ Algunos patógenos no mueren por un cocimiento ordinario, por ejemplo los priones pueden sobrevivir más 120° C.

sapiens, muestra que en el Paleolítico y Neolítico temprano los adultos fueron en promedio 10% más altos y 30% más pesados que los cazadores-recolectores vivientes (Finch, 2007). Esto se ha observado en diversos especímenes de adultos (Rosenberg et al, 2006; Ruff et al, 1993). La reducción de estatura se debió, en parte, a la crecida carga de infecciones e inflamaciones durante la transición al sedentarismo con el aumento de la densidad poblacional (Finch, 2007).

1.3.1.3 La encefalización: costos y beneficios

En cuanto al proceso de encefalización, un cerebro más desarrollado proporcionó una defensa más eficiente en contra de la mortalidad, aumentó la flexibilidad del comportamiento, así como la capacidad para resolver problemas. La ecuación crucial radicó en el costo del desarrollo de la encefalización durante el periodo de crecimiento y en el beneficio que se obtuvo por ello en la edad adulta. Esta relación, tamaño de cerebro y duración del ciclo vital, se ha comprobado tanto en mamíferos como en primates (Barrickman et al., 2008). En las especies con cerebros grandes, las fases de crecimiento y desarrollo se extienden porque se necesita mucho tiempo para adquirir estrategias cognitivas complejas. Esto indica que el tamaño del cerebro y la longevidad coevolucionaron. En primates se observa una fuerte correspondencia entre la edad de la primera reproducción y la longevidad con el tamaño del cerebro, lo que demuestra que esto no es una estrategia exclusivamente humana (*Ibid.*).

La hipótesis del “capital corporizado” de Kaplan y colaboradores (Kaplan et al., 2003; Robson y Kaplan, 2003) señala que el tamaño del cerebro conlleva una fuerte inversión durante su crecimiento y desarrollo, por lo que disminuye la mortalidad y provoca un mayor éxito reproductivo. De esta manera el cerebro constituye un capital, por un lado el tejido neural monitorea el medio ambiente interno y externo del organismo e induce respuestas fisiológicas y de comportamiento hacia los estímulos. Por otro lado, tiene la capacidad de transformar experiencias del presente en ejecuciones futuras. La acción de la selección natural en el tejido neural se involucró en el aprendizaje y en la memoria. Por lo tanto, el costo del crecimiento cerebral en la etapa formativa de la vida y su manutención en los periodos subsiguientes es energéticamente alto. Sin embargo, el beneficio de dicha inversión se obtiene conforme el organismo envejece. Por ejemplo, si un cerebro grande constituye un alto costo en los primeros años de la vida y si se encuentra en un nicho donde hay poco que aprender, la productividad y el impacto que tendrá en la vida adulta será menor; en tal caso la selección natural tiende a favorecer un cerebro pequeño. Por el contrario, en un nicho con mayores desafíos, un cerebro pequeño podría ser conveniente en la etapa temprana de la vida del organismo por su

bajo costo, pero sería contraproducente después; por ello, en este escenario la selección natural apuntaría a un cerebro de mayores proporciones.

Si un organismo invierte tiempo y energía para lograr un cerebro grande debe ganar algún beneficio reproductivo para compensar estos costos. En los primates la duración de todas las etapas antes de la edad de la reproducción, con excepción de la lactancia, se correlacionan de manera positiva con el tamaño del cerebro. Empero, el costo del desarrollo no parece ser la causa del alto requerimiento energético del cerebro (Barrickman et al., 2008). Asimismo, se ha demostrado que en los primates no humanos el crecimiento del cerebro es muy variable en cuanto a velocidad y duración, debido a que puede ser completado antes o después del destete (Leigh, 2004). Por esto no se puede establecer una relación clara entre el tamaño del cerebro y su crecimiento postnatal con la duración de la lactancia. De esta forma, el desarrollo intelectual más que la supervivencia fue el principal objetivo de dicha selección en los humanos (Kennedy, 2005).

1.3.2 Segundo nivel: Equilibrio entre el grupo social y el infante

El recién destetado, con el nuevo embarazo de la madre y con un hermano recién nacido, requiere suministro de comida y cuidados, mismos que pueden ser otorgados por las abuelas (Hawkes et al., 1998; Hawkes, 2010) y por otros miembros del grupo social (Bogin, 2009). En las sociedades humanas estas personas deben estar genética o socialmente emparentadas.

En el caso de los chimpancés, las crías después del destete se alimentan por sí mismas (Goodall, 1986) a diferencia de los humanos que dependen del cuidado de los otros después de esta etapa. Por lo que sobra decir que en los grandes simios el bastimento y el soporte extra por parte de otros miembros del grupo se encuentra ausente (Hawkes et al., 1998).

Hawkes (1998, 2010) sugiere un símil del pasado ancestral con los cazadores-recolectores Hadza¹⁰, en donde el desempeño de las abuelas, en la recolección de alimentos difíciles de obtener y en el subsidio que dan a los niños destetados, es fundamental. Al ayudar a alimentar a los nietos destetados, las mujeres de mayor edad permiten a sus hijas embarazarse de nueva cuenta sin afectar la supervivencia de la cría anterior, con lo que elevan la fertilidad. Siguiendo con esta idea, ante el gran éxito reproductivo las mujeres en un papel importante después de la edad reproductiva

¹⁰ El pueblo Hadza vive en la cuenca del Eyasi del norte de Tanzania, que forma parte del sistema de África Oriental del Valle del Rift.

desacelerarían el proceso de envejecimiento y lo heredarían a sus descendientes. Es decir que la reducción en la mortalidad adulta lleva a un envejecimiento alentado y a un periodo de vida más largo comparado con otros primates. Sin embargo, la paleodemografía indica que sólo hasta el Paleolítico Superior Temprano se reconocen especímenes de *H. sapiens* con una longevidad mayor (Caspari y Lee, 2004, 2006), por lo cual, las “abuelas” no pudieron ser la fuente frecuente para procurar a los niños. En cambio, la hipótesis de la CR (Bogin, 2009) y el registro etnográfico apuntan a una gran base social para dicho soporte. Los participantes incluyen a los hermanos de la madre y del niño, otras relaciones genéticas y sociales, así como hombres y mujeres de todas las edades (Kramer, 2007). Este patrón de apoyo para las madres y los niños destetados es casi universal en sociedades humanas contemporáneas e históricas (Bentley y Mace, 2009).

1.3.3 Tercer nivel: Nuevas etapas pre-reproductivas en el ciclo vital

Los cambios en la velocidad del crecimiento durante las primeras etapas se relacionan con el balance de energía entre lo que se invierte en el cuerpo y las otras demandas en la vida en el grupo social (Gurven y Walker, 2006).

Los años adicionales en la infancia y adolescencia permiten que se tenga un tamaño de cuerpo más grande, así como una función de capital y CR más eficiente, a expensas de un retraso en la madurez reproductiva. La mayoría de las especies primates presentan tres etapas post-natales: infancia, juventud y adultez (Pereira y Fairbanks, 1993, 2002). Mientras que los humanos presentan dos etapas mas antes de la edad reproductiva (Bogin, 1988, 1999; Bogin y Smith, 1996; Hawkes et al., 1998; Gurven y Walker, 2006)¹¹. Por otro lado, el estudio reciente de restos fósiles indica que la niñez evolucionó antes que la adolescencia. Los restos fósiles de hace 2.2 mda, aproximadamente, indican que ya en este tiempo la etapa de la niñez estaba establecida dentro del ciclo vital y la adolescencia desde hace 780,000 aap. A partir de los análisis de la microestructura dental se ha comprobado que *H. erectus* tuvo un periodo de crecimiento ligeramente más alargado que *Australopithecus* (Dean et al., 2001). La erupción del primer molar permanente en *H. erectus* fue cerca de los 4.5 años, mientras que en los chimpancés es a los 3.5 años y en los humanos modernos a los ~6 años. El brote del segundo y tercer molar permanentes es a los ~8 y ~15 años, respectivamente,

¹¹ Ciclo vital (Bogin, 2001): 1) Infancia: desde el nacimiento hasta los 30-36 meses. 2) Niñez temprana: desde que termina el periodo de lactancia hasta los 6.9 años. 3) Niñez media: 7-10 y 7-12 años, niñas y niños respectivamente. 4) Adolescencia: 10-18 años en niñas, 12-21 años en niños. 5) Adulto. 6) Adultez mayor, postmenopausia en las mujeres.

en *H. erectus*, ~6 y ~11 años en chimpancés y ~12-13 y ~18-20 años en *H. sapiens sapiens* (Dean y Lucas, 2009).

La adolescencia pudo evolucionar por la interacción entre la selección natural y sexual. Los adolescentes aportan importantes cantidades de comida y trabajo para sus familias, por lo tanto hay mejoras en la reproducción de los padres y en la supervivencia de sus crías (selección natural). Los caracteres sexuales de cada sexo en la adolescencia ofrecen mejores oportunidades para el aprendizaje y la práctica de una amplia gama de habilidades económicas, sociales, políticas y sexuales. Este entrenamiento optimiza la CR biológica y especialmente la social. Lo anterior es consecuencia, no causa, de la selección natural de la adolescencia, ya que adquieren mejores habilidades de competencia (selección sexual y éxito en la reproducción/selección natural).

Por mucho tiempo se ha asumido que la relación entre el crecimiento cerebral post-natal y la prolongada etapa juvenil/adolescente se debe a que hay más tiempo para aprender y más oportunidades para adquirir destreza en las tareas difíciles (Dobzhansky, 1962; Gould, 1977; Kaplan et al., 2000). Sin embargo, varios estudios sugieren que muchas de las habilidades necesarias para sobrevivir alcanzan sus niveles adultos antes de que llegue la edad de la primera reproducción (Pereira y Fairbanks, 1993).

La energía que se asigna para el crecimiento del cerebro en las primeras etapas de la vida durante el periodo juvenil cambia y se utiliza para el crecimiento del cuerpo. No obstante, es posible que en un nicho complejo, como el de los forrajeros, se requiera tiempo y experiencia. Es por ello que la relación entre la duración del periodo juvenil, la adquisición de las habilidades complejas y el tamaño del cerebro se basa en la madurez cerebral prolongada a escala celular y por lo tanto también a escala de comportamiento (Barrickman et al., 2008).

Un cerebro inmaduro, aunque ya cuente con el volumen de uno adulto, no reacciona como tal frente a tareas complejas, sino hasta que el individuo alcanza su madurez reproductiva. En los primates la sinaptogénesis¹² se pone en marcha alrededor de la edad de la primera reproducción y la mielinización de las conexiones continúa hasta dicha etapa. En el caso de los humanos las áreas neocorticales, que controlan tareas cognitivas, se estabilizan en la madurez (Gogtay et al., 2004; Casey et al., 2005). De ahí que al tener una madurez cerebral alargada se tenga la necesidad de extender la etapa juvenil en el ciclo de vida (Kaplan et al., 2003). De esta manera, conforme el cerebro crece la red de interconexiones neuronales se va haciendo más compleja y este desarrollo continua a nivel celular durante toda la etapa juvenil.

¹² Es la formación de la sinapsis.

Dentro de los beneficios que obtienen los adultos por la inversión en el crecimiento y desarrollo de un cerebro grande está el aumento en la esperanza de vida, soluciones innovadoras a problemas ecológicos, flexibilidad en el comportamiento, elaboración efectiva de mapas mentales para la adquisición de comida y estrategias sociales complejas. Las habilidades cognitivas tienen el potencial de aumentar las posibilidades de sobrevivir y de reproducirse con éxito. El costo de aprender habilidades complejas de forrajeo se compensa por un excedente de producción de comida, por lo cual se reduce la mortalidad en adultos (Barrickman et al., 2008; Kaplan et al., 2000).

La extensión del periodo de crecimiento y longevidad en todos los organismos está determinada por la selección natural, ya que maximiza el esfuerzo reproductivo enfrentando una alta o baja tasa de mortalidad adulta de acuerdo con los recursos de energía disponibles (Robson y Wood, 2008).

Aunado a lo anterior, el límite fisiológico del ciclo de vida probablemente está marcado por la selección natural para balancear la energía invertida en el mantenimiento celular con una tasa de mortalidad a largo plazo (Kirkwood y Austad, 2000). En cuanto al mantenimiento del cerebro, la selección de proteínas que regeneran y remielizan los axones se encuentran, en general, en los organismos de larga vida (Finch y Sapolsky, 1999; Finch y Stanford, 2004; Allen et al., 2005).

1.3.4 Cuarto nivel: Largo periodo pre-reproductivo, larga vida post-reproductiva

El cuarto nivel de balance energético se da entre una reproducción en la etapa temprana de la vida contra un periodo de vida prolongado. En el caso de los chimpancés, las hembras muestran ciclos menstruales incluso después de la quinta década de vida (en cautiverio) y en raras ocasiones la menopausia se manifiesta¹³. Sin embargo la mayoría de las chimpancés, en vida libre, mueren durante sus años fértiles (Lacreuse et al., 2008).

La hipótesis de la CR predice que la longevidad post-menopáusica de las mujeres no evolucionó por selección directa por la función de las abuelas en el cuidado de los más pequeños, como lo postula Hawkes (1998), sino que el crecimiento y el desarrollo antes de la madurez crean una mayor CR y mas resiliencia biocultural.

¹³ Lacreuse et al. (2008) informaron sobre un caso de una chimpancé que al alcanzar los 57 años (la de mayor edad en un grupo de 20) dejó de presentar su ciclo menstrual y dos años después murió.

Por otro lado, la carga alostática¹⁴ también puede reducir cualquier CR disponible a una tasa relativamente alta, por lo que puede aumentar la mortalidad infantil, deteriorar la salud y la reproducción, así como aumentar la mortalidad adulta. Las bases fisiológicas de estas asociaciones se han estudiado ampliamente para mostrar la relación causal entre salud, estatus nutricional, fertilidad y mortalidad en relación con el eje hipotalámico-hipofisario-adrenal del sistema neuroendócrino.

Un significativo periodo post-reproductivo en la vida de las mujeres y hombres se deriva de una selección de la CR que se constituye durante el largo periodo de pre-reproducción.

1.4 Los albores de la mortalidad

Como se mencionó al principio, la esperanza de vida al nacimiento de *H. sapiens s.* se ha tornado dos veces más alta que la de los chimpancés en vida libre. Tanto la demografía como la patología del envejecimiento sirven, hasta cierto punto, para entender cómo los procesos del envejecimiento evolucionaron al prolongarse el periodo de vida. En este sentido las funciones inmunes y la nutrición funcionan como piezas importantes en la evolución tanto del envejecimiento como de la longevidad (Finch, 2010).

Para modelar la demografía en los *H. sapiens* tempranos Finch (2007, 2010) utiliza la población pre-industrial de Suecia en 1751 (por sus excelentes registros) (Oeppen y Vaupel, 2002) y la de los cazadores-recolectores actuales (Kaplan et al., 2000; Gurven y Kaplan, 2007; Hawkes y Robson, 2009). Ambas poblaciones viven en condiciones de nutrición adversa, poca higiene, enfermedades infecciosas, inestabilidad social y guerra. Su alta mortalidad en las primeras etapas de la vida restringió su esperanza de vida al nacimiento a 30-40 años. No obstante, a pesar de la baja supervivencia, la mitad de aquellos que llegaban a los 20 años alcanzaban los 60 años de vida. De esta manera, la mayoría de los cazadores-recolectores sobrevive más allá de la menopausia, a diferencia de los chimpancés en vida libre (Figura 1.2). Además, la supervivencia a edades mayores permitió la evolución de un soporte multi-generacional hacia los jóvenes.

¹⁴ Las respuestas al estrés severo que facilitan la supervivencia ante una situación amenazante para la vida, pueden ser adaptativas a corto plazo. Sin embargo, si la recuperación del trauma agudo no se acompaña de una adecuada respuesta homeostática para acabar con la respuesta adaptativa de los mediadores del estrés (neurotransmisores, neuropéptidos y hormonas), ocurrirán efectos psíquicos y físicos permanentes. De esta manera, la carga alostática se considera como una medida de la acumulativa carga fisiológica del organismo para adaptarse a los estresores y tensiones que demanda la vida (Azcarate, 2007).

La mortalidad a lo largo del ciclo de vida en la mayoría de las poblaciones de mamíferos forma una curva en forma de J: la alta mortalidad a edad temprana declina a mínima al llegar a la adultez, luego más allá de la mitad de la vida hay una aceleración exponencial de mortalidad que se asocia con un incremento de enfermedades degenerativas crónicas y disfunciones que colectivamente definen a la senescencia (Finch, 2010). Sin embargo, los humanos a diferencia de los chimpancés presentan una baja mortalidad en la etapa juvenil y adulta; la aceleración de la tasa de mortalidad comienza mucho después (Kaplan et al., 2000; Hill et al., 2001). Se ha visto que en seres humanos con buen estado de salud y en animales de laboratorio, la aceleración de la mortalidad es precedida por un aumento en la morbilidad por enfermedades degenerativas crónicas.

Desde 1800, la esperanza de vida al nacer en los países desarrollados ha ido en aumento progresivo hasta >79 años y la mortalidad durante el curso vital ha bajado 25 veces. En la época actual el límite para los años de vida en los humanos está en torno a los 120 años y se acepta que la persona que ha muerto con edad comprobable más avanzada es Jeanne Calment, quien feneció en Francia a los 122 años y 164 días (Vargas, 2012). Los humanos que llegan a los 100 años se denominan centenarios y conforman cerca del 0.01%-0.02% en las naciones desarrolladas (Jeune et al., 2009, citado por Finch, 2010). Mientras que quienes mueren con edades mayores a los 110 años se les llaman supercentenarios y su número aumenta en el mundo (Vargas, 2012).

La principal causa de mortalidad a lo largo de la historia de la evolución humana deben haber sido las infecciones, como se aprecia en los chimpancés en vida libre y en los cazadores-recolectores contemporáneos. En los primeros la mayor causa de muerte, en todas las edades, está relacionada con procesos infecciosos precedidos por heridas, accidentes o peleas. Además la tasa de mortalidad se acelera después de los 20 años de edad, lo que implica una disminución en la resistencia a las infecciones, así como una sinergia con otros daños (Goodall, 1986, citada por Finch, 2010). En los segundos sucede lo mismo, por lo que se infiere que las infecciones contagiosas y las heridas sépticas probablemente fueron las principales causas de muerte en las antiguas poblaciones que vivieron bajo condiciones no sanitarias (Gurven y Kaplan 2007; Gurven et al., 2007).

Además, casi todas las muertes antes de los 5 años debieron deberse a diversos procesos infecciosos (Crimmins y Finch, 2006).

La exposición a infecciones crónicas y procesos inflamatorios repercute en los procesos de envejecimiento, ya sea en la inmunosenescencia que involucra una reducción drástica del acervo limitado de células T no activadas, que se adquiere durante la madurez, o en las sinergias con enfermedades crónicas que tienen componentes inflamatorios.

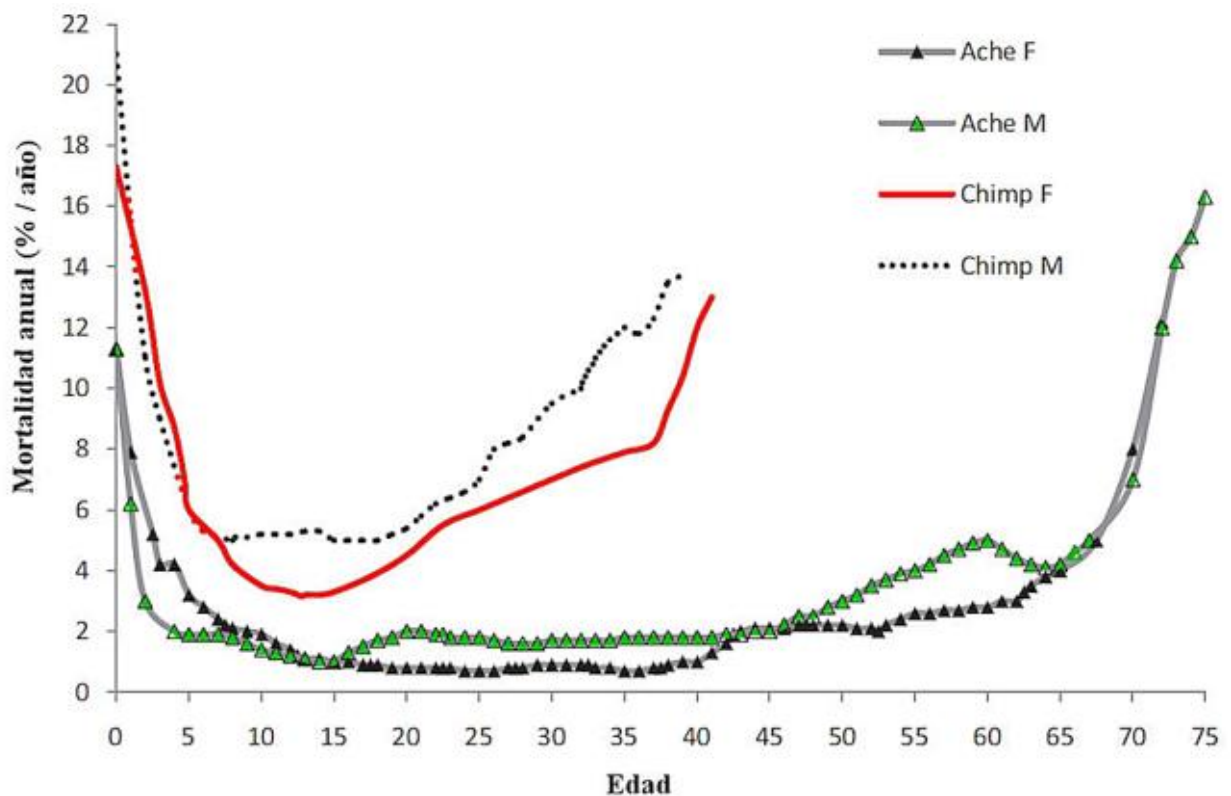


Figura 1.2. Comparación demográfica entre los sexos del grupo Ache y los chimpancés (Tomado y Modificado de Kaplan et al., 2000, p. 174). Para los chimpancés la tasa de mortalidad en la infancia es de 20% por año, posteriormente antes de la edad adulta disminuye a una mínima de 3.5% por año; su esperanza de vida al nacer es aproximadamente de 13 años, los individuos que alcanzan la adultez, a los 15, tienen una expectativa de vivir 15 años más. Sin embargo, muy pocos sobrepasan los 50 años, aún en cautiverio con el moderno cuidado veterinario. Hay dos factores que se deben considerar en la expectativa de vida humana, la aceleración de la tasa de mortalidad se retrasa y a lo largo de la vida hay una mortalidad mínima, aún en poblaciones con una alta carga infecciosa y mortalidad neonatal. Esta diferencia que se observa entre los humanos y los chimpancés se puede deber a una mejor respuesta inmune por parte de los primeros (Finch, 2010).

Los procesos infecciosos que se sufren a una edad temprana promueven enfermedades crónicas con componentes inflamatorios en estados tardíos, como las enfermedades cardiovasculares (Crimmins y Finch, 2006). Por ejemplo, la aterosclerosis comienza antes del nacimiento, con la acumulación de lípidos, monocitos, y daño oxidativo local; la dieta materna puede influir para la progresión tardía de la degeneración arterial. De acuerdo con la teoría de Barker¹⁵, aún la más breve infección que sufra la madre mientras esté gestando repercutirá en el crecimiento post-natal y acelerará el envejecimiento cardiovascular.

Aunque no se puede saber la incidencia de la enfermedad arterial o cáncer en las poblaciones tempranas se han encontrados momias o restos óseos antiguos que indican la presencia del padecimiento (Thompson et al., 2013; Merczi et al., 2014).

En los humanos la relación epidemiológica entre la obesidad y el colesterol alto en la sangre con la enfermedad de Alzheimer es compleja y controversial; las variaciones en los elementos traza, principalmente el hierro, pueden ser un factor para desarrollarla. Por otra parte, es posible que la hipercolesterolemia pueda promover un grupo de cambios parecidos a los del Alzheimer en los chimpancés bajo circunstancias específicas. Sin embargo en otros primates no humanos no se observa la extensiva pérdida neuronal que caracteriza la enfermedad en los humanos, por lo que es posible que este padecimiento sea una ruta de envejecimiento neurodegenerativo exclusivo de nuestra especie (Finch, 2010).

De esta manera, el progresivo aumento de la longevidad en los seres humanos lleva de forma intrínseca los procesos de envejecimiento, que ahora son inherentes al ciclo de vida de nuestra especie. Es por ello que a continuación se discurre sobre la evolución del envejecimiento, es decir por qué el costo de una vida más larga se cobra con la degeneración ineludible del organismo.

¹⁵ Barker (2002) plantea que la nutrición durante el período intrauterino y la exposición a infecciones luego del nacimiento determinan la susceptibilidad a enfermar en la edad adulta.

1.5 Teoría evolutiva del envejecimiento

Desde hace muchas décadas se ha buscado una explicación teórica del porqué organismos complejos —como los seres humanos— después de que crecen y se desarrollan de manera óptima hasta alcanzar la madurez reproductiva son incapaces de mantener lo ya formado, e inevitablemente se deterioran, envejecen y mueren. Muchas son las teorías que a lo largo de tiempo se han propuesto (v.g. mutación acumulada (Medawar, 1952), genes pleiotrópicos antagónicos (Williams, 1957), envejecimiento programado (Goldsmith, 2012), mecanismo bioenergético del envejecimiento programado (Trubitsyn, 2013), entre otras) pero quizá la teoría que tiene más sentido a la luz de la evolución (Dobzhansky, 1973) es la del soma perecedero (Kirkwood, 1990, 2008). Esta teoría se postula como no-adaptativa porque el envejecimiento es en sí mismo perjudicial para el buen estado del organismo (Kirkwood y Cremer, 1982), es decir que no tiene ventaja evolutiva alguna, lo cual implica que la fuerza de la selección natural declina con el aumento de la edad. El poder de la selección natural para contener y controlar la inestabilidad de los sistemas por el daño intrínseco y extrínseco que sufre el organismo es limitado. Esto es, que el envejecimiento resulta, principalmente, de una limitada presión evolutiva para invertir en mecanismos de mantenimiento somático y de reparación.

La teoría del soma perecedero propone que es energéticamente menos costoso —y por lo tanto, evolutivamente favorecido— construir un nuevo organismo de las células de la línea germinal —es decir, reproducirse— que continuar la inversión en el mantenimiento del soma (tejidos no reproductivos) del organismo progenitor, en especial si el riesgo de una mortalidad extrínseca (depredación, enfermedad, accidentes, etc.) es alto. No obstante, las adaptaciones evolutivas, por ejemplo como conchas protectoras o cerebros grandes, tienden a reducir la mortalidad extrínseca y se relacionan de manera directa con el incremento de la longevidad. De tal forma que el tejido somático se deteriora por falta de mantenimiento, lo que conlleva a la senescencia y a la muerte.

Bajo este postulado se distingue claramente el tejido somático del reproductivo, porque la línea germinal se debe mantener para que su preservación sea viable a lo largo de generaciones, mientras que el soma sólo necesita el soporte para sobrevivir a una sola generación. Por ejemplo, en el caso del salmón del Pacífico se sabe que justo después de que se reproduce sufre un envejecimiento súbito. Los experimentos han probado que no es que el sistema reproductivo tenga programado el envejecimiento sino que la asignación de recursos entre la reproducción y el mantenimiento podría estar sintonizado con las señales que toman en cuenta el estado del organismo con respecto a su fisiología y madurez (Kirkowwd y Melov, 2011). Por lo tanto, si al salmón les son removidas sus gónadas queda impedido para reproducirse pero en cambio, tendrá una

vida mucho más larga. El envejecimiento se entiende entonces como un sistema genético fallido, en donde el ritmo del fallo depende, hasta cierto punto, de la asignación de recursos entre el mantenimiento somático y la fecundidad. Para los metazoos el soma es el vehículo de la línea germinal inmortal, y el sistema falla después de la madurez reproductiva (Barzilai et al., 2012).

Los mecanismos que contribuyen a la senescencia son complejos y se desarrollan a través de múltiples interacciones que se desarrollan a lo largo del tiempo. De esta forma la teoría en cuestión, explica las implicaciones esenciales de los mecanismos que subyacen la fragilidad asociada con la edad, así como la enfermedad. En este sentido la compensación fenotípica es relevante porque a lo largo de la vida de un organismo se lleva a cabo la asignación óptima de los recursos entre sus diferentes actividades metabólicas. La inversión en un mejor mantenimiento somático iría en detrimento al crecimiento, reproducción y otras funciones para el mejoramiento de la salud. Es por eso que la inversión evolutiva es insuficiente para asegurar la inmortalidad somática, por lo tanto el envejecimiento ocurre por la acumulación gradual de una falla de reparación molecular, así como por daño celular.

Bajo este tenor, desde una perspectiva ecológica, la vida de un animal en su hábitat natural está restringida por causas extrínsecas de mortalidad (hambre, frío, depredación, infecciones). Por lo tanto, el mantenimiento somático necesita ser capaz de conservar a dicho organismo en buenas condiciones fisiológicas mientras tenga oportunidad de sobrevivir en su medio ambiente. Casi todos los mecanismos que necesitan mantenimiento somático y reparación (v.g. ADN, sistemas antioxidantes, etc.) requieren de recursos metabólicos. Por ejemplo, más del 90% de los ratones en vida libre no sobreviven al primer año de vida a causa del frío, principalmente, por su incapacidad de mantener la termogénesis y si hubiera alguna inversión, de cualquier recurso en reserva, para mejorarla quizá sólo se beneficiaría el 10% restante en términos de reproducción, más que en una mejor capacidad de mantenimiento somático y reparación. Lo que implica un daño acumulado que causa el envejecimiento y por ende la muerte (Kirkwood, 2008).

El envejecimiento se extiende a todas las especies e individuos (con contadas excepciones como la *Hydra* de agua dulce) y tiene reproducibilidad en cuanto a los cambios característicos del mismo, pero también cabe señalar que es notable la gran diferencia inter-individual que existe, al menos, entre la especie humana.

Los principales avances en cuanto al entendimiento de los factores que influyen en la longevidad (regulación coordinada del metabolismo, respuestas al estrés, factores reguladores, impactos del daño celular en los mecanismos de senescencia celular, efectos de la modulación epigenética, entre otros) son compatibles con la teoría del

soma precedero (Kirkwood y Melov, 2011). Asimismo, esta teoría se ha utilizado para explicar el envejecimiento dentro de la demografía humana, en cuanto a la transferencia del capital intergeneracional (Kaplan y Robson, 2009). Esto se refiere a la transmisión de energía (v.g. lactancia), así como de habilidades y conocimiento de individuos de edad avanzada hacia los de menor edad. El ser humano al tener la capacidad de acumular conocimiento durante toda su vida es capaz de transferirlo a la siguiente generación, lo que de manera indirecta significaría una ventaja evolutiva de la longevidad.

1.5.1 Genes versus medio ambiente

Es un hecho que cada especie cuenta con un genoma específico programado para llevar a buen término el crecimiento y desarrollo del individuo, así como para mediar las respuestas fisiológicas ante el estrés medioambiental, y de manera fundamental, para determinar su reproducción y fecundidad. Estos son aspectos comunes entre las especies y han sido moldeados por la selección natural (Barzilai et al., 2012). Sin embargo, ¿hasta qué punto los genes han intervenido tanto en la longevidad humana como en los procesos de envejecimiento? Está claro que la duración de la vida entre cada especie es un reflejo de lo que dicta su genoma, pero es obvio que las diferencias inter-individuales, en cada especie, no responden al mismo.

En este sentido sería incorrecto conferir a los genes una programación del envejecimiento sólo porque tienen grandes efectos en la duración de la vida de cada especie (Kirkwood y Melov, 2011), como algunos investigadores lo han inferido (v.g. Mitteldorf, 2010; Goldsmith, 2013). Los genes influyen en la longevidad pero no causan el envejecimiento (Barzilai et al. 2012) y aunque este es un proceso biológico inevitable hay una gran variación tanto en el ritmo en el cual la gente envejece como en los diferentes órganos y tejidos de un mismo individuo (Horvath, 2013).

En la actualidad se reconoce que en los humanos los factores medioambientales juegan un papel crucial para que varíe la duración de la vida, así como para que tengan lugar los procesos propios del envejecimiento. Por otro lado, se ha demostrado que la contribución genética (poligenética) en dichos procesos sólo es del 25-30% (Herskind et al., 1996; Hjelmborg et al., 2006; Deelen, et al., 2013).

En años recientes diversos grupos científicos han puesto énfasis en las marcas epigenéticas¹⁶ que en un organismo pueden ser alteradas por factores medioambientales a lo largo de la vida. Aunque algunos cambios en el código epigenético pueden ser positivos, otros están asociados con enfermedades severas (cáncer, trastornos neuropsiquiátricos, entre otros). Pero no sólo esto, sino que ciertas marcas epigenéticas podrían heredarse a más de una generación¹⁷ (Bohacek y Mansuy, 2013; Grossniklaus et al., 2013).

No obstante, pese a que las pruebas de lo antes dicho son pocas en humanos, el suceso histórico de la hambruna holandesa¹⁸ en el invierno de 1944-45 ha permitido documentar que las personas que fueron concebidas durante este periodo, es decir, que estuvieron expuestas *in utero* a un medio ambiente con escasez de alimento y estrés, al llegar a una edad adulta han presentado un aumento considerable de enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2, cáncer de mama, así como esquizofrenia adulta y depresión (Veenendal et al., 2013; De Rooij y Roseboom, 2013; Bygren, 2013).

Así, quienes fueron concebidos durante el invierno en cuestión ha envejecido más rápido que la que no fue expuesta a tales factores medio ambientales (De Rooij y Roseboom, 2013). La exposición prenatal a la hambruna holandesa pudo alterar procesos biológicos específicos (reducción de la capacidad funcional; reducción de la reparación somática; disminución de los sistemas antioxidantes; y la iniciación de la inflamación crónica) que ocasionaron una aceleración de los procesos del envejecimiento (De Rooij y Roseboom, 2013).

¹⁶ La epigenética es el estudio de los cambios hereditarios mitóticos y/o meióticos en la expresión de un gen sin que haya un cambio en la secuencia del ADN (Glossniklaus, en Glossniklaus et al., 2013). Las modificaciones postraduccionales (como la metilación, acetilación, fosforilación, sumoilación y ubiquitinación) regulan el ADN en cuanto a sus niveles de metilación, así como a sus proteínas básicas asociadas, además determinan la actividad transcripcional y la conformación de cromatina. Estas marcas, conocidas en conjunto como el epigenoma, se modifican de manera reversible y generan diversos patrones de expresión génica. Los procesos epigenéticos al integrar señales intrínsecas y extrínsecas provenientes del medioambiente, provocan una serie de cambios fisiológicos en los organismos porque permiten que acontecimientos externos dejen huellas bioquímicas en nuestro genoma (Bohacek y Mansuy, 2013).

¹⁷ El impacto que un medioambiente desfavorable puede tener en un feto durante su gestación se puede traducir en consecuencias fenotípicas. Además, debido a que las células germinales del feto también están expuestas, sus futuros hijos también podrían presentar los mismos fenotipos dañados. Si este fenotipo es transmitido a una tercera generación se estaría hablando de una herencia transgeneracional, un proceso atribuido a los efectos genéticos, pero que ahora algunos investigadores lo adjudican a un mecanismo epigenético. Esto es un tema de debate actual en este campo de conocimiento porque de resultar verdadero se tendrían que reescribir las reglas de la heredabilidad.

¹⁸ Durante la última parte de la Segunda Guerra Mundial, en el invierno de 1944-45, por el bloqueo Nazi, la región occidental de Holanda sufrió por cinco meses una severa escasez de comida. Se calcula que la ingesta diaria fue de 400-800 calorías (De Rooij y Roseboom, 2013).

Por otro lado, se sabe que el acortamiento de los telómeros¹⁹ es un marcador que puede ser utilizado para pronosticar la presencia de enfermedades relacionadas con el envejecimiento, así como muerte prematura. En un estudio reciente se dio a conocer que como resultado de un cambio radical en el estilo de vida la longitud de los telómeros puede aumentar (Ornish et al., 2013). Este estudio piloto consistió en monitorear por cinco años a un grupo de diez hombres con cáncer de próstata de bajo riesgo, que aceptaron cambiar su estilo de vida: dieta (baja en grasa y en carbohidratos refinados; alta en alimentos integrales, proteínas vegetales, frutas, verduras, legumbre y granos enteros), ejercicio aeróbico moderado (caminatas de 30 min diarios, 6 días a la semana), manejo del estrés (yoga, ejercicios de respiración y meditación, 60 min diarios), y sesiones de grupo de apoyo social (una vez por semana). Los resultados, comparados con los de un grupo control, demostraron un incremento relativo de la longitud de los telómeros. Esto comprueba el impacto que los factores medioambientales pueden tener sobre el genoma (que incluye genética, epigenética y transcripción), esto es, que el inicio o la continuidad de los procesos propios del envejecimiento se podrían retrasar o hasta se podrían revertir (Bollheimer et al., 2013).

Todo lo anterior apunta a que los organismos han desarrollado la capacidad de sentir las características del medioambiente para que su metabolismo se ajuste. La regulación de la longevidad por medio de la sensibilidad medioambiental (nutrición, estrés y otras vías) confiere una modificación genómica que no requiere de genes del envejecimiento. En cualquier caso lo que sí está programado es el ajuste de los niveles de las funciones de supervivencia (reparación del ADN, defensas antioxidantes, etc.) (Kirkwood y Melov, 2011).

Sin embargo, aunque la edad cronológica se asocia como el principal factor de riesgo para la mayoría de las enfermedades relacionadas con el envejecimiento, alcanzar una edad avanzada no resulta necesariamente en discapacidad o enfermedad. Esto se ilustra de manera clara con individuos excepcionalmente longevos (centerarios y supercentenarios — ≥ 110 años—) que pueden alcanzar edades muy avanzadas sin mayores discapacidades (Deelen et al., 2013). Lo que ha llamado la atención a algunos investigadores es que quizá este tipo de personas cuentan con genes que son de protección específica contra las enfermedades asociadas con el envejecimiento. Esto se ha inferido porque en algunos casos el estilo de vida de estas personas longevas no son

¹⁹ Los telómeros son estructuras nucleoproteicas que cubren los extremos de los cromosomas. La integridad de la estructura telomérica y su secuencia en hexámero de repetidos TTAGGG en su ADN es crítica para proteger los extremos de los cromosomas de la degradación y para mantener la estabilidad genómica total (Blackburn, 1991; De Lange, 2005). El número de repetidos TTAGGG se reduce durante cada división celular y, como consecuencia, la longitud del telómero disminuye en la mayor parte de las células diferenciadas durante la vida del individuo (Blackburn, 1991). El acortamiento de los telómeros puede ocasionar que se fusionen los extremos teloméricos y, como consecuencia, que se presente una gran inestabilidad cromosómica, la cual es un evento de iniciación clave de numerosas neoplasias.

especialmente saludables, muchos de ellos son obesos, fumadores o sedentarios y presentan los mismos genotipos de riesgo para desarrollar enfermedades al igual que la población en general (Barzilai et al., 2012). Por lo tanto, se ha sugerido que en vez de tener un genoma perfecto, los centerarios y super-centerarios deben de tener genotipos protectores (*Ibid.*). Aunado a que la heredabilidad de su extensa duración de vida es notablemente alta, sus hijos en la edad adulta media presentan un envejecimiento 'desacelerado', una prevalencia más baja de enfermedades relacionadas con la edad y muestran perfiles de 'juventud' para muchos de los parámetros metabólicos e inmunes (Slagboom et al., 2011).

La idea de que los genes fungen como reguladores de la edad ha llevado a la búsqueda de un 'reloj' del envejecimiento subyacente, debido al cual se establece la expresión de los genes. Empero, es muy difícil ver de qué tipo de 'reloj' se pudiera tratar, porque lo que sí es un hecho es que tanto el daño como sus respuestas relacionadas son, de manera fundamental, los que dirigen el proceso de envejecimiento y no el tiempo *per se*. Si la expresión de los genes esta alterada no es por su respuesta a la 'edad' *per se* sino al 'estado' del organismo (Kirkwood y Melov, 2011). No obstante, recientemente se ha descubierto que la metilación²⁰ de 353 biomarcadores del ADN varía de manera constante con la edad cronológica, lo que podría ser usado como un tipo de reloj biológico (Horvath, 2013) al igual que los telómeros. Sin embargo, aún se desconoce si el acortamiento de los telómeros o la metilación del ADN causan el envejecimiento o son causados por este último.

La excepción a la regla son los genes involucrados en los ritmos circadianos y otros ritmos biológicos (Karatsoreos et al., 2013), donde las señales externas y/o acumulaciones cíclicas de metabolitos proporcionan una señal, pero incluso en estos aspectos los genes no pueden fácilmente 'decir el tiempo' (Kirkwood y Melov, 2011).

El mayor reto para entender el envejecimiento y la longevidad es tratar con la complejidad, ya que son múltiples los mecanismos que actúan en diferentes niveles dentro del organismo y todos contribuyen a los cambios que llevan y se observan en la senescencia. Por lo tanto, resulta imperativo que los acercamientos reduccionistas, que

²⁰ La metilación del ADN consiste en la adición de un grupo metilo en el residuo de carbono 5 del anillo de pirimidina de las citosinas (5meC) contenidas en este ácido nucleico. La metilación del ADN conduce a cambios significativos en la estructura de la cromatina que interfieren con la habilidad de los factores transcripcionales de unirse a sus elementos regulatorios, dando lugar al silenciamiento de genes. La metilación del ADN es más estable que las modificaciones de las histonas y juega un papel central en muchos procesos biológicos como la impronta celular, la diferenciación, la inactivación del cromosoma X, la carcinogénesis y el envejecimiento (Levenson y Sweatt, 2005). Se ha encontrado que los patrones de metilación de los genes tienden a cambiar de manera progresiva con la edad (Deelen et al., 2013).

revelan detalles sobre facetas específicas tanto del envejecimiento como de la longevidad, se complementen con desarrollos y sistemas biológicos/culturales de manera integral.

Capítulo 2. La edad humana y su relación con los cambios en el tejido óseo y dental

2.1 Diferencias entre la edad cronológica y la edad biológica

La salud de los individuos es altamente heterogénea, así como lo es el ritmo en el cual envejecen. El envejecimiento es un fenómeno complejo, pero sin embargo, muestra notables regularidades en cuanto a las probabilidades de supervivencia y tasas de mortalidad. Aunque estas regularidades pueden observarse a escala de población, a nivel individual están enmascaradas por una gran variabilidad inter-personal.

A partir del nacimiento de un ser humano tienen lugar procesos multidimensionales de índole fisiológica, morfológica, psicológica y social. Todos estos acontecimientos en las primeras etapas de la vida transcurren en sincronía, en la mayoría de los individuos, con el paso calendárico de los meses, en un principio, y después de los años. No obstante, conforme avanza el crecimiento y desarrollo de un individuo, para alcanzar la madurez sexual y la etapa reproductiva, dicha concordancia cronológica, relativamente puntual, se va perdiendo de forma paulatina por la exposición a una diversidad de condiciones tanto medioambientales (intrínsecas y extrínsecas) como genómicas. Suele conservarse la secuencia de los componentes del proceso ontogenético, aunque su magnitud y cronología sea variable.

En este sentido, la edad cronológica (EC) si bien funge como un indicador de la etapa biológica en la que se encuentra un individuo, sólo puede determinar con precisión el tiempo que transcurre desde el nacimiento hasta un momento determinado o la muerte. Por otro lado, la edad biológica (EB), como una expresión cuantitativa, estima el estado funcional global de una persona o su estado general de salud en un momento particular de su EC (Bae et al., 2013). Por ejemplo, las personas con una determinada EC que presentan un mayor grado de daño, deterioro, falla y/o disfunción de sus organismos son considerados biológicamente de mayor edad si se comparan con otros individuos de su misma EC con una acumulación menor de problemas de salud (Milne, 2006). Es decir, dos personas con la misma EC pueden no tener las mismas capacidades físicas y mentales. Además la EB, aparte de servir para indicar los cambios propios del crecimiento y desarrollo antes de llegar a la edad adulta, se utiliza para examinar las

diferencias en los ritmos de envejecimiento, ya que la EC no puede ser confiable para dicho propósito y sólo sirve como un indicador de los mismos (Levine, 2013).

De esta manera, con la estimación de la EB se mide el nivel individual del daño y resiliencia que se ha acumulado en el organismo, y si se mide longitudinalmente puede ser usada para seguir la trayectoria del daño por un periodo de tiempo. Una estimación confiable de la EB debería ser el reflejo de los cambios en el ritmo de envejecimiento como resultado de las condiciones genómicas y medioambientales (restricción calórica, golpe de calor, estrés psicológico o exposición a especies reactivas de oxígeno, sólo por mencionar algunas) que alteran la asignación de energía para el mantenimiento y reparación del organismo (*Ibid.*).

Los diferentes ritmos individuales, principalmente desde que inician los procesos de envejecimiento, llevan a diferencias entre EC y EB. Los valores de la EB pueden variar ampliamente a cualquier EC determinada, y en última instancia, se espera que correspondan a las variaciones inter-individuales de la longevidad y del momento y/o la magnitud en que se presentan las secuelas del proceso de envejecimiento (Bae et al., 2013).

Todos los individuos enfrentan una variedad de diferentes adversidades pero en todos hay un común denominador: el número de problemas de salud aumenta con el envejecimiento y se acelera en los que tienen malas condiciones de salud (Yashin, et al., 2007; Kulminski et al., 2007). El envejecimiento se desarrolla de manera gradual y comienza por pequeños cambios en la salud (Kirkwood, 2005) que se van acumulando a lo largo de la vida adulta (Rockwood et al., 2011). Cuando dichos cambios son considerados por separado tienen sólo pequeños efectos sobre la salud, pero sus consecuencias al ser acumulativas se tornan significativas (Mitnitski et al., 2001; Kulminski et al., 2007).

Aunque el envejecimiento es un proceso que ocurre a lo largo de toda la vida, la incógnita radica en los cambios biológicos que ocurren después de la madurez sexual. Ruiz y Torres et al. (1990) desarrollaron una función vital teórica, como curva de referencia, basada en resultados experimentales del examen de la concentración de componentes de la sangre en muestras de 226 individuos sanos. De acuerdo con sus resultados la vitalidad máxima se alcanza aproximadamente a la edad de 30 años y muestra una constante declinación a partir de este momento.

Así, con la acumulación creciente de deficiencias funcionales se puede estimar el ritmo de envejecimiento (Mitnitski, et al., 2001). Se sabe que la trayectoria de la edad individual puede presentar un comportamiento estocástico dinámico²¹ y aunque, en promedio, las deficiencias que se acumulan con el tiempo pueden aumentar (lo que indica un empeoramiento de la salud) también pueden disminuir (lo que sugiere un mejoramiento de la salud) como resultado de intervenciones médicas, cambios en el estilo de vida, etc. (Mitnitski et al., 2013).

Pero no es sólo cuando comienzan a manifestarse los indicios del envejecimiento que la diferencia entre EC y EB puede ser notoria. A pesar de que por mucho tiempo se ha considerado que la EC funge como un indicador más preciso para el estado de desarrollo biológico un individuo y debido a la gran variabilidad inter-individual en tiempo e intensidad del desarrollo somático y de maduración ósea, se ha encontrado que la EB arroja información más precisa al respecto (Molinari et al., 2013). Asimismo, las funciones reproductivas al parecer están más influidas por la EB que por la EC, por ejemplo la reserva ovárica es un muy buen marcador para la EB del ovario. Aunque la EC es un factor predictivo muy importante para la fertilidad, así como para la respuesta ovárica, se ha encontrado que el envejecimiento reproductivo varía entre los individuos (Wiweko et al., 2013).

2.1.1 ¿Cómo se mide la edad biológica (EB)?

La mejor manera de medir la edad biológica y el ritmo de envejecimiento es por medio de un conjunto de biomarcadores (BMs) del organismo que cambian de forma significativa con la EC. Debido a que los tejidos y órganos cambian y envejecen a diferentes ritmos, es necesario obtener BMs de sistemas múltiples y combinarlos de la manera más eficiente para que reflejen el estado general del individuo (Bae et al., 2013).

Un biomarcador (BM) es una característica que se mide de forma objetiva y es evaluada como un indicador de procesos biológicos normales, enfermedades, condición física, marcadores genéticos y está orientado a definir los cambios relacionados con la edad (riesgo, enfermedad, pérdida funcional, discapacidad, fragilidad o la muerte inminente) (Crimmins et al., 2008). De esta manera, cualquier parámetro biológico que esté correlacionado con la EC de un organismo puede ser referido como un BM.

²¹ En un modelo estocástico general la acumulación de deficiencias resulta de las interacciones entre dos procesos: 1) el estrés medioambiental, que causa daño a los sistemas múltiples del organismo, y 2) el del control de daños y recuperación. Ambos procesos son intrínsecamente estocásticos debido a la multiplicidad de factores que no pueden ser controlados (Mitnitski et al., 2013).

Además, algunos BMs están fuertemente correlacionados con la EC y son dependientes del sexo, así como del grupo étnico (Crimmins et al., 2008).

De la estimación de la EB se puede obtener una medida cuantitativa más precisa de la tasa de envejecimiento que la otorgada por la EC. De esta forma, la EB, en población viva, se representa mejor por medio de la construcción de un índice que derive de varios BMs de un organismo que estén estrechamente relacionados con el mantenimiento de la vida y correlacionados, en cierto grado, con la EC.

Sin embargo, la estimación de la EB, tanto en la población del presente como del pasado, sigue siendo complejo y aún no está claro cómo se pueden integrar todos los marcadores biológicos existentes para que dicha estimación sea clara.

Debido a que la EB es un concepto abstracto, su validación hasta la fecha sigue siendo un tema controversial (Ingram et al., 2001, Levine, 2013) por la ausencia de su valor verdadero en la realidad. Aunque con ello la validación de la EB sea difícil, no se ha negado la existencia de su valor conceptual. De esta manera, la estimación de la EB se establece a través del examen de BMs específicos (Ingram, 1988; McClearn, 1997) y de la aplicación de un algoritmo (método estadístico) para valorarlos y así obtener un resultado cuantitativo.

En población viva los algoritmos que se han utilizado incluyen regresión lineal múltiple, análisis del componente principal, el método de Hochchild (1989a,b, 1994) y el de Klemra y Doubal (2006). Este último presenta mayor potencial para obtener resultados satisfactorios (Levine, 2013) porque considera que cualquier propiedad medible del organismo humano que cambie sistemáticamente con la EC puede ser afectada por el grado individual de envejecimiento y puede ser usado a manera de BM (Klemra y Doubal, 2006). No obstante, el curso a largo plazo de cualquier BM real puede ser supeditado por la EB individual, y es posible que su valor actual sea afectado por un efecto transitorio aleatorio.

Como ya se mencionó, la EC representa importante información de la EB y, en comparación con otros BMs, es la única que no está influenciada por efectos transitorios aleatorios por ser una medida absoluta del tiempo. Este hecho significa que la EC debe utilizarse como punto de referencia para comparar con los BM de la EB. Lo cual aumenta, de manera substancial, la precisión de la estimación de la EB (Cho et al., 2010).

De acuerdo con Hoschild (1994) las diferencias individuales entre EB y EC no pueden ser mayores de 10 años. En el método de Klemra y Doubal (2006) todos los biomarcadores están influenciados por un valor común de la EB del sujeto que puede diferir de la EC del mismo. Esto implicaría la existencia de muchas EBs

independientes, pero matemáticamente se ha probado la existencia de una EB universal (Cho et al., 2010).

A diferencia de la población viva, en poblaciones del pasado el proceso para estimar la EB es más limitado, porque sólo se cuenta con el tejido óseo y dental. No obstante, gracias a las huellas que ciertos procesos fisiológicos dejan en dichos tejidos se pueden ver y cuantificar algunos BMs.

2.1.2 Principales biomarcadores utilizados en población viva y esquelética para estimar la EB

De acuerdo con Crimmins et al. (2008) los BMs que se utilizan en población viva saludable, de manera general, se clasifican en: sistema cardiovascular (presión sanguínea sistólica y diastólica); procesos metabólicos (metabolitos) (colesterol y triglicéridos); indicadores de inflamación, inmunidad e infección; cambios en la función del sistema nervioso central; actividad en el eje hipotalámico-pituitario-adrenal (cortisol y dehidroepiandrosterona); sistema nervioso simpático (norepinefrina y epinefrina); función de los órganos (creatinina y cistatina C); estrés oxidativo y respuesta antioxidante; y marcadores genéticos (acortamiento de los telómeros y metilación del ADN).

En contraste, en poblaciones del pasado los BMs se concentran, principalmente, en los cambios morfológicos y estructurales (a nivel macro, micro y molecular) de regiones específicas del esqueleto, así como de los órganos dentales.

En el tejido dental los BMs más utilizados se pueden dividir de la siguiente forma: 1) *Etapas de formación del diente y brote dental* (Schour y Massler, 1941; Anderson et al., 1976; Gustafson y Koch, 1974; Demirjian y Goldstein, 1976; Rai et al., 2010a,b; Olze et al., 2005). 2) *Ritmo de formación de las estructuras incrementales en la corona de esmalte dental*: líneas de Retzius, surcos de la Periquimata y línea neonatal (Boyde 1963, 1989; Dean y Lucas, 2009). 3) *Cambios en el complejo dentino-pulpar*: aposición de la dentina secundaria (Bodecker, 1925; Kvaal y Solhiem, 1994; Cameriere et al., 2004, 2007; Rai et al., 2010a,b.), translucidez de la dentina radicular (Gustafson, 1950; Bang y Ramm, 1970; Lamendin et al., 1992), líneas incrementales del cemento dental (Gustafson, 1950; Stott et al., 1982; Wittwer-Backofen, 2012). 4) *Cambios en la composición química*: aumento del contenido de nitrógeno y calcio (Bang y Monsen, 1968, citado por Rai y Kaur, 2013) y racemización del ácido aspártico (Ohtani, 1995; Ogino et al., 1985; Gillard et al., 1990; Griffin et al., 2008; Alkass et al. 2010;

Rajkumari et al., 2013). 5) *Fluorescencia de la dentina radicular* (Kvaal y Solheim, 1989). 6) *Cambios en la corona por desgaste dental* (Brothwell, 1965).

En lo concerniente al tejido óseo los principales BMs que se utilizan se pueden agrupar en: 1) *Madurez ósea*: transición y fusión epifisiaria (Tanner et al., 2001; Shapland y Lewis, 2013, 2014; Cardoso et al., 2013; Langley-Shirley y Jantz, 2010; Shulz et al., 2008). 2) *Cierre de suturas craneales* (Meindl y Lovejoy, 1985; Shirley y Jantz, 2011). 3) *Cambios morfológicos y estructurales en el hueso coxal*: sínfisis púbica (Todd, 1920; McKern y Steward, 1957; Gilbert y Mackern, 1973; Brook y Suchey, 1990; Berg, 2008), superficie auricular (Lovejoy et al., 1985; Buckeberry y Chamberlain, 2002; Igarashi et al., 2005), acetábulo (Rougé-Maillart et al., 2004,2009; Rissech et al., 2006; Calce y Rogers, 2011; Calce, 2012), densidad y organización del hueso trabecular (Wade et al., 2011; Villa et al. 2013). 4) *Cambios morfológicos en las costillas*: extremidad esternal de la cuarta (Isçan, 1984, 1986; Harnett, 2010) y primera (DiGangi et al., 2009), histomorfometría del tejido cortical (Stout et al., 1994; Pavón et al., 2010; Cannet et al., 2011). 5) *Ritmo de remodelación del tejido cortical en huesos largos* (Kerley, 1965; Nor et al., 2013; Yoshino et al., 1994).

Por otro lado, en el campo de la paleodemografía, para captar el sentido general de la distribución de la EB a la muerte en colecciones esqueléticas de poblaciones específicas, varios estudios utilizan métodos Bayesianos (Konigsberg y Frankenberg, 2013), así como análisis de transición (Boldsen et al., 2002). No obstante, este último no es ideal si la muestra contiene un elevado número de individuos de avanzada edad, además no funciona, como se desearía, para estimar la EB en esqueletos individuales (Milner y Boldsen, 2012). Por lo tanto, lo más recomendable es la valoración individual con base en la experiencia del observador (*Ibid*).

Es importante señalar que la estimación de la EB en poblaciones desaparecidas tiene dos propósitos distintos: obtener la estimación de la EB individual e identificar el nivel de mortalidad en la población. Lo cual se correlaciona, respectivamente, con los intereses particulares de la osteología forense y arqueología (*Ibid*).

2.1.3 Correlación de BMs de población viva en esquelética

Los BMs que se observan en restos óseos y dentales de poblaciones pasadas son resultado tanto de diversos procesos fisiológicos, que tuvieron lugar durante la vida del organismo, como de la complejidad de los procesos de envejecimiento humano. Además, muchos de los cambios relacionados con la edad que se registran en el hueso resultan de la influencia sistémica que ejercen los cambios degenerativos de otros

órganos y tejidos (Manolagas y Cummings, 2013). Por ejemplo, el declive de la función ovárica que sufren las mujeres en la menopausia, desórdenes relacionados con la edad como la aterosclerosis, hipertrofia del miocardio, sarcopenia, resistencia a la insulina, enfermedad de Alzheimer o el síndrome metabólico, pueden ser factores determinantes para desarrollar procesos degenerativos en el hueso, porque pueden compartir las mismas causas biológicas degenerativas (Manolagas y Almeida, 2007; Sellan y Berenbaum, 2013).

2.2 Cambios en el tejido óseo relacionados con la edad

Es un hecho que con la edad humana la formación del hueso disminuye y la masa ósea se va perdiendo de forma paulatina. No obstante, se sabe muy poco sobre los procesos fundamentales del por qué el hueso envejece y pierde fuerza, así como de los mecanismos que median estos efectos (Manolagas y Cummings, 2013; Almeida y O'Brien, 2013).

2.2.1 Remodelación ósea

El hueso es un material compuesto por la triple hélice de colágeno tipo I, que le confiere flexibilidad y resistencia a la tensión, y por cristales de apatita cálcica, que le da rigidez y resistencia a la compresión. Los volúmenes relativos de cada fase varían para definir tanto los compartimentos cortical y trabecular como la zona de transición cortico-trabecular, que es una región de intensa remodelación ósea (Zebaze et al., 2010).

Toda la actividad celular que influye en la composición y estructura del hueso tiene lugar sobre la superficie endocortical, trabecular e intracortical (Seeman, 2013). Esta última se forma por el revestimiento de los canales de Havers y de Volkmann. La proporción del área de la superficie con el volumen de la matriz mineralizada determina el acceso para su remodelación, así como su integridad, además de su vulnerabilidad al deterioro cuando la remodelación entra en desequilibrio (Seeman y Delmas, 2006).

El volumen del hueso cortical (periostio y endostio) consta de un 70% de matriz mineralizada y un 30% de fluido extracelular. Los canales de Havers y de Volkmann forman la mayoría de la porosidad cortical, así como el área de la superficie intracortical, sobre la cual la remodelación, excavación y reemplazo de la matriz ósea

mineralizada tiene inicio (Seeman, 2013). Asimismo, las superficies intracortical y endocortical son conductos, entradas, por medio de los cuales las células de la máquina remodeladora obtienen acceso a la matriz mineralizada ósea del hueso cortical.

Por su parte, el hueso trabecular reside, principalmente, dentro de la cavidad medular, en las terminaciones de los huesos largos y en los cuerpos vertebrales. Es una composición de trabéculas dispuestas a manera de red abierta, constituida por un 30% de volumen de matriz ósea mineralizada y 70% de volumen vacío.

El esqueleto se remodela de forma continua a lo largo de la vida por medio de las actividades coordinadas de osteoclastos y osteoblastos. Los primeros derivan de células del linaje hematopoyético y se hacen cargo de la reabsorción ósea, mientras que los segundos se originan del linaje mesenquimatoso y son responsables de la formación del hueso. Con el envejecimiento el número de osteoblastos disminuye por el aumento de estrés oxidativo y el hueso reabsorbido por los osteoclastos no es restaurado por completo, debido a que el hueso depositado por los osteoblastos no es suficiente. Este desequilibrio lleva a la pérdida de fuerza y masa ósea y esto se debe a múltiples factores que incluyen mecanismos intrínsecos y extrínsecos de la disfunción celular.

Con el envejecimiento los tejidos pierden su capacidad regenerativa, lo cual conlleva a una respuesta deficiente ante un ambiente de estrés. Esto ha conducido a pensar que, al menos en parte, el envejecimiento se debe a la pérdida de células madre que son necesarias para la reparación del tejido (Sharpless y DePinho, 2007; Rossi et al., 2008). Además, el daño de los radicales libres ha sido considerado como un componente clave en la degeneración de tejidos y órganos asociados con el envejecimiento (Muller et al., 2007). La mayoría de las especies reactivas de oxígeno (ERO) se genera, en parte, en la mitocondria durante la fosforilación oxidativa. De esta manera, durante el envejecimiento se acumulan las mitocondrias disfuncionales y disminuyen los mecanismos de defensa antioxidante, lo que resulta en un aumento de los niveles de radicales libres. El exceso sustancial de ERO daña proteínas, lípidos y ADN. Así como el estrés oxidativo es responsable del daño que sufren los tejidos, con el envejecimiento y con varias enfermedades (diabetes, enfermedades cardiovasculares, cáncer y neurodegeneración), también lo es en la degeneración del hueso, porque disminuye la extensión de vida de los osteoblastos (Almeida y O'Brien, 2013). Algunos experimentos de laboratorio han probado que el aumento de EROs conforme avanza la edad representa un mecanismo patofisiológico que subyace a la pérdida de hueso (*Ibid.*).

Cuando la remodelación ósea se desequilibra las placas trabeculares se adelgazan y si la resorción es profunda se perforan. Además, la zona de transición entre el hueso cortical y trabecular se agranda como consecuencia de la pérdida ósea, intracortical y endocortical, por la edad avanzada.

Es importante señalar que tanto el modelado como la remodelación ósea son las vías celulares finales por medio de las cuales múltiples factores pueden influir en la composición y estructura ósea. El modelado óseo es el depósito de hueso sobre la superficie que no ha sufrido una resorción ósea previa; tiene lugar en diferentes sitios y sucede principalmente durante el crecimiento. Además, es responsable de los cambios en tamaño y forma del hueso. En cambio, la remodelación ósea es una resorción focal, reemplaza el hueso del mismo sitio y no produce ningún cambio en el tamaño o forma del hueso (Seeman, 2013).

En el adulto joven la remodelación ósea mantiene la composición del material y la estructura del esqueleto en un estado inalterado, porque a nivel celular los osteoclastos reabsorben un volumen de matriz mineralizada vieja o dañada y dan paso a que los osteoblastos formen el mismo volumen de matriz nueva en el mismo lugar. De esta manera los osteoclastos y osteoblastos conforman equipos de células de corta vida considerados como unidades óseas multicelulares (*UOM* o *BMUs Bone Multicellular Units*). Antes de la menopausia, las nuevas *BMUs* se generan a un ritmo lento y constante, además, hay un equilibrio entre las *BMUs* que excavan las superficies óseas y las que completan la remodelación ósea (*Ibid*).

Las células madre mesenquimales y los osteocitos son células de larga vida y por ello son más susceptibles que otros tipos de células óseas a los cambios moleculares causados por el envejecimiento (aumento de *EROs* y disminución de autofagia). Sin embargo, las células de corta vida como los osteoblastos progenitores y maduros, así como los osteoclastos también son afectados por un ambiente alterado por el incremento de la edad (bajos niveles de esteroides sexuales, aumento de glucocorticoides endógenos y lípidos oxidados muy altos) (Almeida y O'Brien, 2013).

Hay cuatro anormalidades que aparecen en los procesos de modelación y remodelación conforme avanza la edad. Primera, la aposición del periostio baja de manera precipitada después de completarse el crecimiento longitudinal y del cierre de las epífisis. Segunda y tercera, alrededor de la mediana edad, en ambos sexos, el equilibrio de las *BMUs* se rompe y se torna negativo por dos eventos: el volumen de hueso depositado y reabsorbido por cada una de las *BMUs* disminuye. Sin embargo, la reducción del volumen de hueso depositado es mayor que la del volumen de hueso reabsorbido, lo que produce un balance negativo neto.

Así, este balance negativo de las *BMUs* es la única base morfológica necesaria y suficiente tanto para perder como deteriorar la estructura ósea y es lo que causa la fragilidad del hueso. Frente a dicho balance negativo, la cuarta anormalidad ocurre en

las mujeres después de la menopausia porque hay un ritmo de remodelación acelerado que conduce a una pérdida y deterioro estructural óseo severo.

Bajo este tenor, las trabéculas se adelgazan o se remueven por completo, la superficie endocortical también se adelgaza, mientras que los canales de Havers agrandan su sección transversal, lo que ocasiona que las osteonas disminuyan su tamaño y por lo consiguiente el hueso intersticial aumenta. Lo que se traduce en una disminución de osteocitos, que va de la mano de una reducción en la fuerza del hueso, microfracturas y osteoporosis (Manolagas et al., 2013).

Asimismo, la trabécula se pierde rápido porque su área de superficie facilita la remodelación y sus placas adelgazadas son perforadas, lo cual provoca la pérdida de conectividad trabecular. Empero, considerando que el hueso trabecular comprende sólo el 20% de todo el esqueleto, en contraste con el 80% del hueso cortical, la pérdida del primero es más rápida que la del segundo. No obstante, la pérdida más lenta del hueso cortical iguala en cantidad la del trabecular durante los primeros diez años después de la menopausia. Esto es contrario a las nociones prevalecientes de que la pérdida de hueso trabecular domina después de la menopausia (Seeman, 2013).

A lo largo de la vida, la mayor pérdida ósea es cortical y ocurre, en su mayoría, después de los 65 años (Zebaze et al., 2010), se acelera con la edad y no baja el ritmo (Ensrud et al., 1995). De forma natural, la pérdida de hueso trabecular se desacelera conforme las trabéculas se van disipando. Como el hueso de los canales de Havers son reabsorbidos, estos coalescen y producen poros gigantes (en sección transversal), cortezas delgadas y fragmentadas (“trabecularizadas”). Con la edad avanzada, es muy probable que el hueso con apariencia trabecular se trate, en realidad, de fragmentos de hueso cortical (Seeman, 2013).

Cabe destacar que durante la vida, el patrón de cambio tanto del tamaño muscular como de los factores de crecimiento y de las hormonas esteroides sexuales influye de manera fundamental en la construcción del esqueleto (desde el nacimiento hasta que alcanza el pico de masa ósea) y en su deterioro (Manolagas et al., 2013).

2.2.2 Función de los esteroides sexuales en los cambios del hueso con la edad

Después del nacimiento los huesos largos crecen de forma longitudinal gracias a las placas de crecimiento, a través de la osificación endocondral. Las hormonas esteroides sexuales, la hormona del crecimiento, el factor de crecimiento insulínico tipo 1 (FCI-1), las hormonas tiroideas y los glucocorticoides son factores indispensables para el crecimiento longitudinal normal del hueso.

El aumento de los niveles de estrógeno al inicio de la pubertad, en hombres y mujeres, desencadena un rápido crecimiento longitudinal del hueso que, al final de esta etapa, cesa por medio del cierre de las placas (Manolagas et al., 2013). Casi la mitad del pico de masa ósea adulta se acumula durante dicho crecimiento acelerado (ocurre dos años antes en mujeres que en hombres) y es debido a las interacciones entre las hormonas esteroides sexuales y los factores de crecimiento.

La formación de hueso en el periostio es limitada por los estrógenos y es estimulada por los andrógenos. Las diferencias en los niveles de estas hormonas entre hombres y mujeres contribuyen al dimorfismo sexual, porque los primeros tienen más masa ósea que las segundas. De hecho, durante la pubertad los hombres acumulan más masa ósea en el periostio que las mujeres debido a que las dos hormonas esteroides promueven su aposición (*Ibid*).

En el caso de las mujeres, en la pubertad, la subida dramática de los niveles de estrógeno frena la aposición ósea del periostio, lo cual previene que sus huesos crezcan mucho y sean pesados. Al mismo tiempo hay una disminución de la absorción y un aumento en la formación ósea de la superficie endocortical. Esto podría estar relacionado con la necesidad de almacenar hueso reabsorbido en la superficie medular para permitir la formación del esqueleto fetal así como la lactancia (*Ibid*). Después de completarse el crecimiento y de alcanzar el pico de masa ósea, el esqueleto debe ser lo suficientemente fuerte para soportar todas las demandas de carga y fuerza mecánica que se presentan a lo largo de la vida adulta. En este sentido, la cantidad de masa ósea acumulada durante la etapa de crecimiento resulta ser un determinante crítico de riesgo para desarrollar osteoporosis en las etapas tardías de la vida. La adaptación del hueso a las cargas mecánicas es mucho mayor durante el crecimiento que después de que se alcanza el pico de masa ósea. La carga mecánica es muy importante para el mantenimiento de la masa ósea durante la vida adulta; durante la vejez o en personas que pasan largos periodos en cama por enfermedad o en vuelos espaciales, al haber una reducida actividad física la pérdida de hueso es rápida y dramática (*Ibid*).

Con la edad avanzada, el balance entre formación y reabsorción de hueso cambia de manera progresiva a favor de la reabsorción, lo que lleva a la pérdida de masa y fuerza ósea. Por más de 60 años se creyó que la degeneración del esqueleto humano era resultado de la disminución de los niveles de estrógeno asociada con la menopausia en mujeres y en menor medida en hombres. Sin embargo, en los últimos 15 años estudios y experimentos, tanto en humanos como en animales de laboratorio, se ha probado que la pérdida de hueso comienza inmediatamente después de que se alcanza el pico de masa ósea, es decir, mucho antes e independientemente de la disminución de los

niveles de los esteroides sexuales. De hecho, una proporción significativa de pérdida de hueso trabecular, relacionada con la edad, es independiente de los estrógenos (*Ibid*).

No obstante, después de la menopausia, como se mencionó antes, la pérdida de hueso trabecular resulta de una pérdida directa del efecto de los estrógenos en los osteoclastos. Al principio de la menopausia los huesos corticales se vuelven más delgados, como resultado, en parte, del aumento del diámetro medular. Estos cambios son consecuencia de que se pierden los efectos de los estrógenos sobre los osteoblastos progenitores, los cuales de forma indirecta aumentan la osteoclastogénesis. También la aposición del periostio aumenta con la menopausia porque al bajar los niveles de los estrógenos, estos ya no atenúan la expansión ósea. Empero dicha expansión ósea hacia el exterior del hueso, en teoría, podría parcialmente preservar su fuerza a pesar de la pérdida general de masa ósea. Sin embargo, el ritmo de reabsorción es mayor que el de aposición.

El ritmo de pérdida de hueso en mujeres durante los primeros 10 años después de la menopausia es bajo, es decir la pérdida de hueso es lenta e involucra principalmente al hueso cortical. Esto se atribuye al envejecimiento del esqueleto *per se* porque afecta de igual forma a hombres y mujeres. Los hombres tienen menos probabilidades de sufrir fracturas por fragilidad, en comparación con las mujeres, quizás porque acumularon más masa ósea durante la pubertad y porque no experimentan una pérdida abrupta de estrógenos como en el caso de las mujeres.

Después de los 65 años las mujeres pierden una parte importante de hueso cortical y con el envejecimiento aumenta el riesgo de sufrir alguna fractura independientemente de la masa ósea. De hecho, para dos personas con la misma densidad ósea 20 años de más edad cuadruplica el riesgo de sufrir una fractura (*Ibid*).

Los mecanismos relacionados con la edad que son intrínsecos al hueso (como el estrés oxidativo) son los protagonistas de la disminución de la masa ósea, mientras que los cambios relacionados con la edad en otros órganos y tejidos (como los ovarios) tienen sólo un efecto que contribuye a ello. Las deficiencias de las hormonas esteroides sexuales son sólo uno de muchos factores críticos que controlan la homeostasis del hueso.

Los estrógenos tienen un papel clave en la regulación del metabolismo del hueso y su pérdida relacionada con la edad afecta de igual manera a hombres y mujeres (Khosla, 2013).

2.2.3 Intervención de otros mecanismos en los cambios del hueso con la edad

Adipogénesis de la médula y oxidación de lípidos: El número de adipositos en la médula ósea aumenta de forma dramática con la edad, lo cual se relaciona con la disminución de la masa ósea con el envejecimiento. Por su parte la oxidación de lípidos aumenta con la edad y juega un papel crítico en el desarrollo de la aterogénesis. Esto estimula el estrés oxidativo y puede contribuir, como se ha mencionado antes, a la reducción de la formación de hueso.

Disminución de los factores de crecimiento: La hormona del crecimiento y el factor de crecimiento insulínico tipo 1 (FCI-1) son muy importantes para el crecimiento del esqueleto. A lo largo de la vida FCI-1 es el factor de crecimiento que más abunda en la matriz ósea y su bioactividad es regulada por la interacción con la proteína de transporte FCI tipo 3, además, contribuye al logro y mantenimiento de la masa ósea. Sin embargo, su nivel tanto en la circulación como en la matriz ósea disminuye de manera considerable con la edad, principalmente por la reducción de la hormona de crecimiento. De los 20 a los 60 años de edad, el contenido de FCI-1 en los huesos disminuye en un 60% (Mohan y Baylink, 1997). Por lo tanto, es posible que la disminución de los factores de crecimiento contribuyan a la pérdida de masa ósea con la edad (Almeida y O'Brien, 2013).

Inflamación crónica y la falta de actividad física: Son factores extrínsecos que con frecuencia se asocian al envejecimiento humano porque tienen el potencial de mediar algunos de los impactos negativos del deterioro esquelético. Aunque las citoquinas inflamatorias tienen un papel crucial en la pérdida ósea por la deficiencia de los esteroides sexuales, aún no se tiene claro su nivel de involucramiento. Sin embargo, aunque es posible que estos factores contribuyan a la osteoporosis en ciertos individuos, no puede haber una generalización (Almeida y O'Brien, 2013).

Osteoartritis (OA): Es la forma más común de enfermedad musculo-esquelética y por mucho tiempo se ha considerado como una degeneración asociada exclusivamente con la vejez. Hasta cierto punto la edad es el indicador más fuerte para el desarrollo de OA. Sin embargo, ahora se sabe que la obesidad y los traumatismos son fuertes factores de riesgo tanto para desarrollar OA como para su progreso (Mahjoub et al., 2012; Sellan y Berenbaum, 2013).

El cartílago y el hueso subcondral actúan como una unidad funcional para mantener la homeostasis de la articulación, misma que es interrumpida por la OA porque afecta a ambos componentes. Cualquier modificación en el cartílago o en el hueso subcondral conduce a la remodelación del otro (Mahjoub et al., 2012). Los productos finales de la glicación avanzada (AGEs *Advanced Glycation End Products*) se acumulan dentro del

cartílago con OA en cantidades que aumentan con la edad y se correlación de manera negativa con la cantidad de matriz producida. Los AGEs modifican las propiedades biomecánicas de la matriz, de forma tal, que provocan un aumento en la rigidez y por ello el cartílago es más vulnerable al estrés mecánico (Sellan y Berenbaum, 2013). Muchas de las moléculas involucradas y producidas en la patofisiología de la OA están relacionadas con alteraciones metabólicas y con la inflamación crónica sistémica, que ocurre como característica del envejecimiento celular de origen inflamatorio (*Ibid.*)

2.3 Cambios en el tejido dental relacionados con la edad

Los tejidos de la cavidad oral, blandos y duros, son cruciales para tres procesos de la fisiología humana: alimentación, protección del huésped y comunicación. No obstante, dicha cavidad está expuesta al mundo exterior y es potencialmente vulnerable a un ilimitado número de agresiones ambientales. Por lo cual, la mucosa oral, además de la saliva y de un complejo arreglo de tejido neuroquímico sensorial, defienden al huésped contra una plétora de microorganismos peligrosos y de compuestos nocivos.

Debido a que las actividades de los tejidos en cuestión, músculos de la masticación y expresión facial, así como los tejidos neuroquímicos sensoriales están finamente coordinados, cualquier perturbación de alguna de sus funciones puede, de manera significativa, poner en riesgo el habla, la alimentación, la defensa del huésped y por lo tanto disminuir la calidad de vida del individuo (Russell y Ship, 2008).

Tanto el envejecimiento como las enfermedades sistémicas, así como sus respectivos tratamientos, pueden influir en la salud y en la función de los tejidos de la cavidad oral. Por ello es importante identificar si los cambios están relacionados con la edad o con un padecimiento de orden sistémico o local. Se sabe, por ejemplo, que los dientes sufren un deterioro conforme avanza la edad, sin embargo, lo que sucede en los tejidos blandos podría ser contrario a ello. En general, los adultos mayores saludables, ante la ausencia de una patología oral y/o sistémica, no experimentan necesariamente una destrucción significativa de los tejidos en cuestión. No obstante, los cambios asociados a patologías orales (caries, pérdida de la inserción periodontal, disfunción periodontal), condiciones sistémicas (diabetes, enfermedad de Alzheimer, derrame cerebral, cáncer) y los tratamientos de las mismas (prescripciones médicas o la falta de éstas, radioterapia de cabeza y cuello) predisponen a las personas mayores a iniciar una enfermedad de tejido oral o contribuyen a su progreso.

2.3.1 Cambios en el periodonto

El periodonto está constituido por las estructuras que ofrecen soporte al diente: tejido conjuntivo gingival, ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar. Como ya se señaló, el envejecimiento causa alteraciones histofisiológicas y clínicas en los tejidos orales, lo cual debe ser diferenciado de los daños causados por diferentes procesos patológicos. Los cambios que dependen de la edad afectan a todos los componentes del periodonto, incluyendo las respuestas inmunes innatas (naturales) y adaptativas (adquiridas) (Rajendran et al., 2013).

Los cambios anatómicos y funcionales en los tejidos periodontales que se han asociado con los procesos de envejecimiento son algunos de los siguientes. En la gingiva el epitelio se adelgaza y la queratinización disminuye. Así también, disminuye el número de fibroblastos gingivales, los cuales están siendo constantemente afectados por bacterias y sus productos, como los lipopolisacáridos que liberan citocinas inflamatorias responsables de la destrucción periodontal (Abiko et al., 1998). Además, el balance entre la síntesis y degradación del colágeno se altera con el envejecimiento.

Por otro lado el contenido de fibras y células del ligamento periodontal disminuye y su estructura se vuelve irregular con el paso del tiempo. La quimiotaxis, motilidad y el ritmo de proliferación de las células del ligamento periodontal disminuyen, lo que tiene un efecto drástico en la integridad del mismo para la carga mecánica durante su funcionamiento. Las células del ligamento periodontal tienen un papel crucial en la homeostasis y destrucción del tejido periodontal, por lo que la disminución de su capacidad de proliferar y modificar la expresión de genes de respuesta inflamatoria, favorece su perfil pro-inflamatorio (Braga et al., 2012).

Con la edad la formación de hueso alveolar disminuye de manera constante por el efecto que las hormonas tienen sobre las células osteoblásticas, ya que provocan una disminución en los precursores osteoblásticos, así como en la síntesis y secreción de las proteínas esenciales de la matriz ósea (Abiko et al., 1998). Como ya se ha apuntado, el papel de los esteroides sexuales es crucial tanto para el desarrollo del esqueleto como para la homeostasis ósea y función inmunológica. De esta forma la disminución de estas hormonas sexuales con la edad también repercute en la susceptibilidad para desarrollar enfermedad periodontal, particularmente entre las mujeres (Shiau et al., 2014).

Se considera a las enfermedades periodontales como un grupo heterogéneo de padecimientos que afectan las estructuras de soporte de los dientes. Aunque su etiología es compleja, son un modelo de enfermedad crónica inflamatoria, capaz de influir en el estado general de salud y en la calidad del envejecimiento.

Podría debatirse que el aumento de la gravedad de la periodontitis con la edad avanzada es simplemente un efecto acumulativo de la exposición prolongada al entorno microbiano. Aunque el envejecimiento *per se* conduce a la pérdida fisiológica de la inserción del diente y del hueso alveolar, la periodontitis severa no es una consecuencia natural del envejecimiento. Estudios recientes sugieren que la degeneración del periodonto por la presencia de enfermedad periodontal se debe, principalmente, a la respuesta inmunitaria del huésped hacia los microorganismos y sus productos. (Rajendran et al., 2013). En este sentido, la inmunosenescencia se refiere a que con la edad avanzada la función del sistema inmunológico disminuye, lo que resulta en una susceptibilidad aumentada hacia las infecciones microbianas (*Ibid.*). La carga antigénica de la flora bacteriana que coloniza todas las superficies de la mucosa oral, incluyendo al periodonto, es responsable de la activación crónica del sistema inmunológico, así como de la hiper-producción de citocinas pro-inflamatorias. De esta manera, la elevación crónica de marcadores inflamatorios en las personas de avanzada edad se podría deber a la incapacidad de controlar las infecciones. Por ello es importante subrayar que existe una relación compleja entre los efectos potenciales que ejerce el envejecimiento sobre la inmunidad e inflamación con la enfermedad periodontal.

Asimismo, la estimulación crónica de la inflamación por la bacteria anaerobia Gram-negativa de la placa dental, se ha correlacionado con varias enfermedades sistémicas, tales como aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares, empeoramiento del control de la diabetes y curación lenta de heridas, neumonía por aspiración y osteoporosis (Kuo et al., 2008). Recientemente se han planteado nuevos vínculos entre la enfermedad periodontal con padecimientos renales, obesidad, síndrome dismetabólico y cáncer de páncreas. Sin embargo, posiblemente la asociación más interesante sugerida hasta la fecha es con la enfermedad de Alzheimer y otras demencias (Campisi et al., 2009).

Es relevante acentuar que son los antecedentes genéticos de un individuo los que determinan la existencia y la intensidad de la inmunosenescencia en los individuos de edad avanzada. Por lo tanto, dichos están propensos a desarrollar enfermedades inflamatorias crónicas como aterosclerosis y diabetes mellitus, y son candidatos para desarrollar enfermedades periodontales severas con el envejecimiento (Rajendran et al., 2013).

En lo tocante a los cambios relacionados con el cemento dental serán tratados a detalle en el siguiente capítulo, por ser la estructura en la cual se concentra el objetivo de la presente investigación.

2.3.2 Cambios en el esmalte dental

El esmalte dental es el tejido mineralizado con más dureza en todo el cuerpo humano. Aproximadamente el 4% es de materia orgánica y agua, mientras que el 96% consta de cristales de apatita cálcica, dispuestos en forma de prismas muy unidos y separados por una capa muy delgada de matriz orgánica.

En el esmalte hay dos procesos importantes relacionados con el paso de la edad. Primero, hay una reducción de la matriz proteica que reside a lo largo de los bordes de los prismas del esmalte como resultado de una madurez natural y de un consumo de sustancias que bajan el pH oral (Ten Cate, 1998). Segundo, la exposición prolongada de iones minerales y fluoruro dentro del ambiente oral puede promover el reemplazo de la matriz con fluoro-apatitas (Robinson et al., 1995), lo que provoca un aumento en la densidad del tejido y una disminución en su permeabilidad (Bertacci et al., 2007).

Por otro lado, las propiedades mecánicas cercanas a la superficie del diente, dureza y módulo de elasticidad (resistencia a la deformación elástica de un material), aumentan de manera significativa con la edad (Park et al., 2008). Además, con el envejecimiento la superficie del esmalte se vuelve más propensa a sufrir fracturas, en parte, por la reducción de la matriz orgánica inter-prismática que se observa con la madurez de este tejido (Zheng, et al., 2013).

2.3.3 Cambios en la dentina

La dentina está conformada por un 70% de cristales de apatita cálcica, 20% de material orgánico, principalmente colágeno tipo I y 10% de agua. Su estructura radica en túbulos dentinarios muy finos que atraviesan todo el espesor de la dentina, desde el límite amelodentinario o cementodentinario hasta la pulpa.

Los cambios asociados con la edad consisten principalmente en la aposición continua de la dentina en la cámara pulpar (formación de dentina secundaria), lo que ocasiona su reducción (Cameriere et al., 2004) y dentro de los túbulos dentinarios, lo que provoca una obstrucción de los mismos (Murray et al., 2002). Asimismo, aumenta la mineralización de los peritúbulos dentinarios y la dentina, en estas condiciones, se conoce como esclerótica o translúcida (Kinney et al., 2005).

Por otro lado, las propiedades mecánicas de la dentina varían con el incremento de la edad, por ejemplo, la resistencia de su fuerza va disminuyendo (Arola y Reprogel, 2005). Así también, la dureza y el módulo de la elasticidad en adultos mayores se torna

mucho mayor, pero estos cambios se limitan sólo a la dentina que se localiza en la unión esmalte-dentina (Senawongse et al., 2006). Además, se ha reportado una significativa reducción de la resistencia tanto a la fatiga como a la fractura de la dentina en adultos mayores (Kinney et al., 2005; Arola y Reprogel, 2005; Bajaj et al., 2006), lo que incrementa el potencial para que se fracture el diente.

Un aspecto de los cambios relacionados con la edad en la dentina es su cambio de color. El color de los dientes de las personas de mayor edad, por lo general, tiende al café. La respuesta a esto se encuentra en la glicación de las proteínas (Miura, et al. 2014), la cual es uno de los procesos más interesantes del envejecimiento humano. Varios estudios han señalado que la reacción no enzimática de la glucosa en la sangre con las proteínas, provoca modificaciones químicas en los tejidos del cuerpo que se van acumulando (*Ibid.*). De dicha reacción, mejor conocida como reacción de Maillard, se obtienen como resultado los productos de la glicación avanzada (AGEs). En 1912 Maillard describió que los aminoácidos calentados en la presencia de azúcares reductores se tornaban a un color café. Los AGEs libres se unen fácilmente al colágeno y actúan como enlaces entre las fibras de esta proteína. De manera consecuente, la acumulación de los AGEs altera las características mecánicas de los tejidos ricos en colágeno (*Ibid.*).

En este sentido, el colágeno dentinario no es la excepción para que tenga lugar la reacción de Maillard. Por lo cual, los AGEs se acumulan en las fibras de colágeno alrededor de los túbulos dentinarios, lo que ocasiona que esta proteína se vuelva más dura y más frágil. Esto también altera las propiedades mecánicas del tejido en cuestión, como la propagación de grietas.

De esta manera, las alteraciones en el color del colágeno dentinario (decoloración parduzca), se atribuyen a la acumulación gradual de AGEs con el envejecimiento, así como a las condiciones fisiológicas del medio, tales como el nivel de glucosa en la sangre. Esto último se debe a que colágeno dentinario recibe nutrimentos a través de la pulpa dental y de los túbulos. Además, debido a que la dentina, a diferencia del hueso, no sufre remodelación (Simon et al., 2014), la cantidad de AGEs acumulados puede ser un potencial indicador del envejecimiento humano (Miura, et al. 2014).

Capítulo 3. Líneas incrementales de cemento dental

Desde hace muchas décadas se ha buscado en el cemento dental un registro cronológico en diversos mamíferos, incluyendo al ser humano. Esto se ha hecho a través del conteo de las marcas, a manera de líneas, que deja el continuo crecimiento aposicional del cemento acelular dental. Para entender cuáles son los posibles mecanismos biológicos que están detrás de esta manifestación tangible del paso del tiempo es preciso hacer una revisión de la naturaleza singular de este tejido mineralizado.

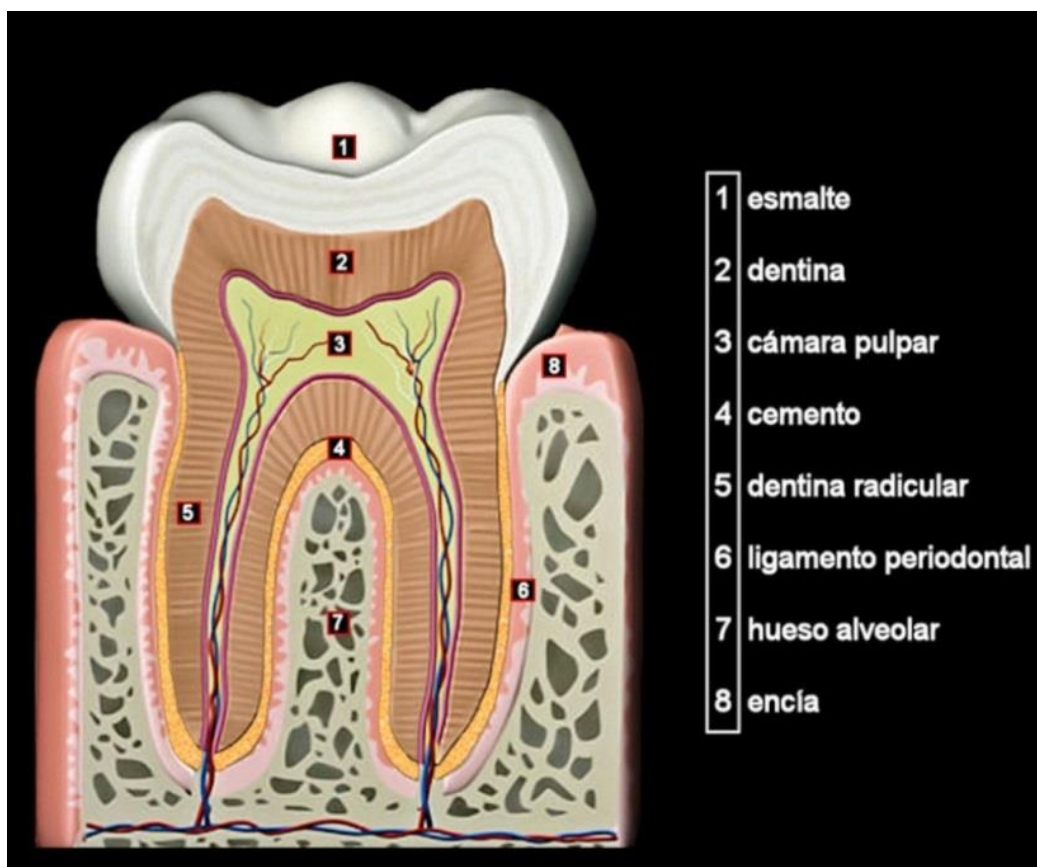


Figura 3.1. Anatomía del diente.

3.1 Biología del cemento dental

En los mamíferos los dientes son órganos compuestos por tres tejidos mineralizados, esmalte, dentina y cemento, que guardan una asociación muy cercana entre sí (Figura 3.1). La formación de estos biomateriales²² dentales está controlada por la secreción de matrices orgánicas de células altamente especializadas. El origen celular de la dentina y el esmalte, a diferencia del cemento, está bien entendido, debido a que tanto el depósito de las matrices de biopolímeros como la secreción mineral se logra a través de una sola capa de células concentradas, dispuestas de manera adyacente a la capa mineral correspondiente. En lo tocante al cemento, su origen celular sigue siendo un enigma porque las contribuciones del tejido mesenquimal y epitelial no están claramente definidas, lo que ha dado lugar hasta la fecha, a numerosos debates (Diekwisch, 2001; Bosshardt, 2005; Foster y Somerman, 2012).

El cemento es un tejido avascular, mineralizado como el hueso, secretado por cementoblastos para cubrir toda la superficie de la raíz dentinal en el caso de los humanos y de otros mamíferos²³. Se forma muy lentamente y por lo general no está sujeto a remodelación debido a que sus constituyentes orgánicos e inorgánicos a escala molecular son más estables y resistentes ante sutiles cambios en el ambiente. En este sentido, las fibras de colágeno tienen un recambio metabólico bajo y la capa de la superficie del cemento contiene más fluoruro que el tejido óseo y así se otorga mayor estabilidad a los cristales minerales y se protegen de ser diluidos por los ácidos que producen las células clastos (Bilgin *et al.*, 2004). Por ello, el cemento puede ser excluido de los procesos metabólicos y patológicos que involucran al tejido óseo (Selvig, 1990). Sin embargo, la superficie del cemento no es del todo inmune a la alteración ultraestructural adyacente, por ejemplo, debido a algún proceso inflamatorio causado por la enfermedad periodontal (Bilgin *et al.*, 2004), lo cual se discutirá más adelante.

En *Homo sapiens* la implantación dental es del tipo *tecodonta*, es decir que los dientes están unidos de manera firme al maxilar y a la mandíbula por medio de la implantación de sus largas raíces en los alveolos dentarios. No obstante, dichas raíces no están sujetas de forma rígida al hueso alveolar sino que se interpone entre ellos un tejido conjuntivo suave. Este último se refiere al ligamento periodontal, del cual se extienden

²² La biomineralización es el proceso por el cual los minerales son depositados en el interior o por fuera de una variedad de organismos. En los tejidos de los vertebrados el mineral se deposita en forma de fosfato de calcio, es decir como hidroxapatita (HAP). La mineralización ocurre en dos etapas, la primera comienza con la formación de cristales de HAP dentro de las vesículas de matriz. La segunda se caracteriza por la propagación de HAP a través de la membrana de la vesícula dentro de la matriz extracelular.

²³ En algunos herbívoros (conejos, vacas, caballos, elefantes, entre otros) se forma en la corona del esmalte y se conoce como ‘cemento coronal’.

manojos de fibras de colágeno cuyas terminaciones se embeben en el cemento por un lado y en la superficie del hueso alveolar por el otro.

Debido a la posición intermedia del cemento, entre la dentina radicular y el ligamento periodontal, es considerado como un diente por sí mismo. Sin embargo, de manera funcional pertenece al aparato de fijación del diente, es decir, al periodonto. Éste comprende el ligamento periodontal, la encía, el hueso alveolar y el cemento. Si bien la corona puede ser considerada como un yunque robusto del diente, el periodonto es su base esencial, porque si este se pierde o se degrada la consecuencia inmediata es la pérdida de toda la pieza dental.

El descubrimiento del cemento se remonta hacia finales del siglo diecisiete y su identificación en dientes de animales se atribuye a los anatomistas del siglo dieciocho, así como a Anton van Leeuwenhoek, padre de la microscopía, quien fácilmente lo diferencio de la dentina y del esmalte. A Jan Evangelista Purkyně se le atribuye la primera demostración microscópica del cemento en dientes humanos, aunque de manera concomitante, alrededor del año de 1835 Anders Retzius ya trabajaba en la descripción de la anatomía del diente. En los siglos diecinueve y veinte el cemento se conocía como *cement*, *crusta petrosa*, y *ossea substantia* y a veces su identidad se confundía con la de los folículos dentales o con la del sarro. Pese a que desde hace más de 300 años se sabe de la existencia del cemento dental, ya que ha sido sujeto a estudios detallados en humanos y en numerosas especies de animales, sigue siendo hasta el día de hoy el cuarto tejido mineralizado más enigmático de los vertebrados (Foster y Somerman, 2012).

3.1.1 Tipos de cemento

En los seres humanos el cemento consiste de varios tipos que difieren uno de otro con respecto a su ubicación, estructura, función, ritmo de formación, la proporción de la composición bioquímica y el grado de mineralización (Bosshardt y Schoeder, 1996; Bosshardt y Selvig, 1997). De esta manera el cemento se clasifica de acuerdo con la fuente de procedencia de las fibras de colágeno que pueden ser dos. La primera es ‘extrínseca’ debido a que proviene de las fibras del ligamento periodontal (LPD) y sus terminaciones quedan embebidas en el cemento (también se conocen como fibras de Sharpey). La segunda es ‘intrínseca’, ya que se refiere a las fibras de colágeno que pertenecen a la matriz del cemento, es decir, las que producen los cementoblastos. El otro criterio de clasificación del cemento es la inclusión o la ausencia de células. A continuación se describen con mayor detalle los dos principales tipos de cemento, el

acelular de fibras extrínsecas y el celular de fibras intrínsecas; y de manera más somera el resto de las variedades de cemento (Figura 3.2).

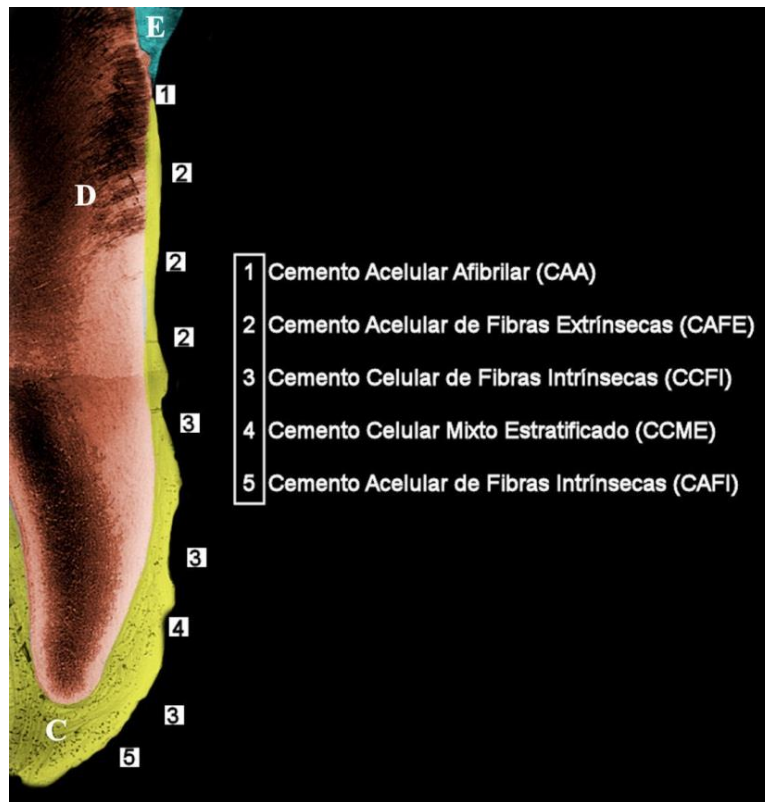


Figura 3.2. Tipos de cemento (E=Esmalte; D= Dentina; C=Cemento).

Cemento Acelular de Fibras Extrínsecas (CAFE): Su inicio y establecimiento tienen lugar durante la erupción del diente, antes del desarrollo del aparato de fibras de soporte y de la génesis del cemento celular. Este tipo de cemento es delgado (50-200 μ de grosor), por lo general cubre las porciones cervical y media de la raíz. Su función radica en la fijación del diente y en la distribución de las fuerzas generadas por la capa oclusal.

En su mayoría CAFE está compuesto por densos manojos de fibras extrínsecas de colágeno (provenientes del LPD) dispuestos en dirección perpendicular con respecto a la superficie de la raíz para pasar y entremezclarse con la matriz de la dentina. El alto número de estas fibras insertadas dentro del CAFE (30,000 fibras/mm² aproximadamente) refleja su crucial función para sujetar al diente (Bosshardt, 2005) (Figura 3.3).

Algunas de las proteínas no colágenas que producen los cementoblastos específicos del CAFE (sialoproteína ósea (SPO), osteocalcina (OC) y osteopontina (OPN)) se localizan dentro de los espacios interfibrilares del colágeno para darle cohesión e integridad estructural al cemento (Yamamoto *et al.*, 2010), así como para fomentar el depósito y el crecimiento de la HAP. Sin embargo, cabe resaltar que la participación de la SPO es fundamental para la formación del CAFE en la mineralización inicial y en la promoción de su crecimiento aposicional (Foster *et al.* 2013).

En este sentido, se ha visto que el comienzo del proceso de mineralización de CAFE, al menos en ratas, es deficiente en fibras de colágeno, por lo que la mineralización sucesiva que se expande desde la dentina mineralizada puede no ocurrir. Lo que da lugar a que el cemento inicial se mineralice independientemente de las fibras de colágeno, mientras que por el lado del LPD algunas esférulas de calcio inducen su mineralización. Esto último requiere de una densa acumulación de SPO y OPN, probablemente por la falta de un medio de mineralización estable como las fibras de colágeno. Una vez que la mineralización se extiende a las fibras principales, la mineralización avanza en la forma conocida, en la cual depende de las fibras de colágeno (Yamamoto *et al.*, 2007). En promedio el diámetro de estas últimas es de 53.2 ± 7.3 nm (Catros *et al.*, 2008).

A diferencia del hueso, dentina e incluso del cemento celular, en donde a través de un proceso de dos pasos la matriz no mineralizada primero se elabora (por ejemplo la predentina, osteoide y cementoide) y luego sufre una mineralización gradual, la mineralización del CAFE es progresiva, regulada y ceñida a las fibras extrínsecas que provienen del LPD o más específicamente a las fibras marginales de la superficie de la raíz (Foster y Somerman, 2012). Es decir que CAFE no tiene cementoide y las fibras extrínsecas de colágeno funcionan como tal. Además, la mineralización de la fibra marginal, es decir, la matriz de CAFE sigue un patrón globular (Bosshardt y Schroeder, 1991).

El lento y constante ritmo de formación, la ausencia de cementocitos y las fibras extrínsecas de colágeno, densamente ordenadas en conjunto y orientadas en forma paralela, hacen que CAFE tenga una morfología muy uniforme. Además, como no es sujeto a remodelación continua creciendo por aposición, es decir, nuevas capas se añaden a las ya formadas durante toda la vida. Por todo lo anterior y por su peculiar fisiología es considerado como un tejido mineralizado único. De ahí que sea este tipo de cemento donde se denotan las líneas incrementales y que son parte del centro de esta investigación.

Cemento Celular de Fibras Intrínsecas (CCFI): Se distingue por los cementocitos embebidos en la matriz intrínseca de las fibras de colágeno. Se presenta en la porción apical y a veces en la bifurcación de los dientes con varias raíces. Además, se encuentra con frecuencia como parte del proceso de cicatrización después de que se remueve el cemento afectado por alguna patología, por lo que es referido como cemento reparativo o regenerativo (Bosshardt y Sculean, 2009). No interviene en la fijación del diente debido al origen intrínseco de sus fibras colagénicas y a que éstas corren paralelas a la superficie de la raíz, por lo que no salen hacia el ligamento periodontal. La función propuesta de este cemento es la de guiar y mantener al diente en una apropiada posición oclusal durante la erupción (Holliday *et al.*, 2005).

Se ha observado en roedores que el CCFI se forma aproximadamente en el momento en que entra en oclusión, lo cual coincide con la lenta proliferación de las células de la vaina epitelial radicular de Hertwig (HERS *Hertwig's Epitelial Rooth Sheath*). Algunos tienen la hipótesis que la cesación o la ralentización del crecimiento de las células HERS es una señal para el cemento celular (Foster y Somerman, 2012). Sin embargo, la relación de HERS con la cementogénesis continúa siendo materia de debate como se verá más adelante.

El CCFI es mucho más grueso que el CAFE y con frecuencia tiene una apariencia de multicapas; el ancho de cada capa es de 10-100 μm . Las fibras intrínsecas muestran un patrón laminar alternante, causado por el movimiento periódico de los cementoblastos. Como las porciones apicales de los dientes, especialmente los molares, están sujetas a fuerzas pesadas de oclusión en varias direcciones durante la masticación, el patrón laminado alternante del CCFI se presenta como una estructura de resistencia a presiones tensiles y de compresión, de la misma forma como se ha sugerido para el patrón laminar óseo.

Cemento Celular Mixto Estratificado (CCME): Consiste en tejido estratificado de capas superpuestas alternadas de manera impredecible de cemento acelular y celular. Se encuentra junto con el CCFI en la porción apical de los molares y su producción intermitente se da para compensar la superficie de la raíz conforme el diente cambia y se desplaza en su alveolo durante la vida.

Cemento Acelular Afibrilar (CAA): No contiene células ni fibras de colágeno, sólo sustancia mineralizada; se encuentra en las partes coronales de la raíz, cerca de la unión esmalte-cemento y no se conoce cuál es su función.

Cemento Acelular de Fibras Intrínsecas (CAFI): No contiene cementocitos y las fibras colagénicas no salen. Se ha encontrado en la región apical del diente.

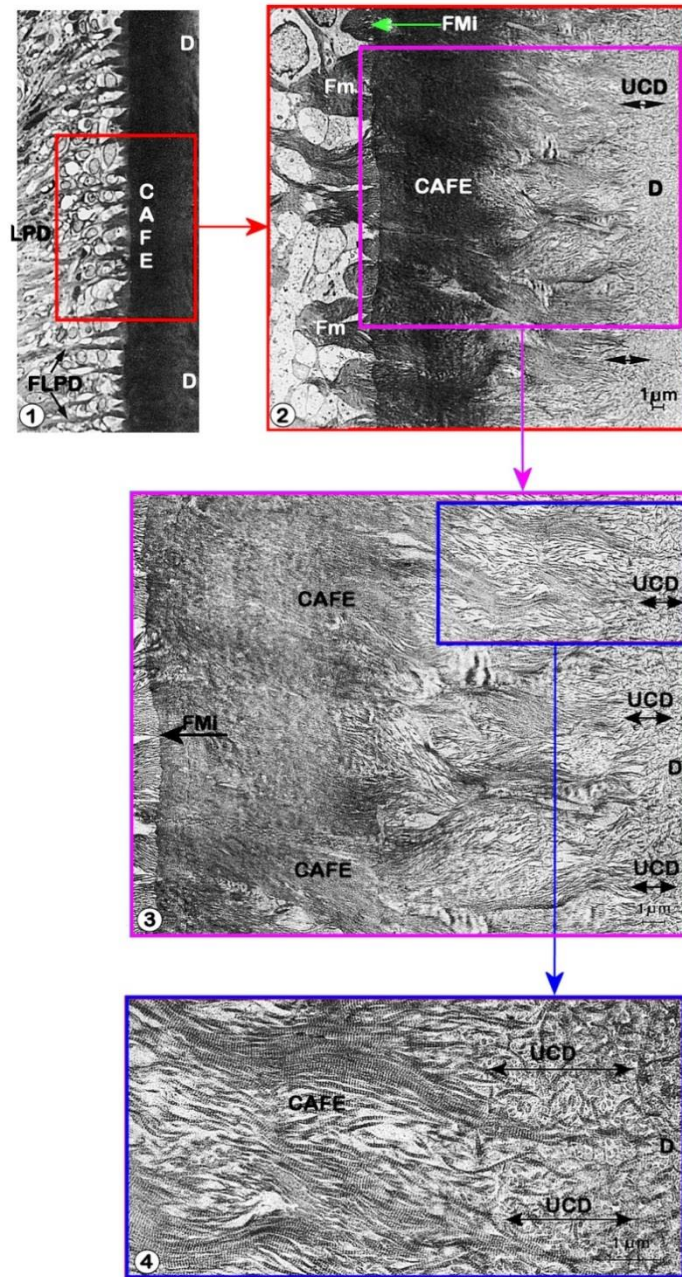


Figura 3.3. Vista microscópica del área de contacto del ligamento periodontal (LPD) con el cemento acelular de fibras extrínsecas (CAFE) y con la dentina (D). El recuadro en 1 corresponde a 2, a su vez el de 2 a 3 y el de 3 a 4. 1) Las fibras del LPD (FLPD) están en contacto con CAFE de forma perpendicular. 2) Se observan las fibras marginales (Fm) cortas y largas dentro de CAFE a través de todo el cemento. En la unión cemento-dentina (UCD) las fibras se dispersan para formar fibras individuales de colágeno, las cuales se entremezclan con las fibras de colágeno de la matriz dentinaria. 3) Se denota la entrada de las fibras perpendiculares al frente de mineralización externo (FMI) y el curso de éstas dentro de CAFE, así como su terminación en la UCD. 4) Detalle de dichas fibras entremezcladas con las fibras, azarosamente orientadas, de la dentina. La muestra fue tomada de un primer molar superior de un individuo masculino de 14 ³/₄ años de edad. Imágenes tomadas y modificadas de Bosshardt y Schoeder (1991:334-35).

3.1.2 Composición del cemento

El cemento, como el hueso y la dentina, está constituido por compuestos biológicos de agua, mineral, macro moléculas de colágeno y proteínas no colágenas (PNC). La matriz, principalmente de colágeno, está mineralizada por cristales de HAP y se estima que su mineralización se encuentra alrededor del 45-50% a diferencia de la del hueso que gira cerca del 50-60%.

Aparte de tener funciones estructurales, las matrices tanto del hueso como del cemento también sirven como reservorio para las citoquinas y factores de crecimiento. En cuanto a su composición bioquímica, las cantidades de los constituyentes de la matriz pueden variar de acuerdo con su ubicación anatómica (Aeressens *et al.*, 1997), así como con la velocidad de formación del mismo (Nanci, 1999; Bosshardt y Nanci, 2000).

En los tejidos mineralizados las fibras de colágeno interactúan con las PNC y proporcionan la estructura para el alojamiento de los cristales minerales. En el tejido óseo y cemento, el colágeno es el principal constituyente de la matriz extracelular, comprende alrededor del 80-90% de la matriz orgánica. El colágeno predominante es del tipo I, pero los de tipo III, V, VI y XII también están presentes. Más de 20 PNC se han identificado en el tejido conectivo mineralizado del hueso, cemento y dentina. Las funciones de estas PNC incluyen el depósito y remodelación de la matriz, así como el inicio y la regulación de la mineralización.

3.1.2.1 Proteínas no colágenas (PNC)

Las PNC del hueso, cemento y dentina comprenden glicoproteínas, proteoglicanos, proteínas derivadas del plasma, y otras proteínas que no pueden ser asignadas a ninguno de estos tres grupos. Además, varios factores de crecimiento y diferenciación son contenidos en la matriz mineralizada. A continuación se mencionan algunas de las más importantes PNC:

La sialoproteína ósea (SPO) y la osteopontina (OPN) son dos de las principales PNC de hueso y cemento. Se encuentran entre los espacios interfibrilares y a nivel ultraestructural estas dos glicoproteínas fosforiladas tienen un patrón de distribución similar en ambos tejidos. En CAFE se observa una fuerte inmunorreactividad porque su matriz posee espacios interfibrilares grandes. Además, como ya se mencionó, la SPO es fundamental para la formación de CAFE (Foster *et al.*, 2013). En cambio en CCFI y en hueso las inmunorreacciones son débiles, debido a que la agrupación total de las densas fibras de colágeno deja menos espacios interfibrilares (Nanci, 1999; Bosshardt y Nanci,

2000). La SPO une a las fibras de colágeno y se incuba en éstas, por lo que la potencia la nucleación de la HAP aumenta 10 veces (Foster *et al.*, 2013).

La proteína de la matriz dentinaria 1 (PMD1) es una PNC fosforilada acídica expresada por los cementocitos del CCFI al igual que por los osteocitos del hueso y se ha llegado a ver en la matriz del CAFE (Toyosawa *et al.*, 2004; Ye *et al.*, 2008).

La sialoproteína dentinaria (SPD) y la fosfoproteína dentinaria (FFD) son expresadas como un ARNm que codifica para un precursor de la sialofosfoproteína dentinaria (SFFD). La expresión de la proteína y del gene de la SPD ha sido demostrada en hueso, osteoblastos, osteocitos, cementoblastos formadores de CCFI y cementocitos, pero no en CAFE ni en células asociadas (Baba *et al.*, 2004). La falta de expresión de la SPD en CAFE es un indicador más de este tipo de cemento como único.

La osteonectina (ON) es otra proteína glicosilada presente en el hueso y con inmunotinción se ha comprobado su presencia, de moderada a fuerte, en la matriz ósea, mientras que en la del cemento se ha visto débil. Por su parte, los cementoblastos y los cementocitos reaccionan con el anticuerpo anti-ON. La función que se ha sugerido de la ON es la de relacionar los cristales de hidroxapatita con las fibras de colágeno (Bosshardt, 2005). En lo referente al cemento la información disponible sigue siendo limitada.

La fibronectina (FN) y la tenascina (TN) son glicoproteínas multifuncionales que han sido localizadas en la matriz mineral ósea, en especial en la matriz pericelular de los osteocitos. En cemento maduro, ambas proteínas se inmunolocalizaron en el sitio donde la fibra principal del ligamento periodontal entra en la porción mineralizada del cemento, pero no en la capa de cemento misma. Recientemente se demostró que el teñido para el CAFE resultó negativo para dichas glicoproteínas, mientras que el CCFI mostró una moderada reactividad a TN y fuerte a FN (Bosshardt, 2005).

La osteocalcina (OC) es una proteína muy pequeña que se presenta en abundancia en el hueso, cemento y dentina. En el caso del cemento se reporta tanto en CAFE como en CCFI pero de manera más consistente en este último (Foster y Somerman, 2012).

La proteína de adherencia derivada del cemento (ADC) promueve la adherencia de las células mesenquimales a la matriz extracelular. Se encuentra en la matriz del cemento en desarrollo y maduro. Se ha sugerido que ADC es una molécula marcadora para la cementogénesis porque está relacionada con el desarrollo del fenotipo del cementoblasto.

3.1.2.2 Los proteoglicanos (PGs)

Por su parte los proteoglicanos (PGs) tienen una influencia importante sobre la mineralización del tejido óseo y del cemento. Entre las especies de PGs que se encuentran asociadas a dichos tejidos están: lumicano, fibromodulina, versicano, decorina, biglicano y osteoadherina. Sin embargo, no son los mismos PGs los que se encuentran en CAFE, en CCFI y en hueso. Una razón de ello, por ejemplo, es que la mayoría de las especies de PGs en hueso y en CCFI se localizan en la periferia de las lagunas celulares, por lo que el CAFE al carecer de dichas estructuras no contiene los mismos PGs (Bosshardt, 2005).

Las proteínas de la matriz del esmalte (PME), se consideran clave para la distribución de las superposiciones en ambos tipos de cemento, hueso y dentina (Bosshardt, 2005). Sin embargo, no está claro si las PME están presentes en el cemento o en la matriz de hueso. Aunque se ha demostrado que las moléculas en la matriz de hueso comparten un epítipo común con las PME no hay datos concretos sobre su presencia en el cemento.

Es posible que los factores de crecimiento y diferenciación no sólo sean producidos por las células locales sino que también puedan ser liberados de la propia matriz mineralizada. En este sentido las matrices tanto de hueso como de cemento son ricas fuentes de dichos factores, por lo que modulan las actividades de muchos tipos de células, incluyendo aquellas originadas en el periodonto. Los que se han identificado en el cemento incluyen miembros de la superfamilia del factor transformador de crecimiento beta (FTC- β) como el FTC- β 1, así como varias proteínas morfogenéticas óseas, factores de crecimiento de plaquetas derivada a y b, factores de crecimiento de fibroblastos, factores de crecimiento similar a la insulina 1 (FCI-1) y FCI-2, factor de crecimiento epidermal y factor de crecimiento derivado del cemento.

3.1.3 Formación del cemento

La odontogénesis se caracteriza por ser secuencial, recíproca y de señalización reiterativa entre los tejidos del epitelio (lámina dental) y mesénquima (derivado del ectomesénquima de la cresta neural craneal). Los cuales, en última instancia, se involucran en la formación del tejido periodontal.

Durante el estado de casquete del desarrollo dental, el órgano epitelial del esmalte toma una forma cóncava y queda rodeado por dos tejidos ectomesenquimales, la papila y el folículo, que descienden de las células de la cresta neural craneal (Figura 3.4). La papila dental está compuesta por un paquete denso de células que durante el

subsiguiente estado de campana va quedando secuestrada dentro del desarrollo del órgano del esmalte para que al final de lugar a la pulpa y dentina. Las células mesenquimales que rodean al órgano del esmalte y a la papila conforman el folículo dental (a veces llamado saco dental), un tejido colagénico que separa el brote dental del tejido oral que le rodea. Se ha propuesto el folículo dental como el origen común para los tejidos del periodonto, que incluyen al cemento (Cho y Garant, 2000; Nanci y Somerman, 2003; Saygin *et al.*, 2000).

Las células dentro de la región del folículo son esenciales para la señalización asociada con la erupción del diente. La regulación de los osteoclastos en la porción coronal de la cripta ósea se da por medio del factor estimulante de colonias de macrófagos (FECM-1), del receptor asociado a la activación del factor nuclear kappa- β y su ligando (RANKL), así como a la expresión de la osteoprotegerina (OPG), señalada a su vez por la proteína relacionada a la hormona paratiroidea (PrHPT); además de otros factores que aún faltan por ser identificados (Foster *et al.*, 2007). Durante la erupción del diente y la elongación de la raíz, el folículo dental formativo abre paso a la estructura madura del LPD para proporcionar la fijación del diente en el hueso alveolar circundante por medio de las fibras de colágeno. Además de estar altamente vascularizado e innervado, el LPD también contiene una población de células heterogéneas, incluyendo células madre con el potencial para regenerar los tejidos periodontales (Cho y Garant, 2000; Nanci y Somerman, 2003; Seo *et al.*, 2004).

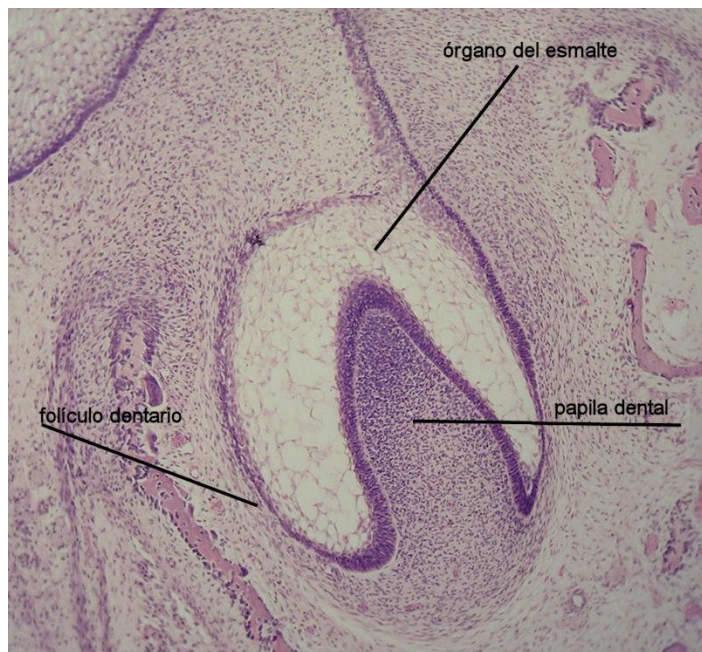


Figura 3.4. Estado de casquete del desarrollo dental.

3.1.3.1 Las células de la vaina epitelial radicular de Hertwig (HERS Hertwig's epitelial rooth sheath)

El inicio de la raíz comienza después de que la dentina de la corona y el esmalte se han formado, y antes de la erupción del diente (Figura 3.5). Antes de que los ameloblastos situados en la proximidad del asa cervical depositen esmalte para el cuello del diente o futuro límite amelocementario, las células de esta asa entran en activa mitosis. Esto lleva a que el tejido epitelial constituido únicamente por el epitelio externo del esmalte (EEE) y epitelio interno del esmalte (EIE) se alarguen en dirección apical (Figura 3.6). En su crecimiento y desarrollo posterior el asa cervical forma HERS para delimitar la futura pulpa del diente, así como la formación, número, tamaño y forma de las raíces que iniciarán una vez constituido el esmalte (Luan *et al.*, 2006).

En los mamíferos la formación de la raíz, la dislocación y la desintegración de la doble capa de HERS es considerado como un evento clave, porque permite el acceso de la superficie de la dentina subyacente a las células formadoras de cemento (Cho y Garant, 1988; Diekwisch, 2001). Conforme la raíz se va formando, las células dislocadas de HERS se rompen dentro de 'nidos' y 'cordones' epiteliales, para después tener la posibilidad de ser reducidos a los restos epiteliales de Malassez (REM) (Figura 3.7). También se ha sido documentado que algunas células HERS sufren apoptosis o se vuelven a incorporar dentro del cemento celular (Foster *et al.*, 2007). Asimismo se ha propuesto que HERS juega un papel activo en la inducción o secreción de CAFE y/o CCFI.

3.1.3.2 Hipótesis sobre el origen de los cementoblastos

El origen de los cementoblastos sigue siendo controversial. La hipótesis clásica o mesenquimal, de casi 50 años de antigüedad (Paynter y Pudy, 1958), propone que los cementoblastos son células que descienden del folículo dental, para lo cual HERS se debe alterar para permitir a los precursores de los cementoblastos migrar a la superficie de la raíz en desarrollo, diferenciarse y secretar la matriz del cemento (Bosshardt y Selving, 1997; Cho y Garant, 2000; Diekwisch, 2001; Luan *et al.*, 2006; Saygin *et al.*, 2000). Esta hipótesis corresponde con la proposición general sobre el folículo dental como el origen de las tres poblaciones de células formativas del periodonto, esto es, los cementoblastos, las células del LPD y los osteoblastos alveolares (Melcher, 1985; Ten Cate, 1997).

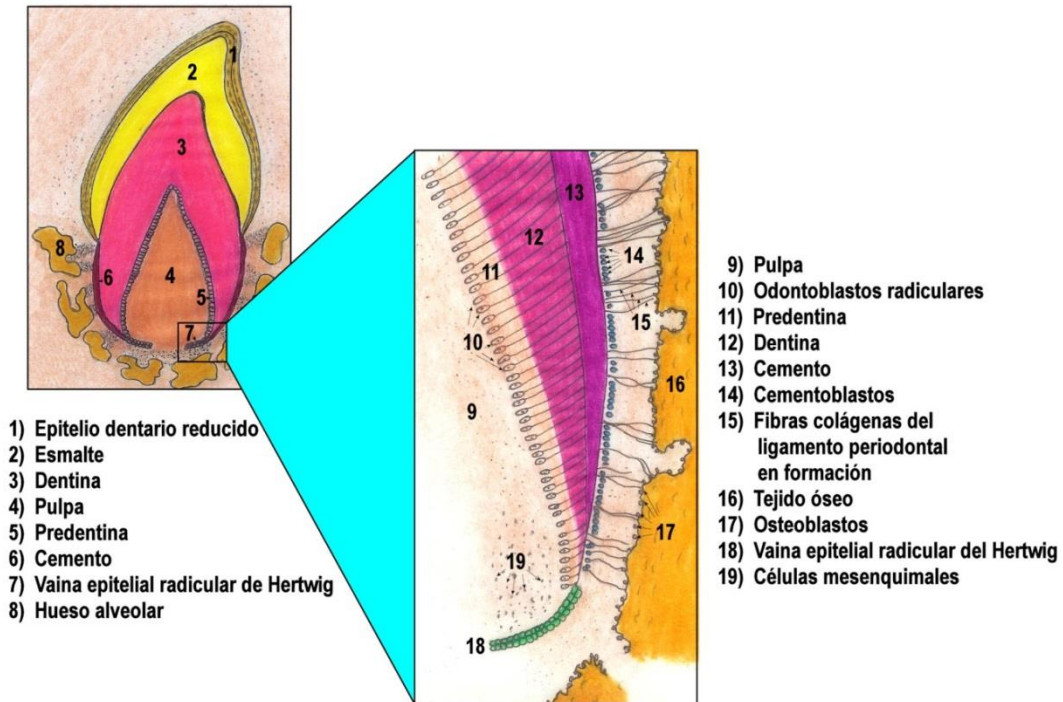


Figura 3.5. Formación radicular con detalle de la Vaina epitelial radicular de Hertwig (HERS). HERS prolifera en profundidad en relación con el folículo dentario por su parte externa y con la papila dentaria internamente. Con esto induce a la papila para que los odontoblastos radiculares se diferencien en la superficie del mesénquima papilar. Al completarse la formación radicular HERS se curva hacia adentro para formar el diafragma. Esta estructura marca el límite distal de la raíz y envuelve al agujero apical primario, por el cual tienen paso los nervios y vasos sanguíneos de la cámara pulpar.

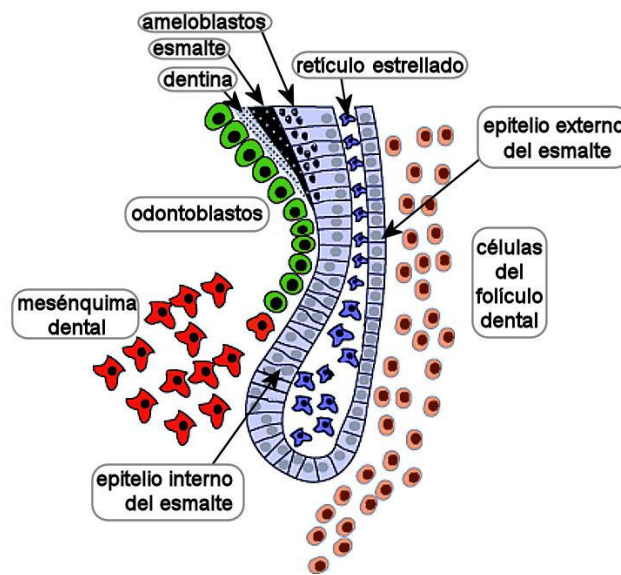


Figura 3.6. Asa cervical: Los extremos más apicales del epitelio externo e interno del esmalte constituyen el asa cervical. Durante la formación de la raíz las capas internas del epitelio desaparecen y las capas externas dan lugar a HERS.

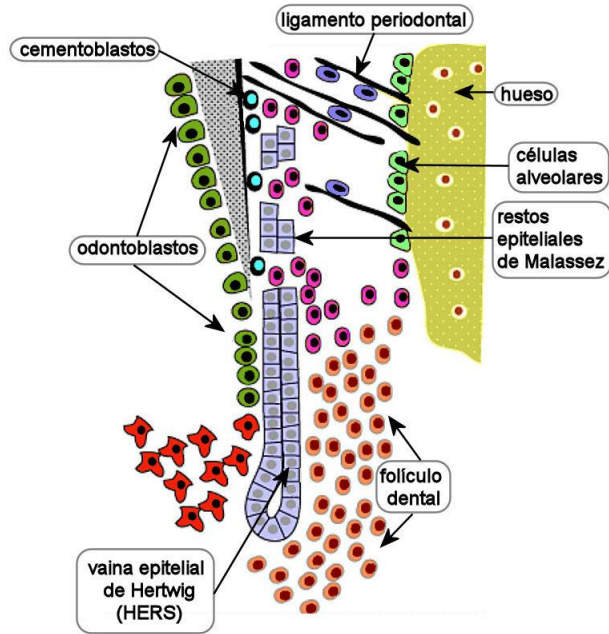


Figura 3.7. Restos epiteliales de Malassez: Cuando se deposita la primera capa de dentina radicular, HERS pierde su continuidad, se fragmenta y forma los restos epiteliales de Malassez. Esta fragmentación permite el contacto del folículo dentario con la dentina radicular en formación. De esta manera, de acuerdo con la hipótesis clásica, las células del folículo dentario se diferencian en cementoblastos.

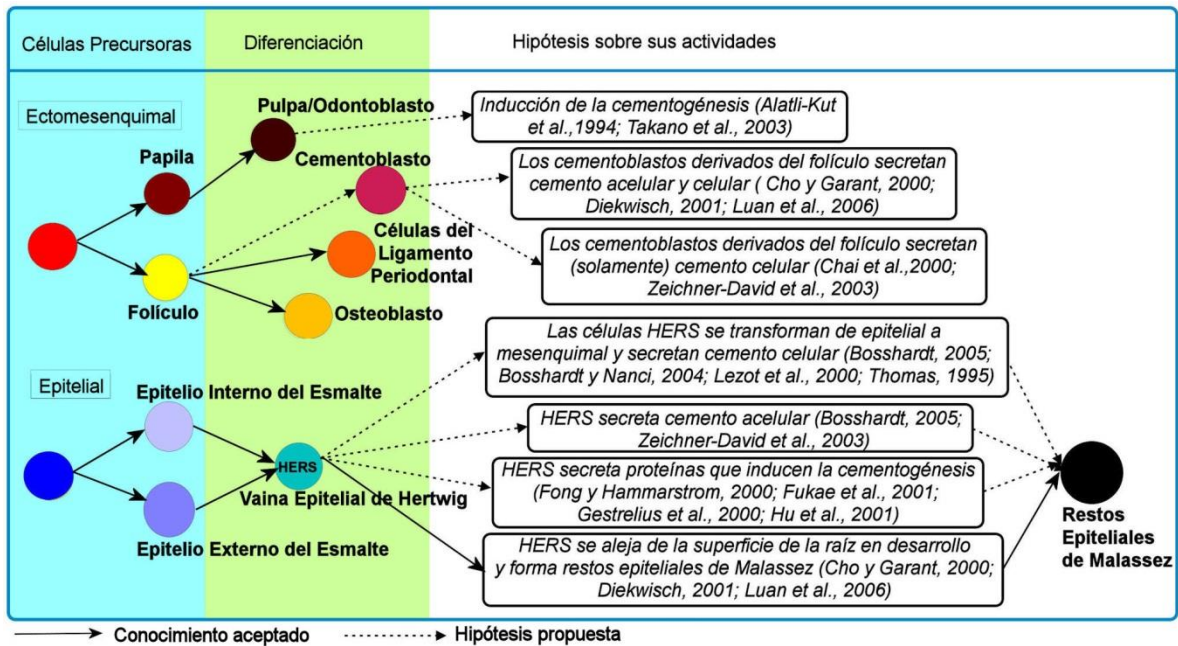


Figura 3.8. Propuestas sobre los orígenes de los cementoblastos y del cemento. (Tomado y modificado de Foster et al., 2007:62)

Sin embargo, existe una hipótesis alternativa para la cementogénesis que cuestiona el origen mesenquimal (Slavkin, 1975) y en su lugar propone que las células epiteliales de la capa externa de HERS se hacen cargo del fenotipo mesenquimal disponible para secretar las proteínas de la matriz del cemento y dirigir la mineralización del cemento en la superficie de la dentina (Bosshardt, 2005; Bosshardt y Nanci, 1997, 2004; Bosshardt y Schroeder, 1996; Mac Neil y Somerman, 1999; Thomas, 1995; Zeichner-David, 2006; Zeichner-David *et al.*, 2003). Bajo esta presunción, se piensa que los cementoblastos derivan de la transformación epitelial-mesenquimal de las células HERS. Es decir, que estas últimas secretan las proteínas de la matriz del cemento.

Hay pruebas de que las células HERS pueden producir proteínas características de células mesenquimales, y cemento en particular (Bosshardt y Nanci, 1997; Mouri *et al.*, 2003; Zeichner-David, 2006; Zeichner-David *et al.*, 2003). Si dichas células se transforman para contribuir a la formación del CAFE, la posibilidad de que el CCFI derive de HERS también se puede considerar. Además, se ha sugerido que HERS es también el origen de las subpoblaciones de los fibroblastos del LPD (Bosshardt, 2005). Lo que explicaría por qué hay diferentes fenotipos de cementoblastos *versus* osteoblastos, así como la heterogeneidad de las células encargadas de la región del LPD. No obstante, a pesar de todas las investigaciones que se han hecho sobre el origen del cemento el tema aún está bajo debate (Figura 3.8).

3.1.3.3 Cemento acelular vs. cemento celular

La pregunta que sigue sin resolverse es si el cemento acelular y celular son tejidos diferentes o si es uno mismo, sólo que forjado en diferentes contextos de desarrollo (Bosshardt, 2005; Foster *et al.*, 2007; Diekwisch, 2001; Foster y Somerman, 2012). Para entender mejor el proceso de formación del cemento vale la pena hacer una revisión sucinta en lo concerniente al hueso. Tanto la formación, como el mantenimiento y la reabsorción del tejido óseo están regulados por osteoblastos, osteocitos, células de revestimiento óseo y osteoclastos. Para los osteoblastos no hay un fenotipo único sino que se ha observado una heterogeneidad entre este mismo tipo de células (Bosshardt, 2005).

Los osteoblastos son de tamaño grande, tienen forma cuboidal y por lo general constituyen una capa que cubre toda la superficie del periostio o endostio donde la formación del hueso esta activa. Sintetizan una mezcla de moléculas y la secretan en el medio extracelular, donde forman una veta de matriz ósea sin mineralizar, mejor conocida como osteoide. Algunos osteoblastos se vuelven osteocitos por la inversión de su propia secreción de matriz o quedan atrapados a través de los osteoblastos

vecinos. La velocidad del depósito de la matriz puede determinar el número de osteocitos embebidos. El hueso reticular tiene un alto número de osteocitos y se forma más rápido que el hueso laminar. Los osteocitos pueden participar activamente en la homeostasis ósea porque están involucrados en la remodelación ósea, intercambio iónico y en la percepción de señales mecánicas. Por otro lado, las células de revestimiento óseo, consideradas como osteoblastos inactivos, son células planas y tienen un arsenal citoplasmático reducido para la síntesis y secreción de proteínas.

En el caso del cemento, el CAFE está formado por una clase de células que morfológicamente se asemejan a los fibroblastos del ligamento periodontal. A diferencia del hueso, CCFI y CAFI, el CAFE no tiene una veta cementoide comparable, sino que las fibras del LPD relacionadas con el cemento funcionan como tal. Entre todas las variedades de cemento, morfológicamente el CCFI es el más parecido al hueso. Los cementoblastos comprometidos en la formación del CCFI y CAFE son grandes, de forma cuboidal con un núcleo redondo rico en eucromatina y un arsenal citoplasmático requerido para la síntesis de proteína. Como en el caso de los osteoblastos en tejido óseo, los cementoblastos del CCFI producen cemento intrínseco a partir del cementoide para luego ser mineralizados. De manera análoga al hueso, los cementocitos quedan atrapados en la matriz de cemento y la formación rápida, así como el modo multipolar del depósito de la matriz son los responsables del atrapamiento de las células dentro de la matriz de cemento (Bosshardt y Schroeder, 1992).

Mientras que los osteoblastos y los cementoblastos formadores del CCFI son muy parecidos, la morfología de los homólogos responsables del CAFE es diferente. Para que el tejido óseo funcione bien se requiere del sistema constituido por osteoblastos, osteocitos, células de revestimiento óseo y osteoclastos. En contraste, el cemento parece funcionar sin dicho complejo sistema celular, aunque es probable que las señales del LPD adyacente influyan en la función de los cementoblastos. Además, no hay evidencia de que los cementocitos tengan una función en la homeostasis del tejido.

Con respecto a la velocidad de formación y ritmo de crecimiento del tejido mineralizado, existen significativas diferencias entre varios tipos de hueso, CCFI y CAFE. Este último crece a lo largo de la vida con un ritmo entre 0.005 y 0.01 μ /día (Bosshardt y Schroeder, 1996; Beertsen *et al.*, 1997; Bosshardt y Selving, 1997). El ritmo de crecimiento para CCFI en dientes humanos no se conoce y en monos es 30 veces más rápido que en el CAFE (Bosshardt y Schroeder, 1991). El ritmo de aposición lineal para hueso laminar humano es de 1-2 μ /día, el hueso de fibras paralelas se forma de 3 -5 veces más rápido, y el hueso reticular posee el ritmo más rápido de crecimiento (Schenk y Buser, 1998).

Por otro lado, la formación tanto del hueso como del diente, así como otros órganos en desarrollo, está fuertemente influenciada por las hormonas circulantes y por factores de crecimiento. En general, el CCFI está propenso a sufrir defectos en la diferenciación de los cementoblastos. Por ejemplo, el CCFI se expande en respuesta a la sobre-expresión de la hormona de crecimiento y muestra una reducción significativa cuando la hormona del crecimiento o su receptor está ausente; por su parte el CAFE es más insensible a dichos cambios (Smid *et al.*, 2004). El CAFE resulta menos afectado, relativamente, que el CCFI o el hueso por alteraciones sistémicas en las hormonas y por factores de crecimiento, aunque aún no hay estudios sistemáticos de tales efectos (Foster y Somerman, 2012).

En cuanto a la homeostasis del cemento ningún tipo de este tejido participa en la remodelación o recambio como sucede con el hueso, pese a que el CCFI experimenta una reabsorción y reparación hasta cierto punto limitada. Algunos descubrimientos han indicado que el mantenimiento del CCFI es similar al del hueso en algunos aspectos. El movimiento ortodóntico en ocasiones es el causante de la reabsorción de la raíz, la cual puede afectar tanto al CAFE como al CCFI, pero el daño es más severo y común en este último. Por lo general, en situaciones patológicas, el campo de acción de los osteoclastos es en el hueso alveolar más que el cemento, por lo que se tiene la hipótesis de que los cementoblastos pueden jugar un papel protector o antirresortivo en la superficie de la raíz (Foster y Somerman, 2012).

3.1.4 Reguladores de la mineralización

A diferencia de la escasa información disponible sobre la regulación de la función de los cementoblastos, en el caso de los osteoblastos hay un amplio y cabal entendimiento. Esto tiene que ver con las dificultades para obtener un linaje celular cementogénico para su manipulación experimental.

Con fines de reparación y adaptación mecánica, el esqueleto a lo largo de toda la vida es sometido a una continua remodelación. Sin embargo, las consecuencias de un desequilibrio en la expresión de la señalización de las moléculas encargadas de ello pueden derivar en desórdenes metabólicos óseos o enfermedades como la de Paget, osteopetrosis, osteoporosis, artritis o pérdida de hueso en la periodontitis.

La regulación de la remodelación ósea está bajo control sistémico y local. Los factores locales son operados en modo paracrino/autocrino y los osteoblastos, osteoclastos, así como las células de inflamación/inmunidad funcionan como fuentes y objetivos de las moléculas señalizadas. Además, numerosas citoquinas y factores de crecimiento tienen efectos anabólicos y/o catabólicos en la formación del hueso. Entre estas moléculas

reguladoras óseas están: hormona paratiroidea (HPT), proteína relacionada a la hormona paratiroidea (PrHPT), calcitonina (CT), calcitriol (la forma activa de la vitamina D), prostaglandina E₂ (PGE₂), hormona de crecimiento (HG), hormona tiroides, esteroides sexuales (estrógenos y testosterona), leptina, entre otras (Bosshardt, 2005).

Por otro lado, el cemento dental no sufre remodelación fisiológica, pero en dientes tratados con ortodoncia y procesos patológicos es común encontrar reabsorción en la raíz. En este sentido, una pregunta interesante es si los reguladores de la remodelación ósea operan de igual forma en los cementoblastos como lo hace en los osteoblastos. La respuesta es incierta porque se desconoce si los cementoblastos contribuyen a la producción de los factores esenciales de la regulación ósea (Bosshardt, 2005).

Sin embargo está claro que deben existir mecanismos protectores que previenen la reabsorción de la raíz. Aunque los cementoblastos formadores de CCFI responden de manera similar que los osteoblastos a muchos factores que regulan la actividad celular, los cementoblastos formadores de CAFE, al parecer, tienen una respuesta más ligera ante las moléculas reguladoras (Bosshardt, 2005).

Por otra parte, los tejidos mineralizados por la HAP están sujetos a la homeostasis del fosfato inorgánico²⁴ (Pi) para su desarrollo y mantenimiento normal. Algunos de los factores que regulan el metabolismo del Pi modulan su circulación a través de los riñones y del tracto gastrointestinal. La vitamina D y la HPT son considerados como los reguladores sistémicos ‘clásicos’ de Ca²⁺ y Pi. No obstante, recientemente ha surgido una nueva clase de reguladores del control sistémico de la homeostasis del fósforo llamados fosfatonas, que establecen un nexo directo de comunicación entre el metabolismo óseo y el manejo renal del fosfato (Foster *et al.*, 2008).

Aunque se ha creído que los niveles de Pi simplemente siguen los del Ca²⁺ y que son cruciales para que las moléculas reguladoras entren en acción, ahora se ha demostrado tanto *in vitro* como *in vivo* que los niveles de ambos están bajo el estricto control de las fosfatonas (*Ibid.*).

²⁴ En la materia viva el fósforo aparece siempre en forma de ion fosfato soluble (ortofosfato, PO₄³⁻). Como también se puede obtener de reacciones inorgánicas, en las ecuaciones bioquímicas se abrevia como Pi (fosfato inorgánico).

3.1.4.1 Hormona Paratiroidea (HPT)

La HPT es secretada por las glándulas paratiroideas, anatómicamente vecinas de la tiroides, en dependencia de los niveles séricos del Ca^{2+} , los cuales son detectados por el receptor sensitivo de calcio (RC). Los niveles bajos de Ca^{2+} inhiben la actividad del RC, lo cual estimula la liberación de la HPT dentro del flujo circulatorio para que alcance sus efectos de salida. La principal acción de la HPT es el aumento de la actividad osteoclástica para liberar Ca^{2+} del hueso. Esta acción de manera indirecta ocasiona que los osteoblastos respondan a las señales de la HPT aumentando la producción de RANKL/OPG. Además, la HPT actúa en el riñón para estimular la formación de vitamina D activa ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) para que aumente la absorción de Ca^{2+} en el intestino y de esta forma favorezca su reabsorción en los riñones. Si el RC detecta altos niveles séricos de Ca^{2+} la liberación de HPT se inhibe y en respuesta la tiroides aumenta la liberación de calcitonina para detener la actividad osteoclástica (Figura 3.9).

En cuanto a los efectos directos que la HPT tiene sobre las células dentales se ha reportado que tanto los odontoblastos como los cementoblastos tienen en la superficie celular receptores de HPT (Tenorio y Hugues, 1996). La expresión de los receptores de la HPT activos, de forma constitutiva invocan un desarrollo dental anormal. Sin embargo, esto puede no deberse a la actividad de la HPT *per se* ya que la PrHPT es un péptido con una terminal amino homóloga a la HPT porque comparten el mismo receptor. Se ha demostrado que la PrHPT está involucrada en la señalización epitelial-mesenquimal en el órgano de desarrollo y en *in vitro* se corroboró que tiene efectos directos en los cementoblastos, porque redujo la expresión del ARNm de la sialoproteína ósea, así como de la osteocalcina y además inhibió la mineralización (Ouyang *et al.*, 2000).

Por otro lado se han detectado sitios de unión de la HPT en los cementoblastos formadores de CCFI pero no en los correspondientes de CAFE. Esto apoya la controversia de que existe un fenotipo similar entre los osteoblastos y los cementoblastos formadores de CCFI (Tenorio y Hugues, 1996) que es diferente del de los formadores de CAFE. Debido a que la principal función de CCFI es la de construir una gruesa capa mineralizada en un corto periodo de tiempo, puede esperarse que las células respondan a factores locales en una forma mucho más pronunciada que los cementoblastos formadores de CAFE (Bosshardt, 2005).

3.1.4.2 Vitamina D, 1,25 (OH)₂D₃ (Vit D)

La principal fuente de Vit D para la mayoría de los humanos proviene de la exposición de la piel a la luz del Sol, durante la cual el 7-dehidrocolesterol (7-DHC, provitamina D₃) absorbe una alta energía solar de fotones ultravioleta B (UVB; 290-315nm). El 7-DHC está presente en todas las capas de la piel humana, el 65% aproximadamente se encuentra en la epidermis y el restante 35% está en la dermis. Una vez que el 7-DHC ha absorbido la radiación UV realiza una fotoconversión a previtamina D₃. Pero la cantidad de esta última depende del número y energía de los fotones que alcanza cada capa de piel. Una vez que la previtamina D₃ se sintetiza en la piel sufre una fotolización en la bicapa de la membrana plasmática ya sea a lumisterol, taquisterol, 7-DHC o a una isomerización inducida por calor a Vit D. Una vez sintetizada y en circulación la Vit D se une a su proteína transportadora en la sangre (DBP *Vitamin D Binding Protein*) para ser llevada al hígado donde es convertida de D-25-hidroxilasa a 25-hydroxivitamina D [25(OH)D], la principal forma circulante de la Vit D. Para que ésta se vuelva activa es hidroxilada de nueva cuenta en el riñón a 1 α , 25-dihydroxivitamina D [1,25(OH)₂D]. Dicho metabolito, la Vit D, una vez activo se mueve junto a DBP a los tejidos que tiene como objetivo, uno de los cuales es la glándula tiroides donde inhibe la liberación de HPT (Figuras 3.9 y 3.10).

La Vit D, también conocida como calcitriol, interviene en la homeostasis mineral porque en el intestino aumenta la absorción de Ca²⁺ y Pi, y en el riñón incrementa la reabsorción del filtrado glomerular. En el intestino Vit D estimula la expresión del canal epitelial del calcio y de la calbindina 9K, además hace que la ATPasa de membrana plasmática (PMCA1b) deje el Ca²⁺ dentro del flujo sanguíneo. En el riñón, Vit D aumenta la reabsorción de Ca²⁺ por medio de la regulación de la expresión del canal de calcio TRPV5, calbindina-D28k, y PMCA1b. También aumenta los niveles de expresión del sodio dependiente del transportador de Pi Iib (NaPi2b) en el intestino y NaPi2c en el riñón, el cual aumenta la reabsorción.

Asimismo, la Vit D es reconocida por su receptor (VDR *Vitamin D Receptor*) en los osteoblastos debido a que provoca el aumento en la expresión de RANKL para inducir al preosteoclasto a convertirse en un osteoclasto maduro, lo que causa la remoción del Ca²⁺ y Pi del hueso para mantener sus niveles séricos en balance. De esta manera, el Pi y Ca²⁺ séricos, así como otros factores pueden aumentar o disminuir la producción renal de 1,25(OH)₂D.

La Vit D regula su propia síntesis y disminuye la de la HPT en las glándulas paratiroides. Aparte del metabolismo del Ca²⁺ la Vit D tiene efectos directos en el desarrollo de células óseas, estimulando la expresión de osteocalcina (OC), fosfatasa alcalina de tejido no específico (TNAP) y osteopontina (OPN), en los osteoblastos.

Además, se encarga de otras tareas biológicas como el mejoramiento de la diferenciación celular y/o la inhibición de proliferación celular, el mantenimiento neuromuscular normal, inmunomodulador y función cardiovascular.

Ante la relevancia que tiene Vit D en el metabolismo mineral y en el desarrollo osteoblástico, no es de sorprenderse que estos sistemas sean afectados por un estado de deficiencia de la misma. Enfermedades como raquitismo/osteomalacia, hipocalcemia e hiperparatiroidismo secundario son características de ello. En lo que se refiere al órgano dental, sus estructuras mineralizadas son un objetivo potencial para las repercusiones de Vit D por las anomalías en la homeostasis de Ca^{2+} / P_i , así como de sus efectos directos.

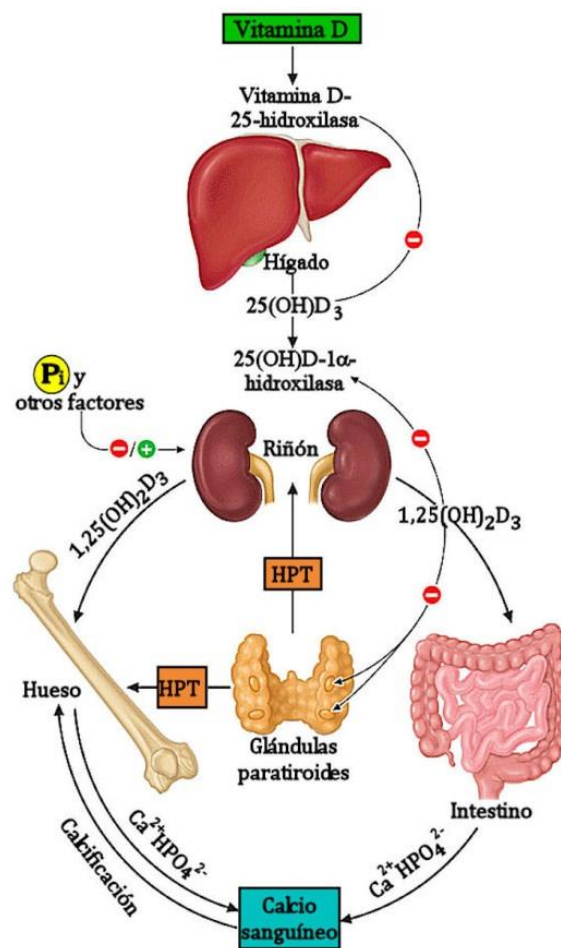


Figura 3.9. Representación esquemática del circuito de control hormonal para el metabolismo y el funcionamiento de la vitamina D. Una reducción del calcio sérico por debajo de aproximadamente 2.2 mmol/L (8.8 mg/100 ml) origina un aumento proporcional en la secreción de hormona paratiroidea (HPT) y, de esta manera, moviliza el calcio adicional del hueso. La HPT favorece la síntesis de 1,25(OH)₂D en el riñón, el cual, a su vez, estimula la movilización de calcio del hueso y el intestino, y regula la síntesis de HPT por medio de una retroalimentación negativa.

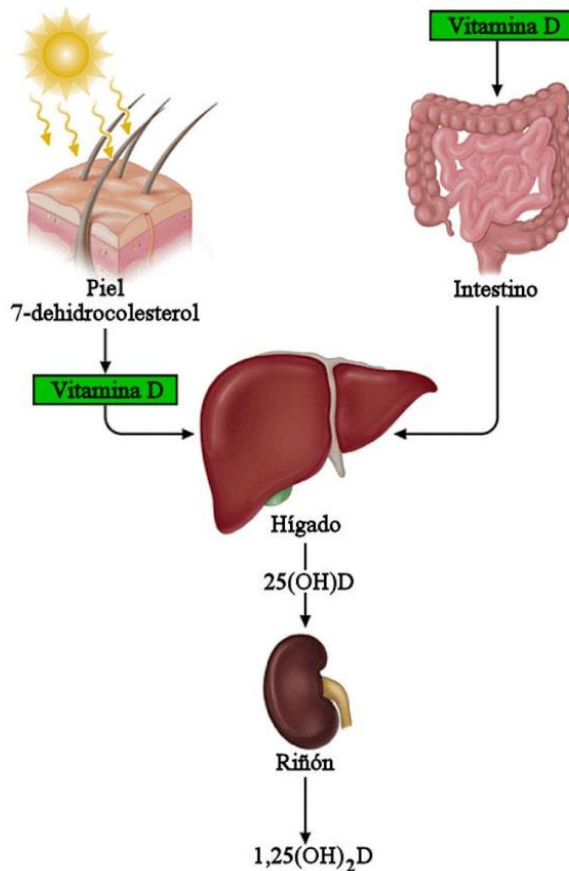


Figura 3.10. Síntesis y activación de la vitamina D. La vitamina D se sintetiza en la piel por reacción a la radiación ultravioleta y también se absorbe de los alimentos. Después es transportada al hígado, donde experimenta una 25-hidroxilación. Este metabolito es la principal forma de vitamina D que se encuentra en la circulación sanguínea. El paso final de la activación hormonal, 1alfa-hidroxilación, ocurre en el riñón.

El VDR ha sido identificado en los ameloblastos y odontoblastos en dientes incisivos de rata (Berdal *et al.*, 1995). Mientras que en otros experimentos se ha demostrado que una expresión reducida de amelogenina y enamelinina, resulta en la interrupción de la formación del esmalte con un aumento en el esmalte interprismático, lo cual fue restaurado con tratamiento de Vit D. En ratas con Vit D deficiente, la dentina tuvo defectos en su mineralización posiblemente por una notoria disminución de la OC (Berdal *et al.*, 1991). Estudios *in vitro* han mostrado que las células dentinogénicas expuestas a Vit D mostraron una expresión aumentada de OPN, OC (Ritchie *et al.*, 2004). Los ratones carentes de VDR tuvieron un fenotipo dental con delgadas paredes de dentina, un aumento en el espacio de la cámara pulpar, y una amplia capa de predentina con un borde irregular de dentina mineralizada (Zhang *et al.*, 2007). En humanos con raquitismo hipofosfatémico familiar, caracterizado por baja circulación de concentraciones de Vit D, tienen dientes con defectos en la dentina mineralizada

resultante de calcosferitos sin combinar (Chaussain-Miller *et al.*, 2007). El tratamiento de estos pacientes con Vit D y un aumento en la dieta de Pi resultó en la normalización de la mineralización de la dentina. De manera interesante, ratones y humanos con pérdida de PHEX (*Phosphate-regulating gene with Homologies to Endopeptidases on the X chromosome*) o de PMD1 son hipofosfatémicos y muestran un fenotipo dental similar (Foster *et al.*, 2008).

También se ha señalado que la insuficiencia de Vit D y calcio lleva al aumento de lesiones de reabsorción de raíz, así como a una pobre mineralización del cemento (Bielaczyc y Golebiewska, 1997; Chen *et al.*, 1999), lo que afectaría directamente al CCFI y no al CAFE. Esto se puntualiza porque en un experimento reciente con ratones, se demostró que la hipofosfatemia e hipocalcemia no fueron causa de la inhibición del CAFE (Foster *et al.*, 2013). Además, el VDR ha sido inmunolocalizado en algunas células de revestimiento de la raíz solamente durante su desarrollo (Onishi *et al.*, 2003).

Por otro lado, es sabido que la hormona del crecimiento (HC) regula la masa ósea (Olney, 2003) y mientras que CCFI es altamente receptivo a dicha, el CAFE parece ser menos afectado (Clayden *et al.*, 1994; Li *et al.*, 2001; Smid *et al.*, 2004). Esta diferencia puede depender de la expresión del receptor de HC, el cual está expresado de manera mucho más fuerte en los cementoblastos formadores de CCFI que en los correspondientes a CAFE (Zhang *et al.*, 1992).

De esta manera queda claro que los reguladores hormonales clásicos para el metabolismo mineral, la Vit D y la HPT, pueden afectar todos los tejidos mineralizados del complejo dento-alveolar cuando la homeostasis es severamente alterada. Sin embargo, la implicación directa de dichos reguladores en la cementogénesis aún no son del todo claros (Foster y Somerman, 2012) y al parecer el CCFI es quien resulta más afectado.

3.1.4.3 Fosfatoninas

La existencia y función de los reguladores endócrinos de Ca^{2+} , antes descritos, por muchas décadas supusieron que los niveles aniónicos de Pi tenían de alguna manera una regulación ‘pasiva’ para mantener el balance eléctrico con el Ca^{2+} catiónico. Sin embargo, debido a que en una variedad de condiciones médicas (raquitismo hipofosfatémico ligado a X, raquitismo hipofosfatémico autosómico dominante, raquitismo hipofosfatémico autosómico recesivo y osteomalacia inducida por tumor) se ha visto que los problemas con el metabolismo del Pi se deben a las alteraciones de una

o varias fosfatóninas, que son moléculas responsables de regular los niveles de Pi en el cuerpo (Schiavi y Kumar, 2004; Berndt *et al.*, 2005; Quarles, 2003; Bialesz, 2006). Las principales fosfatóninas, hasta la fecha, incluyen al factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF23), la fosfoglicoproteína de la matriz extracelular (MEPE *Matrix Extracellular Phosphoglycoprotein*) y la proteína FRP4, así como las moléculas que regulan, aunque de manera indirecta, la función de FGF23 o MEPE. Conforme las investigaciones continúan, otras moléculas como las fosfatóninas probablemente sean identificadas (Foster *et al.*, 2008). No obstante, hasta el momento no hay ningún reporte de la participación específica y clara de alguna fosfatónina en el desarrollo, mineralización y regulación del cemento celular o acelular.

3.1.4.4 El Pirofosfato

Se ha encontrado *in vitro* que uno de los reguladores fundamentales de la mineralización fisiológica y la calcificación patológica es el pirofosfato inorgánico (PPi), compuesto por dos moléculas de Pi, debido a su capacidad de inhibir la precipitación de HAP. No obstante el papel y regulación del PPi *in vivo* ha sido más difícil de dilucidar (Foster y Somerman, 2012; Foster *et al.*, 2012).

Las concentraciones del PPi, en el tejido mineralizado, están controladas por enzimas reguladoras y transportadoras como la fosfatasa alcalina de tejido no específico (TNAP *Tissue-Nonspecific Alkaline Phosphatase*). Ésta es una ectoenzima capaz de hidrolizar al PPi para obtener Pi, que es crucial para una adecuada mineralización tanto esquelética como dental. Además, la hidrólisis por la actividad de la fosfatasa alcalina (ALP *Alkaline Phosphate*) facilita un mecanismo de depuración del PPi para que la mineralización proceda.

En experimentos en el CAFE de ratones, Foster *et al.*, (2012) encontraron que la pérdida de las funciones del gene TNAP *Alpl* provoca hipofosfatasa (HPP *hipophosphatasia*), una enfermedad caracterizada por una pobre mineralización en hueso, raquitismo y osteomalacia, así como en fenotipos de diente. Con la ablación de dicho gene, el PPi local aumentó y se identificaron dos factores causantes de ello. El primero fue el gene de la anquilosis progresiva *Ank* (*Ankh* en humanos) que codifica una proteína transmembrana multipaso ANK para regular el transporte del PPi intracelular al espacio extracelular. El segundo factor que también trabaja para aumentar el PPi extracelular por hidrólisis de los nucleótidos trifosfato, fue la ectonucleótido pirofosfatasa/fosfodiesterasa 1 (E-NPP1 *Ecto-nucleotide pyrophosphatase phosphodiesterase 1*; codificada por el gene *Enpp1*). De esta manera, la remoción del PPi por la actividad de ALP fue la contraparte de la acción de ANK y E-NPP1. Ante

este escenario, juntos orquestaron la regulación de los niveles del Pi y PPi y en última instancia se dio paso a la mineralización (Figura 3.11).

Aunado a lo anterior, asociada a la condición de HPP se ha encontrado exfoliación en el cemento dental como resultado de aplasia o hipoplasia y por lo consiguiente una fijación periodontal muy débil. Por lo que se sugiere que la desregulación del PPi ocasiona que el CAFE, en su porción cervical, se vea severamente afectado, mientras que el CCFI, en la parte apical, presenta nula afectación o en mucho menor grado (van den Bos *et al.*, 2005).

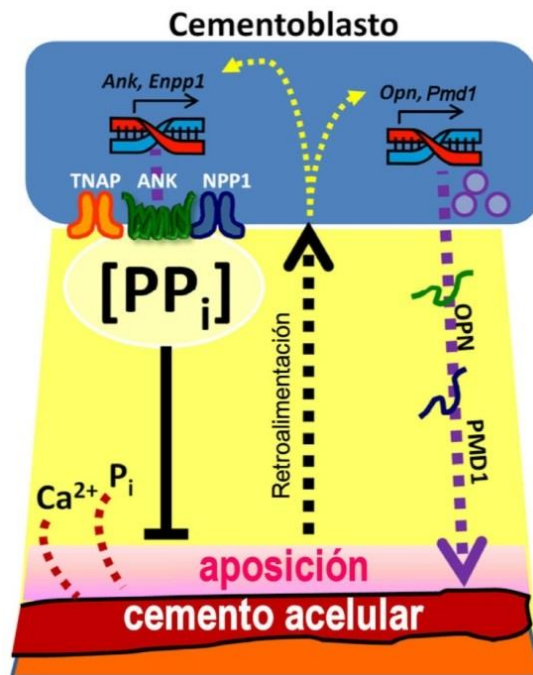


Figura 3.11. Modelo hipotético de la formación del cemento acelar. La aposición del cemento depende de la precipitación de los iones de calcio (Ca^{2+}) y fosfato (P_i) en la superficie de la raíz, mientras que el pirofosfato (PP_i) actúa como un inhibidor potente de la precipitación de cristales de HAP. La concentración pericelular local de PP_i está controlada principalmente por tres factores celulares: la fosfatasa alcalina de tejido no específico (*TNAP* Tissue-Nonspecific Alkaline Phosphatase, hidroliza PP_i a P_i), la proteína de anquilosis progresiva (*ANK* Progressive Ankylosis Protein; regula el transporte de PP_i del espacio intracelular al extracelular), y el ecto-nucleótido pirofosfatasa/fosfodiesterasa 1 (*E-NPP1* Ectonucleotide Pyrophosphatase Phosphodiesterase 1, produce PP_i de la hidrólisis de los nucleótidos trifosfatos). Los cementoblastos expresan *TNAP*, *ANK*, y *NPP1* para regular la homeostasis local de PP_i y así controlar la cantidad de aposición del cemento. Los cementoblastos responden a la aposición por algún tipo de mecanismo de retroalimentación de afuera hacia adentro y son capaces de modular la expresión de los reguladores de PP_i así como la producción de las proteínas secretadas de la matriz, tales como la *OPN* y la *PMD1*, las cuales pueden influir en la mineralización o en las propiedades de la matriz. (Tomado y modificado de Foster *et al.* 2012)

Como ya se ha mencionado, una formación adecuada del cemento es fundamental para la función dento-alveolar. Aunque, en lo que respecta a la cementogénesis aún falta entendimiento sobre las células asociadas, así como de los factores regulatorios involucrados, empiezan a ser más claras las diferencias entre el CAFE y CCFI. En este sentido, Foster *et al.*, (2012) demostraron que aparte de que el PPi sirve como un regulador esencial en el desarrollo del CAFE también juega un papel determinante en la definición de la interface (tejido duro-suave) entre el cemento y el LPD. Además, la falta de ANK o E-NPP1 resulta en el descontrol de la aposición del cemento, lo que tiene como consecuencia una hipercementosis excepcional. Aunado a esto, sostienen los autores que el grosor del cemento acelular está inversamente relacionado con la producción del PPi.

En el curso de un desarrollo normal de CAFE, los cementoblastos modulan el PPi para controlar la aposición (incrementando el PPi, por la vía de ANK y E-NPP1) para mantenerlo como un tejido delgado en la superficie de la raíz. Además también se sugiere que el PPi influye en la composición de las proteínas de la matriz extracelular, ya que frente a una cementogénesis rápida, los cementoblastos aumentan la expresión de OPN y PMD1. El aumento de OPN —un regulador negativo del crecimiento de los cristales de HAP— puede ser un mecanismo adicional que los cementoblastos emplean para limitar la extensión de la aposición del cemento (Figura 3.11). Por otro lado, la región periodontal en desarrollo muestra una fuerte inmunolocalización de TNAP y una alta actividad de ALP, lo que se traduce en un ambiente de pro-mineralización. Estas son circunstancias favorables para la aposición de las capas de cemento en la superficie de la dentina radicular. Sin embargo, una pregunta que surge es cómo el CAFE permanece como una capa mineralizada delgada y de crecimiento lento en tal ambiente permisivo para la mineralización. Mientras que el CAFE es dependiente de la modulación precisa del PPi local, el CCFI es mucho menos sensitivo a las fluctuaciones del PPi local. Si la homeostasis del PPi local es interrumpida, la morfología, velocidad de formación y composición de la matriz extracelular del CAFE quedan dramáticamente alteradas, situación que no sucede con el CCFI. Por lo tanto Foster *et al.* (2012) establecen la regulación estricta del PPi como una de las principales diferencias entre CAFE y CCFI.

Aunado a todo lo anterior, Foster *et al.* (2013) demostraron de manera experimental, en ratones, que la falta de sialoproteína ósea (SPO) se inhibe la formación y mineralización del cemento acelular. La SPO se encarga de unir al colágeno con alta afinidad y media la formación de la hidroxiapatita. Por ello la participación de la SPO resulta ser fundamental para la formación del CAFE en la mineralización inicial y su papel también podría ser crucial en la promoción del crecimiento aposicional del cemento. En el experimento, los ratones con ablación del gene de la SPO se descartaron tanto la deficiencia local de TNAP como la hipofosfatemia e hipocalcemia como causas

de inhibición del CAFE. Además en los ratones con ablación del gene de la Alp, al presentar pérdida de la función de TNAP, también se reportó la inhibición del CAFE, lo cual predispone a la pérdida del diente. Por su parte el CCFI, bajo las mismas condiciones experimentales, no resultó afectado, lo que demuestra que CAFE y CCFI son tejidos sujetos a diferentes influencias de desarrollo.

Todo esto indica que el cemento acelular es un tejido mineralizado fuertemente gobernado por la regulación del proceso físico-químico de la precipitación mineral, por un lado, y por los cementoblastos como las células capaces de dirigir el metabolismo del PPI para promover o contener la cementogénesis, por el otro. Este patrón fenotípico corresponde con el entendimiento de que CAFE como un tejido mineralizado carece de un precursor desmineralizado como lo tiene CCFI, el hueso y la dentina. De esta manera queda claro que CAFE es un tejido que depende de las condiciones físico-químicas del ambiente para la aposición, mientras que los otros tejidos mineralizados pueden ser regulados por la diferenciación celular, así como por la producción de la matriz.

3.2 Líneas incrementales de cemento dental (LICD)

En humanos, uno de los métodos para estimar la edad biológica que se enfoca en el tejido dental es denominado como, líneas incrementales o anillos de cemento dental. Esta técnica analiza la microestructura laminar del CAFE. La arquitectura de dicho tejido mineralizado proyecta, bajo el lente del microscopio óptico, líneas oscuras (estrechas) y translúcidas (anchas) alternantes entre sí (Figura 3.12) que, como se ha explicado en la sección anterior, corresponden a la aposición periódica del CAFE. La aposición de cada par de líneas — una translúcida y una oscura— responde a un ritmo biológico circanual, es decir de aproximadamente un año.

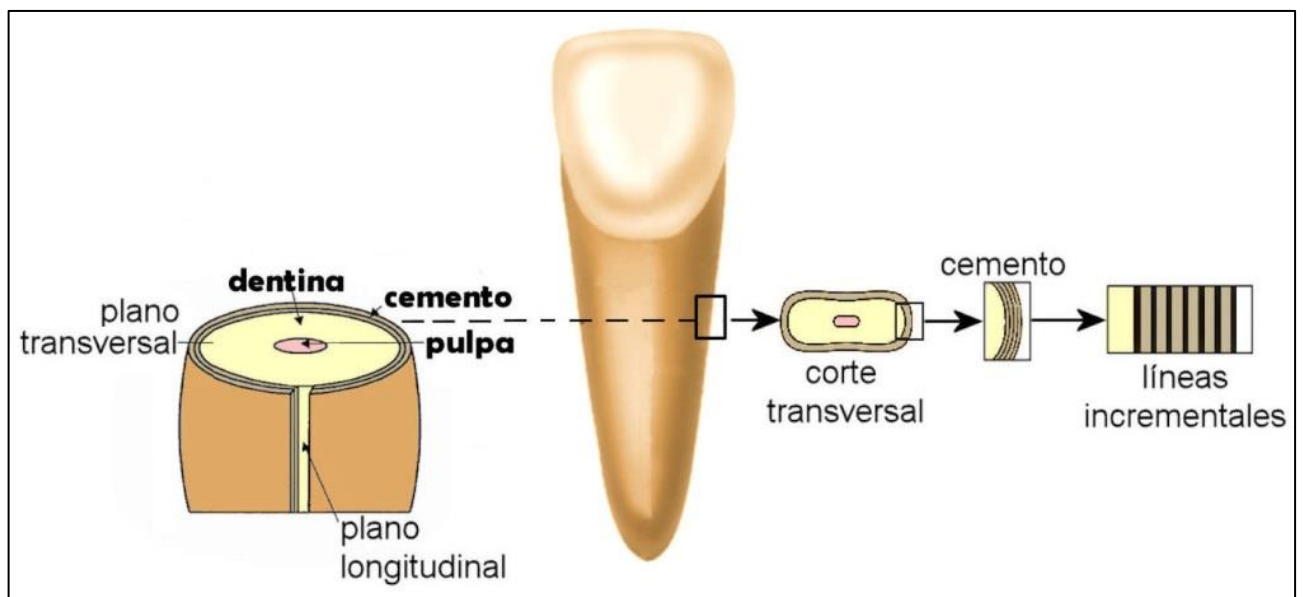


Figura 3.12. El método de líneas incrementales de cemento dental consiste en realizar un corte transversal en el tercio medio de la raíz dental. Con microscopía de luz se observa el patrón laminar del cemento acelular con líneas oscuras y translúcidas que alternan entre sí.

3.2.1 Naturaleza microestructural de las LICD

Así como se explicó en la sección anterior que el CAFE y el CCFI son tejidos que difieren en su origen y regulación, también lo son en su arreglo microestructural. Uno de los problemas latentes en los análisis de las líneas incrementales de cemento en mamíferos, incluyendo a los humanos, es el escaso conocimiento sobre el proceso biológico que está detrás.

Lo anterior se debe, en primera instancia, a falta de discernimiento entre el CAFE y el CCFI para observar el patrón de alternancia de las líneas incrementales en cuestión. En un principio se asumía que dicha alternancia en todo el cemento se debía a su birrefringencia (doble refracción) en relación al cambio de orientación de las fibras de colágeno (Soni *et al.*, 1962; Furseth y Johansen, 1968; Hals y Selvig, 1977; Lieberman, 1994; Stutz, 2002). Sin embargo, recientemente gracias al desarrollo de la técnica de maceración con NaOH, para examinar el arreglo tridimensional de las fibras de colágeno, Yamamoto *et al.* (2010) observaron que solamente en el CCFI, el arreglo fibrilar corresponde al modelo multilaminado torcido (*twisted plywood model*) propuesto por Giraud-Guille (1988). En el cual una lámina se conforma por múltiples capas, en cada una de ellas las fibras de colágeno se disponen de forma paralela y rotan de manera regular de una capa a la siguiente (Yamamoto, *et al.* 2010) (Figura 3.13). De esta manera, se demostró que la rotación de 180° de las fibras de colágeno corresponde a la periodicidad de la alternancia que se observa en el cemento celular (*Ibid*). Empero, en el caso del CAFE como las fibras de colágeno tienen un origen extrínseco (porque provienen del LPD) la rotación o los cambios de orientación del colágeno no tienen lugar y no provocan la apariencia de líneas incrementales (Yamamoto, 2014 comunicación personal).

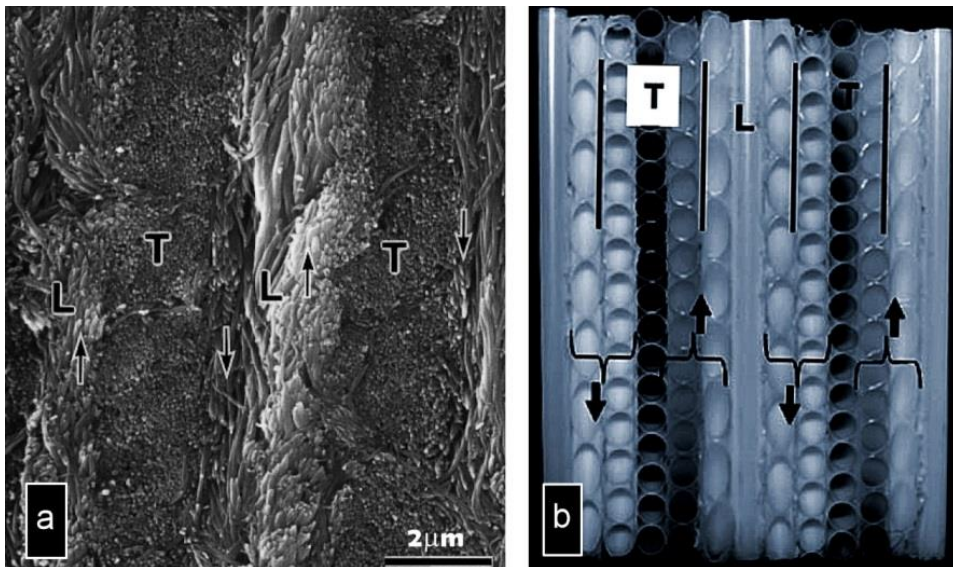


Figura 3.13. Patrón de alternancia laminar del cemento celular (CCFI). a) Las flechas indican la dirección que llevan las secciones de las fibras de colágeno. Las fibras rotan progresivamente (en el sentido de las manecillas del reloj) para formar la lámina transversa (T) y longitudinal (L) (Tomado y modificado de Yamamoto *et al.* 2000). b) Modelo multilaminar para explicar la rotación de las fibras de colágeno. Cada capa gira 30° de una a la siguiente hacia la derecha y la sexta corresponde a un periodo de una rotación de 180°. Como resultado, la lámina transversa se conforma por las capas que casi son transversales y de igual forma pasa en las longitudinales. Por ello aparecen alternadamente (líneas verticales) en una sección plana (Tomado y modificado de Yamamoto *et al.*, 2010).

Esto último encuentra sentido con el estudio de Cool *et al.* (2002), en el cual demostraron que la birrefringencia del CAFE se debe a la fase mineral y no al colágeno. Asimismo, Bertrand *et al.* (2013) por medio de espectroscopía Raman estudiaron las oscilaciones tanto de los cristales de apatita como de las fibras de colágeno y vieron que la orientación de ninguno de los dos cambió. Lo que resta por corroborar son otras propiedades de los cristales de apatita (como cambios en su tamaño) que podrían contribuir al mencionado patrón de alternancia (Cool *et al.*, 2002; Bertrand *et al.*, 2013).

Por otro lado, se ha discutido mucho acerca de las variaciones en cuanto a la concentración de los constituyentes de la porción mineral. Se ha asumido que durante el verano el crecimiento es más activo y por lo tanto el cemento crece de forma acelerada sin que haya tiempo de que los cristales de apatita se depositen al mismo ritmo (Morris, 1972; Klevezal, 1996) y por el contrario durante el invierno el crecimiento es lento y el tejido se hipermineraliza. Bajo este entendido, también se ha dicho y demostrado de forma indirecta que las líneas oscuras están hipermineralizadas y las translúcidas hipomineralizadas (Lieberman, 1994). En el CCFI se adjudica a los cementoblastos el control del arreglo fibrilar del colágeno por medio de movimientos celulares sincrónicos y periódicos que crean una secuencia dinámica que resulta en un patrón laminar alternante (Yamamoto *et al.*, 2010)²⁵. Sin embargo, en el CAFE las líneas incrementales están asociadas con las matrices no colagénicas (Yamamoto, 2014 comunicación personal) y de manera específica con la actividad de la sialoproteína ósea (SPO) (Foster *et al.*, 2013). Empero aún falta por encontrar una explicación de los procesos bioquímicos y fisiológicos que están detrás de la hiper e hipomineralización. Asimismo, es necesario que se demuestren de manera directa dichas diferencias de mineralización entre ambos tipos de líneas. Empero, podría ser que en CAFE este patrón de mineralización esté relacionado con un propósito estructural más que con uno fisiológico.

Además, algunos experimentos que han tratado de demostrar las diferencias entre las líneas oscuras y translúcidas en lo que se refiere a la fracción mineral, se contraponen. Esto quizá se debe a problemas propios de las técnicas utilizadas y no al material *per se*. Cool *et al.* (2002) por medio del análisis de microsonda con el detector de retrodispersión de electrones (BSE), reportan una distribución homogénea de Ca, P y S, lo cual indica que la composición mineral no varía de una línea a la siguiente. Mientras que Bertrand *et al.* (2013) a través del análisis de espectroscopía por dispersión de energías de rayos X (EDS) con el microscopio electrónico de barrido ambiental

²⁵ Sin embargo, el movimiento celular sincronizado no es exclusivo del cemento. Por ejemplo, los grupos de ameloblastos tienen un movimiento sincrónico que crea cambios alternantes en el arreglo de los prismas del esmalte dental, el cual resulta en bandas alternantes negras y claras mejor conocidas como bandas de Hunter-Schreger (Boyde, 1989).

(ESEM), encuentran diferencias significativas en las concentraciones de Ca y P entre las líneas oscuras y translúcidas.

Es muy probable que las técnicas mencionadas —BSE, EDS, ESEM— no sean las adecuadas para analizar si la composición mineral del cemento es heterogénea o no, porque hay que tomar en consideración el ancho de las líneas. Este puede variar entre los individuos, aunque en general, se mantiene constante a lo largo de la dimensión del cemento. El ancho de las líneas oscuras y translúcidas aproximadamente puede ir de 1-2 μm y 3-4 μm respectivamente. En este sentido, cuando se hace el análisis con EDS o BSE se debe considerar que cuando el haz de electrones incide sobre la muestra, los rayos X que se recogen en el detector se han generado en un volumen bajo la superficie observable (más o menos con forma de esfera o pera). Si en ese volumen los electrones se encuentran con una heterogeneidad se excitarán rayos X de una composición diferente y serán recogidos por el detector como provenientes del punto de interés. Para evitar que al dispersarse el haz de electrones en el interior de la muestra una partícula ajena al punto de análisis deseado contribuya a la radiación, se debe establecer una “distancia de seguridad” de 2 μm (Almagro, 1999). De esta forma, considerando la variación que puede existir en la anchura de las líneas del cemento, los resultados de ambos experimentos generan incertidumbre.

3.2.2 Las LICD en contexto

La noción de que los patrones de crecimiento en el tejido mineralizado pueden ser usados para estimar la edad de los organismos no es nueva y se remonta a Aristóteles (384-324 a.C.). En su Historia de los Animales (Libro V.XV) dice: ‘El púrpura [caracol del mar Mediterráneo] vive cerca de seis años, y cada año su crecimiento se observa claramente en los intervalos de la espiral de su concha’ (citado por Schöne y Gillikin, 2013).

Es muy importante poner dentro del contexto de los organismos vivos al patrón de crecimiento que se observa en el cemento dental. En la naturaleza, por ejemplo, en una sección transversal del tronco de un árbol se denotan líneas concéntricas o anillos que son depositados de manera anual, y con ello se determina tanto su cronología como patrones medioambientales específicos (Fritts, 1976). De igual forma, en la estructura de los corales se presentan bandas anuales incrementales (delgadas/oscuras y anchas/blancas) (Marali *et al.*, 2013), que reflejan variaciones fisicoquímicas periódicas que pueden ser relacionadas, también, con su cronología y con episodios medioambientales (Schöne y Gillikin, 2013). Asimismo, en una sección transversal de hueso largo en los vertebrados, existentes y fósiles, ectotérmicos (Jakob *et al.*, 2002;

Chinsamy y Valenzuela, 2008; Tumarkin-Deratzian, 2007) y endotérmicos (Köhler *et al.*, 2012) se revelan líneas de detenimiento del crecimiento (LAGs *Lines of Arrested Growth*), es decir, periodos en los cuales la osteogénesis se detiene (Chinsamy-Turan, 2005). Las LAGs registran ciclos anuales de crecimiento, ritmos metabólicos y niveles hormonales (Marín-Moratalla *et al.*, 2013). Empero, es importante señalar que no todas las LAGs tienen la misma estructura y origen (Tütken *et al.*, 2004).

En hueso largo humano, hasta el momento, no se han identificado las LAGs pero sí en el cemento dental, al igual que en más de 50 especies de mamíferos. Desde que inició la aplicación de las LAGs para estimar la edad biológica en el cemento dental de pinnípedos (foca, morsa, león y elefante marinos, entre otros) (Scheffer, 1950; Laws, 1952) a mediados de la centuria pasada, se ha extendido su estudio a otras especies de mamíferos terrestres y marinos. Para su uso en humanos, la técnica se adecuó en la década de los 80 (Stott, 1982; Charles *et al.*, 1986; Condon *et al.*, 1986), pero es denominado como líneas o anillos incrementales de cemento dental y no como LAGs. Hasta la fecha es un método ampliamente utilizado, no sólo en antropología física sino también en zoología actual y arqueológica (Grue y Jensen, 1979; Matson, 1985; Klevezal, 1996; Castanet *et al.*, 1993, 2004; Christensen-Dalsgaard *et al.*, 2010; Nývltová, 2013; Pike-Tay y Ma, 2013).

3.2.3 El ritmo biológico circanual

Los ritmos biológicos en todos los organismos son inherentes a la vida misma. Desde que apareció la forma de vida más simple, hace 3.5 billones de años²⁶, se desarrollaron los genes reloj para ayudar a los organismos a adaptarse. De esta forma pudieron medir las alteraciones regulares entre el día y la noche, así como entre el calor y el frío. Por ello, la organización temporal de la vida, indudablemente, ayudó a las especies a sobrevivir, anticipando los cambios previsibles en el medio ambiente a través del día y del año. Asimismo, de uno en uno los genes reloj se fueron trasladando de los organelos procariotas a los organismos eucariotas que, de manera paulatina, fueron siendo más complejos. Por lo tanto, los ritmos biológicos se fueron desarrollando durante la evolución de la vida (Willard y Sothorn, 2006).

Un ritmo se define como un cambio que se repite con un patrón similar. Si la variable que cambia es biológica y endógena, entonces la oscilación observada puede ser objetivamente referida como un ritmo biológico (*Ibid.*). Existen diferentes categorías

²⁶ Los organismos procariotas fotosintéticos, como la cianobacteria, fueron los primeros en presentar un reloj biológico desde hace 3.5-3.8 billones de años, de acuerdo con el registro fósil (Johnson *et al.*, 1998).

de ritmos, ultradianos (<20h), circadianos (20-28h) e infradianos (>28h). En esta última categoría se encuentra el ritmo circanual, que gira alrededor de los 365 días (Willard y Sothorn, 2006; Miyazaki *et al.*, 2012).

En el núcleo supraquiasmático del hipotálamo está el reloj maestro que genera los ritmos circadianos en los mamíferos y es responsable de sincronizarlos con los ciclos externos de luz/oscuridad. Además, hay osciladores periféricos en todo el cerebro y cuerpo que son responsables de establecer la 'hora local' en varios órganos y tejidos. Estos se sincronizan por numerosas entradas, que incluyen los ritmos de la circulación de los glucocorticoides, alimentación y temperatura corporal (Karatsoreos *et al.*, 2013).

Los relojes circanales necesitan un sincronizador (*Zeitgeber*) medioambiental para acoplar, de manera real o superficial, un ritmo biológico con otro externo, que por lo general es el fotoperiodo²⁷. Sin embargo los efectos de este último en los ritmos circanales dependen de la fuerza del sincronizador y de las especies (Miyazaki *et al.*, 2012). Asimismo, otras fluctuaciones medioambientales (temperatura, lluvia, disponibilidad de comida, etc.) proporcionan información sobre los procesos anuales, pero su importancia es relativa y depende, también, tanto de las especies como del medioambiente (Bradshaw y Holzapfel, 2007). Por ejemplo, en ambientes tropicales con alta imprevisibilidad del medioambiente, las señales de temperatura y lluvia son más importantes, mientras que en el Ártico, cuando comienza el deshielo es señal del inicio de la estación de crecimiento y por lo tanto influye en la estación de la reproducción animal (Helm *et al.*, 2013).

Las especies varían en su dependencia a las señales externas para sincronizar sus osciladores internos. No obstante, los animales que viven en medioambientes donde la información sobre la duración del día por estación es limitada (por ejemplo en el ecuador), no es confiable (por el estilo de vida) o está temporalmente inaccesible (migración o hibernación), en general su sincronización recae en los osciladores internos. Esto se debe a que los ciclos circanales pueden persistir en la ausencia de cualquier señal de tiempo externa (Gwinner, 1996). Por ejemplo, en algunos mamíferos, los ciclos circanales son tan robustos que la información fotoperiódica puede estar ausente y sin embargo su sincronización anual prevalece. Esto último se considera como un ciclo circanual de curso libre, es decir que el ritmo en ausencia de sincronizadores externos continúa oscilando siguiendo su propia periodicidad endógena (Willard y Sothorn, 2006).

²⁷ El fotoperiodismo se define como la respuesta de un organismo (plantas y animales) al tiempo y a la duración del día (luz/oscuridad) asociados con las estaciones del año (Willard y Sothorn, 2006).

Los ciclos circanuales más endógenos que se han medido hasta ahora tienen periodos un poco menores o mayores a los 365 días (Helm *et al.*, 2013). De igual manera, bajo condiciones experimentales las fases del ciclo circanual se desvían progresivamente hacia antes o después de los 365 días (*Ibid*).

El control y la expresión de los ciclos anuales varía de acuerdo al grado de flexibilidad que tengan las especies, así como del medioambiente y de las señales que afecten sus sistemas fisiológicos (Visser *et al.*, 2010; Helm *et al.*, 2013). Sin embargo, como hay un conocimiento limitado en este campo, es difícil encontrar las explicaciones de los mecanismos endógenos que miden el tiempo (Helm, *et al.*, 2013).

Aunado a lo anterior, hay un conocimiento realmente limitado sobre cómo los seres humanos responden a la estacionalidad (Foster y Roenneberg, 2008). En nuestro pasado evolutivo reciente, los cambios de las estaciones tenían una influencia marcada en la biología humana, porque indicaban los ciclos anuales de la reproducción, función inmune, enfermedad y muerte. Por ejemplo, nuestros ancestros migraron de África hacia latitudes más altas y encontraron diferentes temperaturas, así como una gran variedad de comida disponible, por lo que pudieron haber desarrollado una respuesta fotoperiódica fuerte (Helm *et al.*, 2013). No obstante con el paso del tiempo, en las naciones industrializadas, los humanos han ido prescindiendo, de manera progresiva, de los cambios estacionales (temperatura, comida y fotoperiodo). Empero, las estaciones continúan teniendo un efecto en nuestras vidas. El nacimiento de los individuos, la susceptibilidad a la enfermedad, y la muerte no están aleatoriamente distribuidos a lo largo del año en las sociedades modernas (*Ibid.*). Durante los últimos 100 años, desde la llegada de la luz eléctrica y de la industria moderna, se ha roto la conexión que una vez fue muy estrecha entre el día solar y nuestras actividades diarias, por ello los ciclos circadianos se han ido alterando (Karatsoreos *et al.*, 2013). Aunque falta mucho por investigar, las consecuencias de esto último se pueden reflejar en trastornos fisiológicos, metabólicos y psicológicos (*Ibid*).

Es difícil explicar porque la estacionalidad aún repercute en la fisiología del ser humano moderno, en particular cuando la disponibilidad de la comida es, en su mayoría, constante y la afectación por los cambios en la temperatura del ambiente a lo largo del año, están en gran medida erradicados en las sociedades industrializadas (Helm *et al.*, 2013). Una posible explicación es que los ciclos circanuales que aún se pueden identificar en los humanos —como las líneas incrementales de cemento dental— son residuos de las respuestas adaptativas que desarrollaron nuestros antepasados como resultado de una larga trayectoria evolutiva de los ritmos biológicos. Nuestros antepasados, al igual que otras especies tropicales, pudieron haber sincronizado procesos fisiológicos, por medio de relojes circanuales, con diversas señales medioambientales. Quizás en los humanos se ha retenido un medidor de tiempo

circanual que, en cierta medida, puede ser sincronizado por factores medioambientales o por el estatus metabólico (*Ibid.*).

Las variaciones estacionales dan forma a los ciclos de vida de animales y plantas, y sus adaptaciones a tales cambios tienen un papel crucial en la determinación de su sobrevivencia y de su éxito reproductivo. Los seres humanos no estamos exentos de esto, la diferencia es que nos hemos desarrollado y adaptado de tal manera que sobrevivimos a los cambios medioambientales modificando nuestro entorno. Pero, aunque en esta modificación hayamos perdido contacto con la naturaleza y su tiempo, y por ello nos sintamos inmunes a tales cambios, no quiere decir que no continuemos siendo regulados, en cierta manera, por los ciclos circanuales.

3.2.4 Las LAGs en el crecimiento cíclico anual del hueso en mamíferos no humanos

En el caso de los mamíferos no humanos, el crecimiento cíclico del hueso, reflejado en LAGs, está correlacionado tanto con el patrón de las estaciones del año como con la fisiología estacional del organismo (Köhler *et al.*, 2012). No obstante, el uso de los mecanismos internos de los osciladores entre todas las especies puede ser diferente (Helm *et al.*, 2013).

En las estaciones poco favorables, por lo general durante la sequía, los organismos usan una compleja estrategia de conservación de energía, la cual incluye variaciones cíclicas en el centro de la temperatura corporal, pausa en el ritmo metabólico y cambios en los niveles hormonales asociados (Köhler *et al.*, 2012). Además, el detenimiento del crecimiento (LAGs) forma parte de dicha estrategia. Por otro lado, cuando da inicio la estación favorable, por lo general la húmeda, los recursos con altos valores nutritivos se tornan abundantes y los mamíferos aumentan su ritmo metabólico y maximizan su ritmo de crecimiento (asociado con el mejoramiento de la actividad tiroidea y el aumento del factor de crecimiento similar a la insulina (*Ibid.*)). Aunado a esto último, el pico metabólico y los niveles de IGF-1 coinciden con los episodios de intenso crecimiento a la mitad de la estación favorable (Suttie y Webster, 1995).

Los ciclos de crecimiento estacional, LAGs, han sido señalados para casi todos los ectodermos y son considerados como una plesiomorfía²⁸. Asimismo, la presencia de tales ciclos en organismos endotérmicos modernos, así como su fina entonación con las fluctuaciones estacionales en lo que se refiere a la disponibilidad de recursos, sugiere

²⁸ Una plesiomorfía es el estado primitivo o ancestral de un carácter, es decir, permanece sin cambio con respecto a la forma ancestral.

que forman parte de una herencia antigua que sigue en operación hoy en día. Desde hace mucho se sabe que los endotermos anualmente tienen la capacidad de suspender su crecimiento durante los periodos donde hay un balance negativo. De acuerdo con la teoría de la historia de la vida, la disminución repentina en el ritmo de crecimiento resulta de un balance de energía entre el crecimiento y la reproducción (Stearns, 1992). Siempre que el organismo necesite crecer, con el fin de alcanzar el tamaño mínimo para lograr una reproducción exitosa, los recursos se canalizan hacia el crecimiento y mantenimiento. Pero tan pronto como el tamaño es alcanzado, los recursos se canalizan a otra parte que no sean el crecimiento y la reproducción (Ricklefs, 2007; Roff, 2002; Stearns, 1992).

Recientemente se ha encontrado que no sólo el crecimiento se detiene durante la estación desfavorable, sino que de manera concomitante disminuyen la temperatura del cuerpo, el ritmo metabólico y el crecimiento óseo por medio de los niveles del IGF-1 en plasma (Köhler *et al.* 2012). Esto forma parte de la estrategia termometabólica apomórfica²⁹ para la conservación de la energía, porque refleja la eficiente capacidad de explotar y de asignar los recursos abundantes, como la comida, para el crecimiento, aspecto que no se observa en los ectodermos (*Ibid*).

De esta manera, todos los organismos expuestos a cambios medioambientales por las diferentes estaciones, han desarrollado adaptaciones fisiológicas y endócrinas que les permiten hacer frente a los climas desfavorables, así como también explotar las estaciones favorables. Köhler *et al.* (2012) han demostrado que las LAGs se presentan en todos los mamíferos aunque su significado no está claro (Sander y Andrassy, 2006). Es decir, que es posible que las LAGs registren ciclos anuales de crecimiento, ritmos metabólicos y niveles hormonales, pero no es una regla para todas las especies.

3.2.5 Crecimiento cíclico anual de las LICD

Desde que se descubrió que la microestructura del cemento dental presentaba el patrón de detenimiento estacional o LAGs diversos trabajos en mamíferos no humanos, a grandes rasgos, han asumido que la estrategia de conservación de la energía — mencionada en el punto anterior — se aplica también para el cemento dental (Grue y Jensen, 1979; Garshelis, 1992; Lieberman, 1994; Nývltová, 2013). Sin embargo, como se señaló antes, que si bien en todos los mamíferos se pueden encontrar las LAGs no en todas las especies su significado es necesariamente el mismo. Esto se observa en lo que

²⁹ Apomorffia es el estado derivado de un carácter, es decir, modificado con respecto a la forma ancestral.

han reportado diversos trabajos sobre las líneas incrementales de cemento dental (LICD) en diferentes especies. Por ejemplo, aunque la mayoría de los autores están de acuerdo que durante el invierno el crecimiento se detiene y se depositan las líneas oscuras (Klevezal, 1996, Nakanishi *et al.*, 2009; Sherrard-Smith y Chadwick, 2010; Matson, 1985; Grue y Jensen, 1979; Lieberman, 1994; Low y Cowan, 1963) hay otros investigadores que indican lo contrario (Lam, 2008; Heggberget, 1984). Asimismo, la asociación entre la última línea de cemento dental (oscura o translúcida) con la estación o mes del deceso no ha resultado positiva para todas las especies en estudios controlados (Nokanishi *et al.*, 2009; Lam, 2008; Chritz *et al.*, 2009) e incluso se ha encontrado variaciones inter-especie (Lam, 2008). Por lo que se refiere a la determinación de la edad también se han encontrado diferencias intra e inter-especies (Rogers, 1978; McLaughlin *et al.*, 1990). Por ejemplo, sobre este respecto, los estudios en osos polares son inconsistente (Grue y Jensen, 1979; Hensel y Sørensen, 1980; Christensen-Dalsgaard *et al.*, 2010) así como en nutrias (Sherrard-Smith, 2010). Pero, por el contrario, hay trabajos que sí encuentran una correlación positiva tanto para la edad como para la estacionalidad en diferentes especies (O'Brien, 1994 citado por Lam, 2008; Nývltová, 2013; Klevezal, 1996; Grue y Jensen, 1979; Matson, 1985).

Todo esto concuerda, en parte, con la dependencia variable que las especies tienen con las señales externas para sincronizar sus osciladores internos. Además, como se ha hecho hincapié, la fuerza de la periodicidad endógena varía en cada una de las especies. Por lo cual es muy importante considerar el curso evolutivo de los ritmos biológicos de cada especie. Si bien la dentición ha permanecido extremadamente similar a lo largo de la evolución de los vertebrados, la diversidad morfológica que se encuentra en ella está relacionada con la adaptación de su función en el medioambiente (Tucker y Fraser, 2014).

En los seres humanos se han llevado a cabo múltiples estudios que demuestran que las LICD tienen una fuerte correlación con la edad cronológica (Tabla 3.1). Es decir, que hay un ritmo circanual que dicta el depósito periódico del cemento dental. Sin embargo, en cuanto a la estacionalidad aún no hay trabajos conclusivos (Wedel, 2007), lo cual se debe en parte a que en la práctica la última banda de cemento depositada es muy difícil de distinguir (Grosskopf y McGlynn, 2011).

Por otro lado la estrategia de conservación de energía que se puede aplicar a otras especies de mamíferos para explicar el detenimiento del crecimiento en el cemento dental, no se puede asumir de manera automática para los seres humanos. Como ya se mencionó, el ser humano al transformar su entorno ha relegado su dependencia al fotoperiodo y a todo lo que ello conlleva. No obstante, el depósito anual de las líneas incrementales de cemento dental, al parecer funciona porque es un residuo de un ritmo biológico que lleva tras de sí una larga trayectoria evolutiva. La dentición es un sistema

que ha permanecido a lo largo de la evolución, tanto en términos de bases genéticas como en la estructura propia del diente (Tucker y Fraser, 2014). Esto implica que en los humanos este ritmo circanual está regido por una robusta periodicidad endógena y posiblemente sea un ritmo de curso libre, esto es, que no depende de factores externos para dejar de funcionar.

Lo anterior se deduce, en parte, por los resultados de los estudios en este rubro en humanos. Por ejemplo, en dientes impactados (no erupcionados) se ha encontrado la periodicidad anual en las líneas incrementales en el cemento (Kagerer y Grupe, 2001), lo cual apoya la noción de la fuerza endógena que tiene este ritmo biológico. En cuanto a la latitud, las diferentes poblaciones que se han analizado indican que no hay diferencias en la periodicidad anual en que se deposita el cemento acelular en lugares donde la latitud es alta, media o baja (Figura 3.14 y Tabla 3.1). Es decir que el fotoperiodo y por ende la función de la hormona paratiroidea y vitamina D, no son factores determinantes para el ritmo periódico con el que crece el cemento acelular —como se apuntó en la sección anterior— como algunos autores han sugerido (Wittwer-Backofen *et al.*, 2004).

Por otro lado, es de suma importancia diferenciar entre el cemento celular (CCFI) y el cemento acelular (CAFE), ya que en muchos estudios estos dos tipos de cemento se utilizan de manera indistinta (por ejemplo Matson, 1985; Lieberman, 1994; Regalado, 2005) y no siempre se reportan resultados satisfactorios. En el caso de los seres humanos, es en el CAFE donde se puede leer la periodicidad anual del crecimiento del cemento. Aunque bajo la luz del microscopio las líneas oscuras y translúcidas, tanto del CCFI como del CAFE parezcan tener la misma naturaleza, no es así. El depósito periódico del cemento en la zona del CAFE podría estar más relacionado con una ventaja evolutiva, ya que este tipo de cemento es fundamental para la fijación del diente dentro del hueso alveolar. Mientras que el CCFI se ocupa de resistir la compleja mecánica de la masticación para un procesamiento eficiente de la comida. De esta manera si el depósito del CAFE dependiera de factores externos, la fijación del diente dentro del alveolo estaría en constante peligro, lo cual se opondría a su propósito evolutivo, debido a que la dentición es esencial para el éxito de un organismo (Tucker y Fraser, 2014). Sin embargo, esto no es así, las capas del CAFE se depositan de forma periódica asegurando la fijación del diente, a menos que se presenten factores patológicos específicos que lleven a la destrucción completa del cemento.

Tabla 3.1. Principales investigaciones que han utilizado el método de las líneas incrementales de cemento dental en humanos para estimar la edad biológica. (LICD= Líneas Incrementales de Cemento Dental; EC= Edad Cronológica)

Año	Autores	N° de muestras (dientes)	Procedencia de las muestras	EC conocida (intervalo de años)	Resultados y comentarios
2013	Gocha y Schutkowski	30	Reino Unido (población moderna)	Sí (13-82)	Estudio experimental: dientes sometidos a alteración térmica con calor controlado 600, 800 y 1000°C. Después de los 600° C la estimación de la edad con LICD es satisfactoria.
2013	Gauthier y Schutkowski	21	Box Lane de Pontefract, Inglaterra. Cementerio del medioevo tardío.	No	Correlación de Spearman positiva entre la estimación de EB con métodos morfológicos (sínfisis y superficie auricular) y las LICD
2013	De Broucker <i>et al.</i>	41	Lille, Francia (Población moderna)	Sí	Correlación con la EC y la edad estimada por LICD en dientes con enfermedad periodontal.
2012	Robbins <i>et al.</i>	18	Uttar Pradesh, India Damdana (5250-550 a.C.)	No	Sólo 14 muestras con resultados satisfactorios. La diferencia entre LICD con métodos morfológicos fue de 4.89±9 años.
2010	Dias <i>et al.</i>	55	São Paulo, Brasil (población moderna)	Sí	Para las muestras sin asociación con enfermedad periodontal el error promedio fue de 1.6 años. Pero las muestras con dicho padecimiento el error promedio fue de 22.6 años.
2010	Kasetty <i>et al.</i>	200	India (población moderna)	Sí	Sólo en 1.5% de la muestra la predicción fue exacta y el resto presenta una diferencia de ±12 años.
2009	Pundir <i>et al.</i>	40	Meerut, India (población moderna)	Sí (21-70)	Obtienen una correlación significativa para estimar la edad con LICD con el uso de microscopía de fases de contraste.
2009	Avadhani <i>et al.</i>	19	Mumbai, India (población moderna)	Sí	En 18 de las 19 muestras la edad estimada por LICD varió de la cronológica por 2-3 años. Por lo que la confiabilidad del método fue de 94.73%

Tabla 3.1. Continúa...

Año	Autores	N° de muestras (dientes)	Procedencia de las muestras	EC conocida (intervalo de años)	Resultados y comentarios
2009	Roksandic <i>et al.</i>	116	Iron Gates Gorge Sitio mesolítico/neolítico 8,500-5,500 a.C. Serbia	No	En 76 muestras no se puede identificar ninguna línea de cemento por procesos diagenéticos y encuentran este método con la misma incertidumbre de los morfológicos.
2009	Obertová y Francken	116	Alemania y Sri Lanka Finales del siglo XIX principios de XX.	Sí (20-75)	Se subestima la edad en individuos de >40 años. La edad es confiable sólo en individuos de 20-39 años. La precisión del método disminuye con la edad.
2008	Aggarwal <i>et al.</i>	30	Meerut, India (población moderna)	Sí (13-69)	Correlación positiva fuerte, el promedio de error es de 1-3 años. En individuos con más de 60 años la diferencia es de 9-12 años.
2008	Wittwer-Backofen <i>et al.</i>	104	Cementerio del medioevo temprano de Lauchheim, Baden-Württemberg, Alemania. (450-660/680 d.C.)	No	Utilizan varios métodos para estimar la edad y resultó con considerables errores de inter-observador (8 años de diferencia) y errores intra-individual (4 años de diferencia)
2008	Meinl <i>et al.</i>	67	Vienna (población moderna)	Sí (20-91)	La diferencia en años con la edad cronológica varía de acuerdo con la categoría de edad: 20-40= 0.8; 41-60= -3.7; >60= -12.1; todas las edades= -4.0 años.
2007	Wedel	92	California, Estados Unidos (Población moderna)	Sí (15-90)	Sólo demuestra que las bandas se depositan por estación.
2004	Bojarun <i>et al.</i>	227	Lituania	Sí	Fuerte correlación con la edad cronológica $r=0.95$, $p=0.001$ ± 5.5 años. La precisión del método disminuye conforme aumenta la edad.
2004	Wittwer-Backofen <i>et al.</i>	363	Alemania (población moderna)	Sí (12-96)	La diferencia con la EC no es mayor a los ± 2.5 años.

Tabla 3.1. Continúa...

Año	Autores	N° de muestras (dientes)	Procedencia de las muestras	EC conocida (intervalo de años)	Resultados y comentarios
2002	Wittwer-Backofen y Buba	42	Alemania (población moderna)	Sí (17-81)	La diferencia con la EC no es mayor a los ± 4.6 años.
2001	Kagerer y Grupe	80	Bavaria, Alemania (población moderna)	Sí	La diferencia con la EC en dientes sanos es de 2-3 años y en dientes con alguna patología es de 5.7 años. En este estudio se incluyen dientes impactados en los cuales se encontró una asociación precisa entre la EC y la estimación de la edad por LICD.
2001	Jankauskas <i>et al.</i>	51	Lituania	Sí	La diferencia con la EC es de $6.46 \pm$ años.
2001	Jankauskas <i>et al.</i>	48	Lituania Tumbas inhumadas en 1944-47	No	En la comparación con otros métodos con LICD la diferencia es de $6.27 \pm$ años y en algunos casos excedió los 10 años. El conteo de las LICD sólo se pudo realizar en 37 dientes
1986	Charles <i>et al.</i>	71	Chicago, Estados Unidos (población moderna)	Sí	Encuentran que se obtienen mejores resultados si las muestras no se desmineralizan.
1986	Condon <i>et al.</i>	19	Chicago, Estados Unidos (población moderna)	Sí (55-86)	La diferencia con la EC es de $6 \pm$ años
1982	Stott <i>et al.</i>	10	Texas, Estados Unidos	Sí (57-76)	La estimación es cercana a la cronológica.

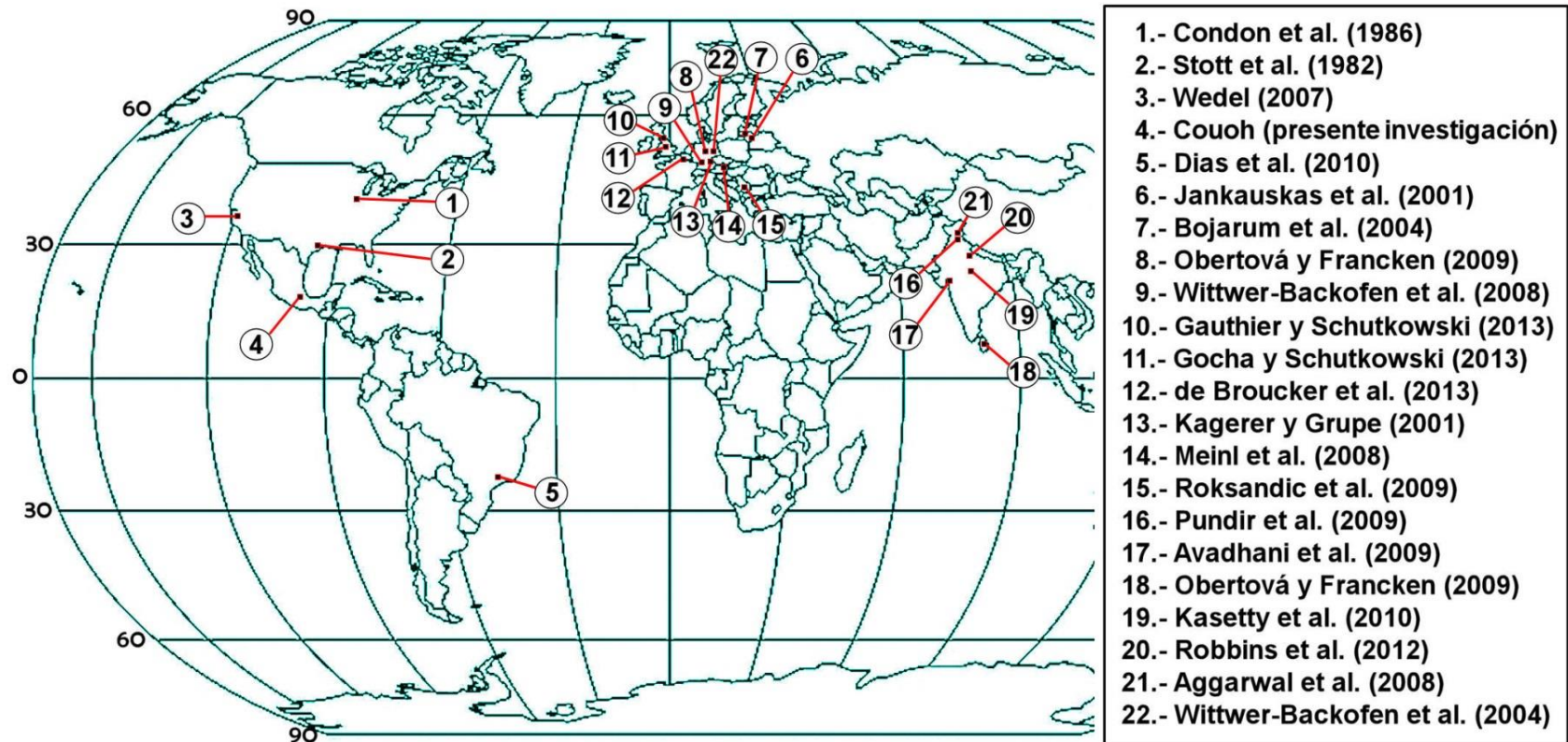


Figura 3.14. Localización, de acuerdo a su latitud, de diferentes poblaciones humanas en las que se han analizado las líneas incrementales de cemento dental

Capítulo 4. Material y Técnicas

4.1. Las muestras

La muestra está conformada por muestras de 87 individuos distribuidos en tres poblaciones: contemporánea con edad cronológica conocida, contemporánea sin edad cronológica conocida y prehispánica. De esta forma, 28 individuos pertenecen a tres diferentes sitios arqueológicos y 59 pertenecen a la colección osteológica contemporánea mexicana San Nicolás Tolentino. De estos últimos sólo 33 individuos cuentan con el registro de su edad cronológica, la cual se encuentra en un intervalo de 20 a 94 años. Asimismo, 22 son del sexo masculino y 11 del femenino (Tabla 4.1). Además, de 22 de estos individuos se tiene conocimiento de su causa de muerte (Tabla 4.4).

En cuanto a los 26 individuos restantes de esta misma colección, es decir, sin edad cronológica conocida, 11 son del sexo masculino y 15 del femenino (Tabla 4.2).

La colección San Nicolás Tolentino está resguardada en la Dirección de Antropología Física del INAH, en las instalaciones del Museo Nacional de Antropología, en la Ciudad de México. Los individuos que la conforman vivieron a mediados de los siglos XIX y XX, además la mayoría feneció durante la última parte del siglo pasado (Talavera et al., 2006). Los individuos provienen de tres panteones de la Ciudad de México: San Nicolás Tolentino (SNT), 20 de Noviembre (NOV) y Dolores (DOL), localizados en las delegaciones Iztapalapa, Tlalpan y Miguel Hidalgo, respectivamente. Además, la sección Anexo de esta colección (SNT-ANX) proviene del Pueblo de Los Reyes, Coyoacán.

Con respecto a los individuos de la población prehispánica, 13 provienen del sitio arqueológico de Tlatelolco (D.S.A./INAH, S.R.E. 1992), ubicado en el Posclásico Tardío (1337-1521 d.C.). Además, 13 individuos proceden del sitio arqueológico del Formativo Tardío y Terminal (600 a.C. – 100 d.C.) de La Laguna, en el municipio de Apizaco, Tlaxcala, y dos individuos provienen del Templo XVIII-A en Palenque, Chiapas, ubicado en el Clásico Temprano (250-420 cal d.C.). Del conjunto de individuos prehispánicos 19 pertenecen al sexo masculinos y 9 al femenino (Tabla 4.3).

A cada uno de los individuos se le extrajo una pieza dental de su alvéolo, la primera opción fueron los dientes unirradiculares y la segunda los multirradiculares. Cada muestra fue colocada en un contenedor pequeño de plástico con su respectiva rotulación: LICD- y su número asignado. Para la identificación de cada diente se utilizó el sistema FDI (*Fédération Dentaire Internationale*) o dígito dos³⁰ (Figura 4.1 y Tablas 4.1-4.3).

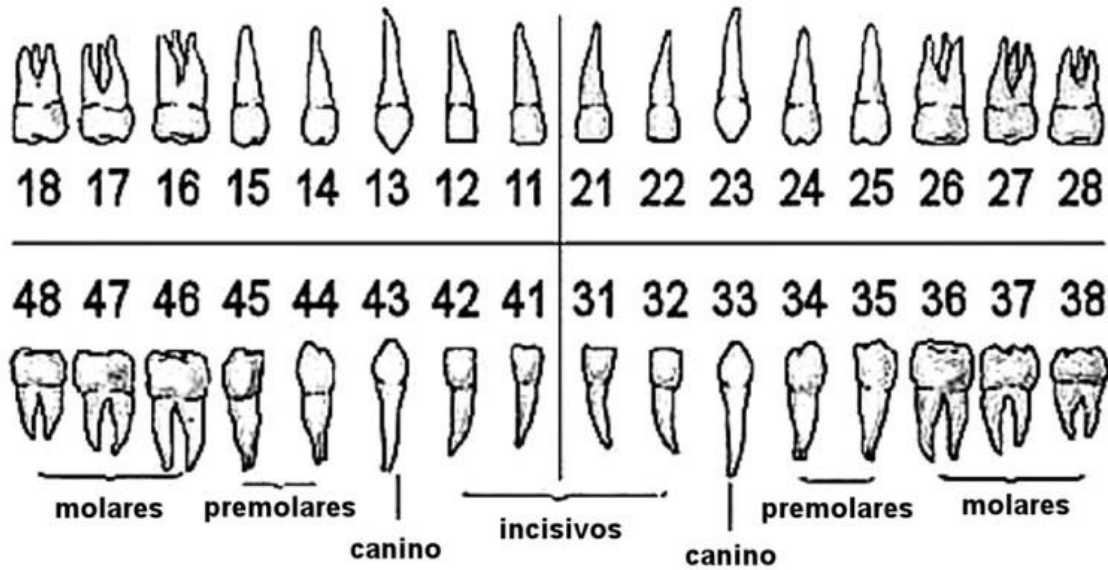


Figura 4.1. Sistema de identificación FDI o dígito dos.

La muestra incluye dientes sanos y con alguna lesión patológica radicular (Tablas 4.1-4.3). Sin embargo, en este último caso se buscó que la superficie de la raíz, en su porción del tercio medio (donde está el cemento acelular), tuviera por lo menos un área sin afectación alguna.

³⁰ El sistema FDI consiste en que el primer dígito corresponde al cuadrante de la arcada dental, por ejemplo el 1 es superior derecho y el 4 es inferior derecho. El segundo dígito hace referencia a las piezas que comprenden la hemiarcada partiendo de la línea media (incisivo central=1, incisivo lateral=2, canino=3, primer premolar=4, segundo premolar=5, primer molar=6, segundo molar=7, tercer molar=8).

**Tabla 4.1. Lista de muestras de la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida. E.P.= Destrucción de la raíz por enfermedad periodontal, Ab=Destrucción de la raíz por absceso, 1=Leve, 2=Moderada, 3=Grave, Hc=Hiper cementosis Apical.
(La nomenclatura de la pieza dental está en el sistema FDI)**

N° de muestra	Procedencia	N° de individuo	Sexo	Edad Cronológica	Pieza Dental	Lesiones patológicas radiculares
LICD-12	SNT	38	M	26	43	No
LICD-14	SNT	44	M	28	33	No
LICD-3	SNT	3	F	23	45	No
LICD-64	SNT-ANX	1	F	28	45	No
LICD-26	SNT	60	M	30	23	No
LICD-25	SNT	59	M	32	44	No
LICD-69	SNT-ANX	10	M	39	32	E.P.1
LICD-74	SNT-ANX	22	F	32	14	No
LICD-71	SNT-ANX	13	F	37	11	No
LICD-13	SNT	43	M	42	34	No
LICD-16	SNT	46	M	42	33	No
LICD-18	SNT	49	M	43	43	No
LICD-75	SNT-ANX	23	M	45	13	E.P.1
LICD-24	SNT	56	M	47	43	E.P.1
LICD-11	SNT	34	M	52	33	No
LICD-20	SNT	51	M	52	43	Ab.3
LICD-22	SNT	53	M	53	13	No
LICD-66	SNT-ANX	3	M	57	43	No
LICD-27	SNT	63	F	55	33	No
LICD-6	SNT	7	F	58	33	No
LICD-2	SNT	2	M	62	42	No
LICD-21	SNT	52	M	62	12	E.P.2
LICD-70	SNT-ANX	11	F	66	13	E.P.1
LICD-73	SNT-ANX	21	M	70	26	Hc, E.P.2
LICD-1	SNT	1	M	76	17	E.P.1
LICD-4	SNT	4	F	70	45	E.P.2
LICD-7	SNT	30	M	79	33	E.P.1
LICD-15	SNT	45	M	85	34	E.P.2
LICD-9	SNT	31	M	82	47	Hc, E.P.2
LICD-19	SNT	50	F	84	33	E.P.1
LICD-5	SNT	6	F	92	44	E.P.2
LICD-68	SNT-ANX	9	F	94	13	E.P.3
Total = 33 individuos Masculinos = 22 Femeninos = 11						

Tabla 4.2. Lista de muestras de la Población Contemporánea Sin Edad Cronológica Conocida. E.P.= Destrucción de la raíz por enfermedad periodontal, Ab=Destrucción de la raíz por absceso, 1=Leve, 2=Moderada, 3=Grave, Hc=Hiper cementosis Apical. (La nomenclatura de la pieza dental está en el sistema FDI)

N° de muestra	Procedencia	N° de individuo	Sexo	Pieza Dental	Lesiones patológicas radiculares
LICD-10	SNT	32	F	33	No
LICD-23	SNT	54	M	25	No
LICD-32	DOL	1	F	43	No
LICD-33	DOL	3	F	15	No
LICD-34	DOL	4	F	23	No
LICD-35	DOL	5	F	17	No
LICD-36	DOL	6	M	13	No
LICD-39	DOL	9	F	25	No
LICD-40	DOL	12	M	44	E.P.1
LICD-41	DOL	13	F	24	No
LICD-42	DOL	14	M	23	No
LICD-43	DOL	16	M	13	No
LICD-44	DOL	18	F	34	No
LICD-46	DOL	21	F	13	E.P.1
LICD-47	DOL	22	F	33	No
LICD-48	DOL	23	M	35	No
LICD-49	DOL	24	M	12	No
LICD-50	DOL	25-A	F	44	Hc, E.P.2
LICD-51	DOL	25-B	F	25	No
LICD-53	DOL	27	F	34	E.P.1
LICD-55	DOL	30	F	43	E.P.1
LICD-58	DOL	33	F	33	E.P.1
LICD-59	DOL	34	M	22	No
LICD-60	DOL	35	M	32	Ab.3
LICD-61	NOV	1	M	44	E.P.2
LICD-62	NOV	2	M	43	E.P.2
Total = 26 individuos Masculinos = 11 Femeninos = 15					

Tabla 4.3. Lista de muestras de la Población Prehispánica.

E.P.= Destrucción de la raíz por enfermedad periodontal, 1=Leve, 2=Moderada, 3=Grave.

(La nomenclatura de la pieza dental está en el sistema FDI)

N° de muestra	Procedencia	N° de individuo	Sexo	Pieza Dental	Lesiones patológicas radiculares
LICD-76	Tlatelolco	(Caja 44) P32/1	M	32	No
LICD-77	Tlatelolco	(Caja 45) P32/3	F	33	No
LICD-78	Tlatelolco	(Caja 46) P32/4	F	46	No
LICD-79	Tlatelolco	(Caja 47) P32/5	M	16	No
LICD-81	Tlatelolco	(Caja 1) P41/1	M	23	No
LICD-84	Tlatelolco	(Caja 5) P41/5	M	34	No
LICD-85	Tlatelolco	(Caja 9) P41/6	F	23	No
LICD-86	Tlatelolco	(Caja 16) P41/9	M	24	No
LICD-88	Tlatelolco	(Caja 11) P41/11	M	24	No
LICD-89	Tlatelolco	(Caja 16) P41/12-I1	F	35	No
LICD-91	Tlatelolco	(Caja 21) P41/13-I2	M	24	No
LICD-92	Tlatelolco	(Caja 14) P41/15-I1	M	45	No
LICD-93	Tlatelolco	(Caja 12) P41/15-I2	M	44	No
LICD-111	La Laguna	H149	M	45	No
LICD-112	La Laguna	I-129	M	43	E.P.2
LICD-113	La Laguna	B6/63	F	23	E.P.2
LICD-117	La Laguna	F46-2	M	34	E.P.2
LICD-120	La Laguna	El. 196	F	22	E.P.3
LICD-121	La Laguna	El. 190	F	35	E.P.1
LICD-123	La Laguna	H-142	F	43	No
LICD-114	La Laguna	El.163/10	M	15	No
LICD-115	La Laguna	F83	M	27	E.P.2
LICD-116	La Laguna	F46-1	M	15	No
LICD-118	La Laguna	F46-3	M	44	E.P.2
LICD-119	La Laguna	F46-4	M	25	No
LICD-122	La Laguna	F43	M	35	No
LICD-125	Palenque	PAL 45-5	F	33	No
LICD-124	Palenque	PAL 44-4	M	44	No
Total = 28 individuos Masculinos = 19 Femeninos = 9					

Tabla 4.4. Causas de muerte en algunos de los individuos de la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida (Talavera et al., 2006).

N° de muestra	Causas de muerte
LICD-12	Choque hipovolémico, cirrosis hepática [alcohol-nutricional], insuficiencia hepática y desnutrición severa.
LICD-14	Insuficiencia respiratoria aguda y neumonía basal-bilateral.
LICD-3	Choque séptico, colangitis y sangrado de tubo digestivo alto.
LICD-26	Insuficiencia renal aguda y síndrome nefrótico.
LICD-25	Acidosis metabólica, insuficiencia hepática, encefalopatía hepática y alcoholismo crónico.
LICD-13	Tuberculosis meníngea, SIDA y síndrome de Weber.
LICD-16	Choque hipovolémico, hemorragia de tubo digestivo alto, cirrosis hepática [alcohol-nutricional].
LICD-18	Choque hipovolémico grado IV, hemorragia de tubo digestivo alto, encefalopatía hepática grado IV.
LICD-24	Choque hipovolémico, sangrado de tubo digestivo bajo, encefalopatía hepática grado II y síndrome anémico.
LICD-11	Edema agudo pulmonar. Individuo con cirrosis hepática.
LICD-20	Encefalopatía hepática, sangrado de tubo digestivo alto y cirrosis hepática [alcohol].
LICD-22	Cirrosis hepática [alcoholo-nutricional] e hipertensión arterial sistémica.
LICD-27	Encefalopatía hepática crónica, insuficiencia hepática. Individuo con alcoholismo crónico.
LICD-6	Insuficiencia cardíaca, adenocarcinoma de hígado y anemia macrocítica.
LICD-2	Probable infarto al miocardio, hidrocefalia derivada de cisticercosis y cirrosis hepática.
LICD-1	Choque hipovolémico, sangrado de tubo digestivo alto y bajo y carcinoma vascular.
LICD-4	Edema agudo pulmonar, insuficiencia congestiva cardíaca e insuficiencia renal crónica.
LICD-7	Choque séptico, neumonía de focos múltiples, escaras de cúbito múltiples y accidente vascular cerebral y accidente vascular cerebral.
LICD-15	Desnutrición de III grado, cirrosis hepática [alcohol-nutricional], hipertensión arterial esencial.
LICD-9	Pleuro-bronconeumonía y enfermedad orgánica del corazón. Individuo con carcinomatosis generalizada.
LICD-19	Infarto agudo al miocardio, insuficiencia global cardíaca e hipertensión arterial sistémica.
LICD-5	Insuficiencia respiratoria aguda, bronconeumonía aguda bilateral e insuficiencia renal crónica.

4.2. La técnica para analizar las LICD

Uno de los problemas que se ha visto en el empleo de las LICD en humanos, a lo largo de las últimas tres décadas ha sido la falta de estandarización de la técnica utilizada. Es decir, que no todas las investigaciones usan los mismos parámetros, porque difieren en cuanto a la pieza dental a utilizar, si el corte es transversal o longitudinal, si se desmineraliza o no la raíz, si el corte se tiñe o no, el número de secciones que se deben analizar por diente, el ángulo que debe llevar el corte, la región de la raíz a estudiar (tercio medio o tercio superior), si se debe usar el número promedio, la mediana o el número máximo de líneas contadas, etc. (Lippitsch y Grupe, 2007). Por fortuna, ha habido recientes esfuerzos, por parte de grupos científicos, por estandarizar el método de las LICD (Cementochronology Research Program, 2013; Wittwer-Backofen, 2012).

Sin duda el protocolo que establece los principales aspectos a considerar, de forma detallada, para el análisis de las LICD es el de Wittwer-Backofen (2012). En este indica que todos los dientes pueden ser sujetos a dicho análisis, con excepción de los terceros molares debido a la variabilidad de su formación³¹, aunque es preferible utilizar dientes unirradiculares (como incisivos, caninos y premolares) sin patología aparente. Además, en casos forenses se deben analizar por lo menos dos piezas dentales por individuo para validar los resultados. Por otro lado, debido a que la técnica en cuestión es destructiva, debe realizarse un registro métrico y fotográfico minucioso antes de realizar el corte. También, aunque el uso de dientes descalcificados ha sido descrito por varios autores (Charles et al., 1986; Kvaal y Solheim, 1995), hoy en día predomina y se recomienda no descalcificarlos. Los cortes deben ser transversales en el tercio medio de la raíz y lo ideal es utilizar un micrótopo con cuchilla de diamante, ya que con este instrumento se pueden cortar de 10 a 12 secciones y el pulido de la muestra no es necesario. En cuanto al teñido de la muestra, Wittwer-Backofen indica que sólo es necesario en secciones muy delgadas donde el contraste no es suficiente. Las líneas se pueden ver bajo la luz del microscopio en aumentos desde 100x hasta 400x y se debe buscar el área que tenga la mejor calidad para capturar su imagen digital y así realizar el conteo de manera directa. Por último, al número de líneas contadas se le suma la edad de erupción de la pieza dental que se utilizó.

En esta investigación, en general, se consideraron estas recomendaciones, sin embargo al no contar con toda la infraestructura requerida —el micrótopo con cuchilla de diamante— se tuvo que proceder a hacer los cortes de forma manual y a pulir las muestras. A continuación se describe el proceso que se siguió en este trabajo.

³¹ A pesar de esta consideración en un trabajo reciente (Robbins et al., 2012) se ha hecho caso omiso a este punto y no se especifica la variabilidad de formación de los terceros molares empleados.

4.2.1 Procedimiento

Se realizó un registro fotográfico para cada una de las piezas dentales, como se muestra en la figura 4.2.

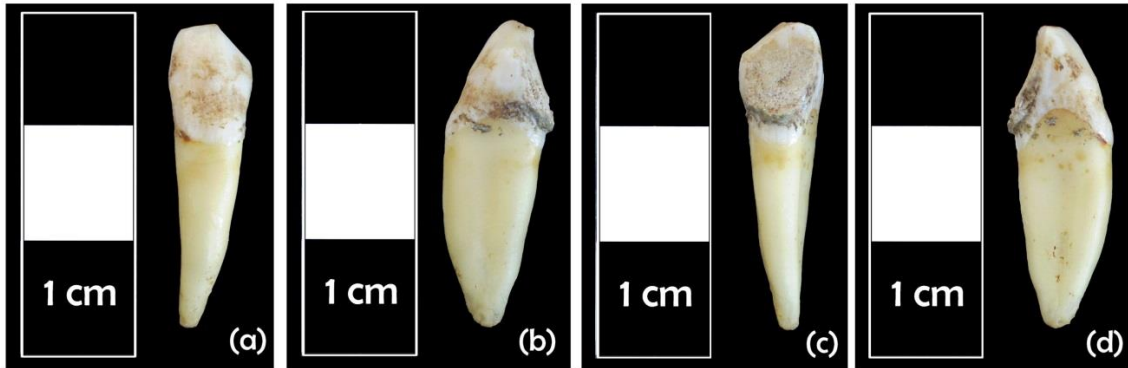


Figura 4.2. Ejemplo del registro fotográfico. Muestra LICD-14, la cual corresponde a un canino inferior izquierdo. Las tomas se realizaron en vista (a) vestibular, (b) mesial, (c) lingual y (d) distal.

Sobre la raíz se delineó con un lápiz el corte transversal en el tercio medio —que corresponde al cemento acelular (CAFE)— de 2 mm aproximadamente (Figura 4.3) y se tomó en consideración la recomendación de Maat et al. (2006). La cual consiste en que el ángulo del corte debe ser perpendicular al exterior de la raíz y no a su eje longitudinal (Figura 4.4).

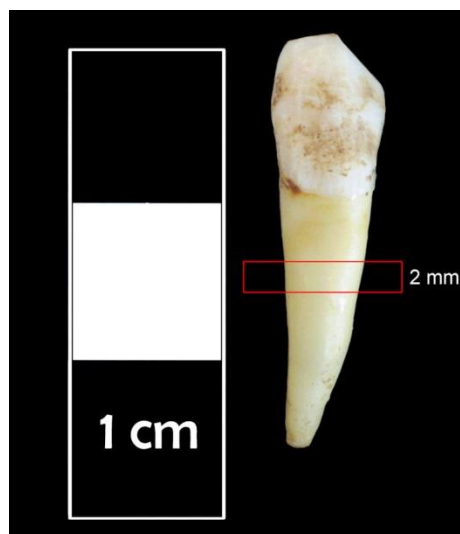


Figura 4.3. Sección de 2 mm del corte transversal de la raíz en su tercio medio.

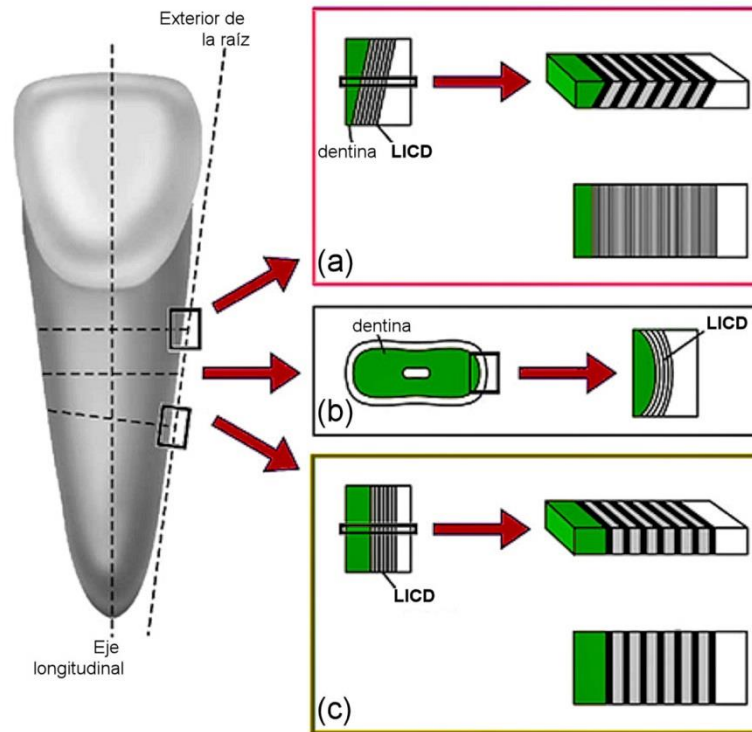


Figura 4.4. Se explica la diferencia de los cortes transversales: (a) Al realizar el corte perpendicular al eje longitudinal del diente hay problemas en la visibilidad de las LICD. (b) Corte transversal de la raíz donde se señalan las LICD. (c) Si el corte se realiza perpendicular al exterior de la raíz se producirá un mejor contraste entre las líneas oscuras y translúcidas de las LICD. (Tomada y modificado de Maat et al., 2006).

El corte se llevó a cabo con una herramienta rotativa Dremel® con un disco flexible de diamante de dos luces New Technology Instruments®. Durante el corte se vertió agua sobre el disco y el diente para facilitar el proceso.

Una vez obtenidos varios cortes transversales de diferentes raíces se colocaron dentro de un molde circular (4 cm de diámetro), previamente engrasado con vaselina para facilitar el desmolde (Figura 4.5a). Luego se agregó la resina acrílica Nic Tone® en forma de polvo y con un gotero se dispuso el líquido autocurable (Figuras 4.5b y c). Después de 30 min aproximadamente la resina solidificó y se dio paso a su desmolde (Figura 4.5d). Este proceso se realizó para facilitar la fase de pulido.

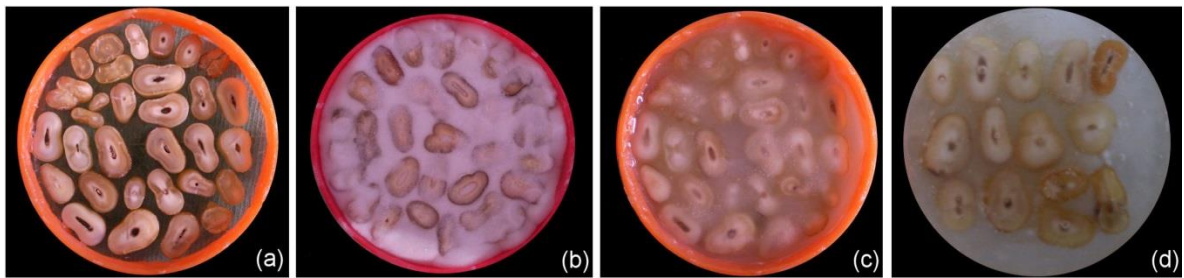


Figura 4.5. Proceso de preparación de las muestras inmersas en la resina autocurable. (a) Muestras de varias raíces dispuestas dentro del molde. (b) Inmersión de las muestras en la resina en polvo. (c) Al agregar el líquido autocurable se homogeneizó la resina. (d) Grupo de muestras en el bloque de resina solidificada. Las fotos corresponden a diferentes grupos de muestras.

Para el pulido se utilizó la pulidora del Laboratorio de Cristalofísica y Materiales Naturales del Instituto de Física de la UNAM (IFUNAM) (Figura 4.6). Las lijas que se utilizaron, de forma progresiva, fueron de diferentes granos: 300, 400, 600, 800, 1200, 2000, 3000 y 4000, así como un paño para pulido fino. Las lijas de grano 300 al 2000 fueron Fandeli® y el resto, incluyendo el paño, fueron Buehler®. Para desbastar, hasta antes de utilizar el paño de pulido fino, se utilizó pasta de diamante MetaDi® de ¼ de micra y agua destilada.



Figura 4.6. Pulidora del Laboratorio de Cristalofísica y Materiales Naturales del IFUNAM.

Una vez que el disco de resina estuvo lo suficientemente delgado (1mm aproximadamente), se desmoldaron todas las muestras y se procedió a su pulido individual con el paño, agua destilada y alúmina en polvo Buehler® de 0.05 µm, que es específica para micropulido. Esta tarea prosiguió hasta que se vislumbraron las líneas de cemento bajo la luz del microscopio óptico.

Las láminas de las raíces que se obtuvieron alcanzaron un grosor de 4-7µm.

Se utilizó un microscopio de luz transmitida de campo claro Axiovert 25 Zeiss® en el Laboratorio de Física de Nuevos Materiales del Departamento de Materia Condensada en el IFUNAM. Para las observaciones de las LICD se utilizó un aumento de 200x.

Las imágenes de cada una de las muestras se obtuvieron por medio de una cámara réflex digital Canon® EOS 50D de 16 megapíxeles, adaptada al microscopio.

El conteo de cada par de líneas incrementales —una oscura y una translúcida— se hizo con el software Corel Paint Shop Pro Photo X2®. Este permitió mejorar la imagen (brillo/contraste) y facilitó la marcación de cada par de líneas para su conteo.

A la cantidad de LICD de cada muestra se le sumó la edad promedio de brote de la pieza dental correspondiente. La referencia, para la edad de brote dental en población mexicana, que se utilizó fue el trabajo de Romo et al. (2002) (Tabla 4.5).

A cada individuo se le estimó su edad biológica de acuerdo a los cambios morfológicos que se pueden observar en los huesos de la pelvis. Para ello se siguieron los parámetros establecidos por Brooks y Suchey (1990) y Berg³² (2008), para el método de sínfisis púbica, así como los de Buckberry y Chamberlain (2002) para el de superficie auricular.

Sin embargo, en los casos en que por alguna razón no se pudieron evaluar los marcadores arriba mencionados, se recurrió a la estimación de la edad biológica por el indicador morfológico disponible.

³² Para individuos femeninos Berg (2008) añade al método de Suchey y Brooks (1990) las fases VI (64.2 edad promedio) y VII (74.2 edad promedio).

Tabla 4.5. Referencia de la edad del brote dental en una población mexicana. Este estudio consistió en una muestra de 582 niños procedentes del Municipio de Nezahualcóyotl en el Estado de México. Tomado y modificado de Romo et al. (2002). (Se utiliza la nomenclatura FDI)

Edad de brote dental (años)								
Diente	Femenino				Masculino			
	Límite inferior	Límite superior	Promedio	Desviación estándar	Límite inferior	Límite superior	Promedio	Desviación estándar
11/21	6.08	8.03	7.05	0.97	6.25	8.5	7.37	1.12
12/22	7.16	10.25	8.70	1.54	7.16	10.66	8.91	1.74
13/23	9.25	12.5	10.87	1.62	9.83	12.25	11.04	1.20
14/24	8.58	12.16	10.37	1.79	9.08	12	10.54	1.45
15/25	9.33	12.33	10.83	1.5	10.08	12.5	11.29	1.20
16/26	6.08	8	7.04	0.95	6.25	8.08	7.16	0.91
17/27	10.33	12.66	11.49	1.16	10.16	12.58	11.37	1.20
41/31	6.25	6.91	6.58	0.33	6.33	7.16	6.74	0.41
42/32	6.08	8.5	7.29	1.20	6.25	8.5	7.37	1.12
43/33	7.83	11.75	9.79	1.95	9.08	11.83	10.45	1.37
44/34	7.83	11.33	9.58	1.74	9.16	11.75	10.45	1.29
45/35	9.83	12.33	11.08	1.24	9.66	12.5	11.08	1.42
46/36	6.08	8	7.04	0.95	6.33	7.91	7.12	0.79
47/37	10.16	12.58	11.37	1.20	10.25	12.5	11.37	1.12

4.3 Estimación de la edad por medio de indicadores morfológicos

A cada individuo se le estimó su edad biológica de acuerdo a los cambios morfológicos que se pueden observar en los huesos de la pelvis. Para ello se siguieron los parámetros establecidos por Brooks y Suchey (1990) y Berg (2008), para el método de sínfisis púbica, así como los de Buckberry y Chamberlain (2002) para el de superficie auricular.

Sin embargo, en los casos en que por alguna razón no se pudieron evaluar los marcadores arriba mencionados, se recurrió a la estimación de la edad biológica por el indicador morfológico disponible.

4.4 Análisis estadístico

Para este análisis se emplearon cuatro categorías de edad, que de acuerdo con la propuesta de Roksandic y Armstrong (2011) se presentan como siguen: adulto joven (20-30 años), adulto completo (31-45 años), adulto maduro (46-60 años) y adulto avanzado (>60 años).

Debido a que la muestra no tiene una distribución normal y no cumple con el principio de homocedasticidad o igualdad de varianzas, las pruebas estadísticas que se utilizaron fueron de tipo no paramétricas o de libre distribución:

Correlación de rangos de Spearman (ρ), para analizar si hay una asociación estadísticamente significativa entre la edad cronológica (EC) y los métodos de estimación de edad, así como entre los métodos mismos.

Prueba de Wilcoxon, para analizar si las diferencias entre EC y los métodos de estimación de edad son estadísticamente significativas. De igual manera se aplicó esta prueba se aplicó entre los métodos mismos.

Prueba de U Mann-Whitney, para ver si la diferencia entre EC y los métodos de estimación de edad, entre individuos masculinos y femeninos, es estadísticamente significativa. De igual manera se aplicó esta prueba se aplicó entre los métodos mismos.

Prueba de Kruskal-Wallis, para ver si las diferencias entre EC y los métodos de estimación de edad con respecto a su categoría de edad son estadísticamente significativas. De igual manera se aplicó esta prueba se aplicó entre los métodos mismos.

Todas las diferencias fueron consideradas significativas al nivel $P \leq 0.05$.

Además, se hizo un análisis de estadística descriptiva para analizar las diferencias entre EC y los métodos de estimación de edad por categoría de edad. Esto se llevó a cabo de igual forma entre los métodos mismos Para todo el análisis estadístico se utilizó el software IBM SPSS® versión 21.

Capítulo 5. Resultados y Discusión

5.1 Resultados

5.1.1 Población contemporánea con edad cronológica (EC) conocida

5.1.1.1 Estimación de la EC por LICD (eLICD)

En las 33 muestras analizadas se pudo hacer el conteo de las LICD³³, por lo cual la estimación de la edad biológica se realizó de manera satisfactoria (Tabla 1 y Figura 1). Al comparar la EC de cada individuo con la eLICD se encontró una correlación positiva muy buena entre ambas edades ($\rho = .992$, $P < 0.01$). Esto quiere decir que entre EC y eLICD hay una asociación estadísticamente significativa (Tabla 13 y Figura 5).

Por otro lado, la diferencia que existe entre EC y eLICD presentó una media de 1.95 ± 1.32 años (diferencia mínima de 0.37 y máxima de 5.21 años) y no resultó estadísticamente significativa ($P > 0.05$). Además, dicha diferencia se distribuyó de manera similar entre las cuatro categorías de edad ($P > 0.05$) (Figura 14 y 15). Por otro lado, entre los individuos masculinos y femeninos no se observó diferencia alguna ($P > 0.05$) (Tabla 13).

Con respecto al conteo de las LICD en los 15 casos de dientes que presentaron lesiones por alguna patología oral (enfermedad periodontal en su mayoría) (Tabla 4.1) no se observó una diferencia estadísticamente significativa al compararse con los dientes sanos ($P > 0.05$).

³³ Ver las imágenes en el Anexo.

5.1.1.2 Estimación de la EB por Superficie Auricular (eSA)

La evaluación de los cambios morfológicos en la SA se pudo realizar sólo en 30 individuos (Tabla 2). De estos últimos 24 presentaron cambios simétricos en las superficies auriculares izquierdas y derechas, y en seis casos sólo se pudo evaluar un lado. La muestra LICD-12 fue la única que presentó cambios asimétricos (Figura 5.24), en el lado derecho se observó una morfología atípica, presumiblemente patológica, y en el izquierdo una típica. Esta última se utilizó para la estimación de edad.

Al comparar los resultados de la eSA con la EC de cada individuo se encontró una correlación positiva estadísticamente significativa ($\rho=.069$, $P<0.01$) (Figuras 2 y 5, Tabla 13). Sin embargo, la diferencia entre eSA y EC sí resultó estadísticamente significativa ($P<0.05$) y presentó una media de 5.92 ± 5.37 años (diferencia mínima de 0.59 y máxima de 21.75 años). Dicha diferencia se distribuyó de forma similar en las cuatro categorías de edad ($P>0.05$) (Figuras 14 y 15), así como en individuos masculinos y femeninos ($P>0.05$).

5.1.1.3 Estimación de la EB por Sínfisis Púbrica (eSP)

La evaluación de los cambios morfológicos en las SP sólo se pudo llevar a cabo en 22 individuos (Tabla 3 y Figura 3). De estos últimos 16 mostraron cambios simétricos en el lado derecho e izquierdo, y seis casos sólo conservaron la sínfisis de un lado. En los restantes 11 individuos no se pudo calificar este marcador por su falta de conservación.

La correlación entre la EC y eSP resultó positiva y estadísticamente significativa ($\rho=.969$, $P<0.01$) (Figura 5), como también lo fue la diferencia entre ambas ($P<0.05$). En cada una de las categorías de edad se encontró que la distribución de la diferencia entre EC y eSP fue estadísticamente significativa ($P<0.05$). Dicha diferencia presentó una media de 6.88 ± 6.86 años (diferencia mínima de 0.60 y máxima de 23.80 años) (Tabla 13, Figuras 14 y 15). Entre los individuos masculinos y femeninos la diferencia entre EC y eSP no fue estadísticamente significativa ($P>0.05$).

5.1.1.4 Comparación de las técnicas LICD, SA y SP con la EC

En la Tabla 4 y Figura 4 se pueden apreciar los resultados de las estimaciones de edad por las tres técnicas en este trabajo, LICD, SA y SP, así como la EC de cada individuo. Aunque los tres métodos presentan una correlación de Spearman positiva y muy buena con la EC, sólo la eLICD presentó una diferencia no significativa en términos estadísticos (Tabla 13). Sin embargo, las diferencias entre la EC y la eSA y eSP se acentuaron más en la categoría de edad de Adulto Avanzado (Figuras 14 y 15).

Por otro lado, como los resultados demostraron que de los tres métodos la eLICD es la más cercana a la EC se compararon las diferencias entre la eLICD con la eSA y eSP y se observó un comportamiento estadístico similar al que presenta la EC con relación a las eSA y eSP (Tabla 13 y Figuras 16 y 17).

De esta manera, en las otras dos poblaciones sin EC conocida, que se consideran en este estudio, la eLICD fungió como la referencia más próxima a la EC.

En cuanto a la comparación entre la eSA y eSP se encontró una buena correlación entre ambas y una media de 4.60 ± 4.31 años (diferencia mínima de 0.10 y máxima de 17.38), así como no hubo diferencia estadísticamente significativa entre ambos métodos (Tabla 13).

En la muestra LICD-21 no se pudo realizar la estimación de la edad biológica por SP por su falta de conservación ni por SA debido a que presentó fusión sacro-iliaca bilateral completa. Sin embargo, debido a esto último se le estimó una edad de >60 años. Para fines gráficos se consideró dentro de la categoría de estimación de la edad biológica por Otros Indicadores Morfológicos (eOIM) y no se incluyó en el análisis estadístico.

Tabla 5.1. Resultados de la eLICD en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida.

N° de muestra	Edad Cronológica	Pieza Dental	Edad promedio de brote dental	N° de LICD	eLICD
LICD-65	20	13	11.04	11	22.04
LICD-3	23	45	11.08	11	22.08
LICD-12	26	43	10.45	16	26.45
LICD-14	28	33	10.45	17	27.45
LICD-64	28	45	11.08	14	25.08
LICD-26	30	23	11.04	20	31.04
LICD-25	32	44	10.45	24	34.45
LICD-74	32	14	10.37	23	33.37
LICD-71	37	11	7.05	32	39.05
LICD-69	39	32	7.37	30	37.37
LICD-13	42	34	10.45	30	40.45
LICD-16	42	33	10.45	33	43.45
LICD-18	43	43	10.45	32	42.45
LICD-75	45	13	11.04	35	46.04
LICD-24	47	43	10.45	34	44.45
LICD-11	52	33	10.45	45	55.45
LICD-20	52	43	10.45	44	54.45
LICD-22	53	13	11.04	43	54.04
LICD-27	55	33	9.79	42	51.79
LICD-66	57	43	10.45	47	57.45
LICD-6	58	33	9.79	50	59.79
LICD-2	62	42	7.37	55	62.37
LICD-21	62	12	8.91	50	58.91
LICD-70	66	13	10.87	51	61.87
LICD-73	70	26	7.16	64	71.16
LICD-4	70	45	11.08	60	71.08
LICD-1	76	17	11.37	64	75.37
LICD-7	79	33	10.45	64	74.45
LICD-9	82	47	11.37	72	83.08
LICD-19	84	33	9.79	69	78.79
LICD-15	85	34	10.45	70	80.45
LICD-5	92	44	9.58	80	89.58
LICD-68	94	13	10.87	82	92.87

Tabla 5.2. Resultados de la eSA en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida. Valoración de acuerdo con los parámetros de Buckberry y Chamberlain (2002). L= lado, d= derecho, i= izquierdo, OT= organización transversal, TS= textura de la superficie, Mi= microporosidad, Ma= macroporosidad, CA= cambios en el ápice. Los valores nulos indican la ausencia del marcador morfológico.

N° de muestra	L	OT	TS	Mi	Ma	CA	Puntuación	Estadio	Edad promedio	Intervalo de confianza del 95%
LICD-65	d	4	1	1	1	1	8	II	29.33	21-38
	i	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LICD-12	d	Morfología atípica					-	-	-	-
	i	3	1	1	1	1	7	II	29.33	21-38
LICD-14	d	3	1	1	1	1	7	II	29.33	21-38
	i	3	1	1	1	1	7	II	29.33	21-38
LICD-3	d	4	1	1	1	1	8	II	29.33	21-38
	i	4	1	1	1	1	8	II	29.33	21-38
LICD-64	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	i	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LICD-26	d	4	1	1	1	1	8	II	29.33	21-38
	i	4	1	1	1	1	8	II	29.33	21-38
LICD-25	d	4	1	1	1	1	8	II	29.33	21-38
	i	4	1	1	1	1	8	II	29.33	21-38
LICD-69	d	4	3	1	1	1	10	III	37.86	16-65
	i	4	3	1	1	1	10	III	37.86	16-65
LICD-74	d	3	1	1	1	1	7	II	29.33	21-38
	i	3	1	1	1	1	7	II	29.33	21-38
LICD-71	d	3	3	1	1	1	9	III	37.86	16-65
	i	3	3	1	1	1	9	III	37.86	16-65
LICD-13	d	4	2	1	1	1	9	III	37.86	16-65
	i	4	2	1	1	1	9	III	37.86	16-65
LICD-16	d	4	3	1	1	1	10	III	37.86	16-65
	i	4	3	1	1	1	10	III	37.86	16-65
LICD-18	d	3	3	2	1	1	10	III	37.86	16-65
	i	3	3	2	1	1	10	III	37.86	16-65
LICD-75	d	4	3	1	1	1	10	III	37.86	16-65
	i	4	3	1	1	1	10	III	37.86	16-65
LICD-24	d	5	2	1	1	1	10	III	37.86	16-65
	i	5	2	1	1	1	10	III	37.86	16-65
LICD-11	d	5	3	2	1	1	12	IV	51.41	29-81
	i	5	3	2	1	1	12	IV	51.41	29-81
LICD-20	d	5	3	1	2	1	12	IV	51.41	29-81
	i	3	3	2	2	1	11	IV	51.41	29-81

Tabla 5.2. Continúa...

N° de muestra	L	OT	TS	Mi	Ma	CA	Puntuación	Estadio	Edad promedio	Intervalo de confianza del 95%
LICD-22	d	4	3	2	1	1	11	IV	51.41	29-81
	i	4	3	2	1	1	11	IV	51.41	29-81
LICD-66	d	5	3	1	2	1	12	IV	51.41	29-81
	i	5	3	1	1	1	11	IV	51.41	29-81
LICD-27	d	5	3	2	1	2	13	V	59.94	29-88
	i	5	3	2	1	2	13	V	59.94	29-88
LICD-6	d	5	3	1	2	1	12	IV	51.41	29-81
	i	4	3	2	2	1	12	IV	51.41	29-81
LICD-2	d	5	3	1	1	1	11	IV	51.41	29-81
	i	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LICD-70	d	5	4	2	2	2	15	VI	66.71	39-91
	i	5	5	2	2	1	15	VI	66.71	39-91
LICD-73	d	Fusión sacro-iliaca					-	-	-	-
	i	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LICD-1	d	Fusión sacro-iliaca					-	-	-	-
	i	5	4	2	3	3	17	VII	72.25	53-92
LICD-4	d	5	4	2	3	3	17	VII	72.25	53-92
	i	Fusión sacro-iliaca					-	-	-	-
LICD-7	d	5	4	3	3	2	17	VII	72.25	53-92
	i	5	4	3	3	2	17	VII	72.25	53-92
LICD-21	d	Fusión sacro-iliaca					-	-	-	-
	i	Fusión sacro-iliaca					-	-	-	-
LICD-15	d	5	5	3	3	2	18	VII	72.25	53-92
	i	5	5	3	3	2	18	VII	72.25	53-92
LICD-9	d	5	3	3	3	3	17	VII	72.25	53-92
	i	5	3	3	3	3	17	VII	72.25	53-92
LICD-19	d	4	5	3	3	3	18	VII	72.25	53-92
	i	5	4	3	3	2	17	VII	72.25	53-92
LICD-5	d	5	5	1	3	3	17	VII	72.25	53-92
	i	5	5	1	3	3	17	VII	72.25	53-92
LICD-68	d	5	5	3	3	3	19	VII	72.25	53-92
	i	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 5.3. Resultados de la eSP en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida. Valoración de acuerdo con los parámetros de Brooks y Suchey (1990) y Berg (2008) para la fase VII en individuos femeninos. Este último no presenta el intervalo de confianza del 95%, sólo la desviación estándar de ± 10.9 años.

N° de muestra	Lado	Fase	Edad promedio	Intervalo de confianza del 95%
LICD-65	d	I	18.5	21-46
	i	-	-	-
LICD-12	d	-	-	-
	i	-	-	-
LICD-14	d	III	28.7	21-46
	i	III	28.7	21-46
LICD-3	d	-	-	-
	i	-	-	-
LICD-64	d	II	25	19-40
	i	II	25	19-40
LICD-26	d	III	28.7	21-46
	i	III	28.7	21-46
LICD-25	d	III	28.7	21-46
	i	III	28.7	21-46
LICD-69	d	IV	35.2	23-57
	i	IV	35.2	23-57
LICD-74	d	III	30.7	21-53
	i	III	30.7	21-53
LICD-71	d	-	-	-
	i	-	-	-
LICD-13	d	V	45.6	27-66
	i	V	45.6	27-66
LICD-16	d	-	-	-
	i	-	-	-
LICD-18	d	IV	35.2	23-57
	i	IV	35.2	23-57
LICD-75	d	V	45.6	27-66
	i	-	-	-
LICD-24	d	-	-	-
	i	-	-	-
LICD-11	d	V	45.6	27-66
	i	V	45.6	27-66
LICD-20	d	V	45.6	27-66
	i	V	45.6	27-66
LICD-22	d	-	-	-
	i	-	-	-

Tabla 5.3. Continúa...

N° de muestra	Lado	Fase	Edad promedio	Intervalo de confianza del 95%
LICD-66	d	-	-	-
	i	-	-	-
LICD-27	d	V	48.1	25-83
	i	V	48.1	25-83
LICD-6	d	VI	60	42-87
	i	VI	60	42-87
LICD-2	d	VI	61.2	34-86
	i	-	-	-
LICD-70	d	-	-	-
	i	-	-	-
LICD-73	d	VI	61.2	34-86
	i	VI	61.2	34-86
LICD-1	d	-	-	-
	i	-	-	-
LICD-4	d	VII	74.2	-
	i	VII	74.2	-
LICD-7	d	VI	61.2	34-86
	i	VI	61.2	34-86
LICD-21	d	-	-	-
	i	-	-	-
LICD-15	d	VII	61.2	34-86
	i	VII	61.2	34-86
LICD-9	d	-	-	-
	i	-	-	-
LICD-19	d	-	-	-
	i	VII	74.2	-
LICD-5	d	VII	74.2	-
	i	-	-	-
LICD-68	d	VII	74.2	-
	i	-	-	-

Tabla 5.4. Resultados de la eLICD, eSA y eSP en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida. (*eOIM).

N° de muestra	Edad Cronológica	eLICD	eSA	eSP
LICD-65	20	22.04	29.33	18.5
LICD-3	23	22.08	29.33	-
LICD-12	26	26.45	29.33	-
LICD-14	28	27.45	29.33	28.7
LICD-64	28	25.08	-	25
LICD-26	30	31.04	29.33	28.7
LICD-25	32	34.45	29.33	28.7
LICD-74	32	33.37	29.33	30.7
LICD-71	37	39.05	37.86	-
LICD-69	39	37.37	37.86	35.2
LICD-13	42	40.45	37.86	45.6
LICD-16	42	43.45	37.86	-
LICD-18	43	42.45	37.86	35.2
LICD-75	45	46.04	37.86	45.6
LICD-24	47	44.45	37.86	-
LICD-11	52	55.45	51.41	45.6
LICD-20	52	54.45	51.41	45.6
LICD-22	53	54.04	51.41	-
LICD-27	55	51.79	59.94	48.1
LICD-66	57	57.45	51.41	-
LICD-6	58	59.79	51.41	60
LICD-2	62	62.37	51.41	61.2
LICD-21	62	58.91	60*	-
LICD-70	66	61.87	66.71	-
LICD-73	70	71.16	-	61.2
LICD-4	70	71.08	72.25	74.2
LICD-1	76	75.37	72.25	-
LICD-7	79	74.45	72.25	61.2
LICD-9	82	83.08	72.25	-
LICD-19	84	78.79	72.25	74.2
LICD-15	85	80.45	72.25	61.20
LICD-5	92	89.58	72.25	74.2
LICD-68	94	92.87	72.25	74.2

Tabla 5.5. Resultados de la eLICD en la Población Contemporánea Sin Edad Cronológica Conocida.

N° de muestra	Pieza Dental	Edad promedio de brote dental	N° de LICD	eLICD
LICD-49	12	8.91	16	24.91
LICD-33	15	10.83	19	29.83
LICD-59	22	8.91	22	30.91
LICD-36	13	11.04	23	34.04
LICD-23	25	11.29	25	36.29
LICD-53	34	9.58	30	39.58
LICD-47	33	9.79	30	39.79
LICD-44	34	9.58	34	43.58
LICD-35	17	11.49	36	47.49
LICD-50	44	9.58	41	50.58
LICD-39	25	10.83	40	50.83
LICD-40	44	10.45	41	51.45
LICD-43	13	11.04	42	53.04
LICD-58	33	9.79	45	54.79
LICD-34	23	10.87	44	54.87
LICD-42	23	11.04	49	60.04
LICD-46	13	10.87	50	60.87
LICD-61	44	10.45	51	61.45
LICD-32	43	9.79	55	64.79
LICD-10	33	9.79	55	64.79
LICD-60	32	7.37	61	68.37
LICD-55	43	9.79	59	68.79
LICD-51	25	10.83	59	69.83
LICD-48	35	11.08	60	71.08
LICD-62	43	10.45	61	71.45
LICD-41	24	10.37	77	87.37

Tabla 5.6. Resultados de la eSA en la Población Contemporánea Sin Edad Cronológica Conocida. Valoración de acuerdo con los parámetros de Buckberry y Chamberlain (2002). L= lado, d= derecho, i= izquierdo, OT= organización transversal, TS= textura de la superficie, Mi= microporosidad, Ma= macroporosidad, CA= cambios en el ápice. Los valores nulos indican la ausencia del marcador morfológico.

Nº de muestra	L	OT	TS	Mi	Ma	CA	Puntuación	Estadio	Edad promedio	Intervalo de confianza del 95%
LICD-10	d	5	3	3	3	3	17	VII	72.25	53-92
	i	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LICD-23	d	5	2	1	1	1	10	III	37.86	16-65
	i	5	2	1	1	1	10	III	37.86	16-65
LICD-32	d	5	3	3	1	2	14	V	59.94	29-88
	i	5	3	3	2	1	14	V	59.94	29-88
LICD-33	d	3	2	1	1	1	8	II	29.33	21-38
	i	3	2	1	1	1	8	II	29.33	21-38
LICD-34	d	4	3	2	1	1	11	IV	51.41	29-81
	i	4	3	2	1	1	11	IV	51.41	29-81
LICD-35	d	5	3	1	1	1	11	IV	51.41	29-81
	i	5	3	1	1	1	11	IV	51.41	29-81
LICD-36	d	3	2	1	1	1	8	II	29.33	21-38
	i	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LICD-39	d	5	3	1	1	1	11	IV	51.41	29-81
	i	5	3	1	1	1	11	IV	51.41	29-81
LICD-40	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	i	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LICD-41	d	5	5	1	3	3	17	VII	72.25	53-92
	i	5	5	1	3	3	17	VII	72.25	53-92
LICD-42	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	i	5	3	3	1	2	14	V	59.94	29-88
LICD-43	d	5	3	1	1	2	12	IV	51.41	29-81
	i	5	3	1	1	2	12	IV	51.41	29-81
LICD-44	d	5	3	2	1	1	12	IV	51.41	29-81
	i	5	3	2	1	1	12	IV	51.41	29-81
LICD-46	d	5	3	2	2	1	13	V	59.94	29-88
	i	5	3	2	2	1	13	V	59.94	29-88
LICD-47	d	4	2	1	1	1	9	III	37.86	16-65
	i	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LICD-48	d	5	5	2	2	2	16	VI	66.71	39-91
	i	5	5	2	2	2	16	VI	66.71	39-91

Tabla 5.6. Continúa...

N° de muestra	L	OT	TS	Mi	Ma	CA	Puntuación	Estadio	Edad promedio	Intervalo de confianza del 95%
LICD-49	d	4	1	1	1	1	8	II	29.33	21-38
	i	4	1	1	1	1	8	II	29.33	21-38
LICD-50	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	i	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LICD-51	d	5	3	2	2	3	15	VI	66.71	39-91
	i	5	3	2	3	3	16	VI	66.71	39-91
LICD-53	d	5	2	1	1	1	10	III	37.86	16-65
	i	5	2	1	1	1	10	III	37.86	16-65
LICD-55	d	4	3	2	1	1	11	IV	51.41	29-81
	i	4	3	1	1	3	12	IV	51.41	29-81
LICD-58	d	5	3	1	1	1	11	IV	51.41	29-81
	i	4	4	1	1	2	12	IV	51.41	29-81
LICD-59	d	4	2	1	1	1	9	III	37.86	16-65
	i	4	2	1	1	1	9	III	37.86	16-65
LICD-60	d	4	3	2	3	1	13	V	59.94	29-88
	i	Fusión sacro-iliaca					-	-	-	-
LICD-61	d	5	3	2	2	2	14	V	59.94	29-88
	i	Fusión sacro-iliaca					-	-	-	-
LICD-62	d	5	3	2	3	2	15	VI	66.71	39-91
	i	Fusión sacro-iliaca					-	-	-	-

Tabla 5.7. Resultados de la eSP en la Población Contemporánea Sin Edad Cronológica Conocida. Valoración de acuerdo con los parámetros de Brooks y Suchey (1990) y Berg (2008) para la fase VII en individuos femeninos. Este último no presenta el intervalo de confianza del 95%, sólo la desviación estándar de ± 10.9 años.

N° de muestra	Lado	Fase	Edad promedio	Intervalo de confianza del 95%
LICD-10	d	VI	60	42-87
	i	-	-	-
LICD-23	d	IV	35.2	23-57
	i	IV	35.2	23-57
LICD-32	d	VI	60	42-87
	i	VI	60	42-87
LICD-33	d	III	30.7	21-53
	i	III	30.7	21-53
LICD-34	d	-	-	-
	i	V	48.1	25-83
LICD-35	d	V	48.1	25-83
	i	V	48.1	25-83
LICD-36	d	-	-	-
	i	-	-	-
LICD-39	d	V	48.1	25-83
	i	V	48.1	25-83
LICD-40	d	V	45.6	27-66
	i	V	45.6	27-66
LICD-41	d	VII	74.2	-
	i	-	-	-
LICD-42	d	VI	61.2	34-86
	i	-	-	-
LICD-43	d	V	45.6	27-66
	i	V	45.6	27-66
LICD-44	d	IV	38.2	26-70
	i	IV	38.2	26-70
LICD-46	d	VI	60	42-87
	i	VI	60	42-87
LICD-47	d	IV	38.2	26-70
	i	-	-	-
LICD-48	d	-	-	-
	i	-	-	-
LICD-49	d	II	23.4	19-34
	i	II	23.4	19-34
LICD-50	d	-	-	-
	i	V	48.1	25-83
LICD-51	d	-	-	-
	i	-	-	-

Tabla 5.7. Continúa...

N° de muestra	Lado	Fase	Edad promedio	Intervalo de confianza del 95%
LICD-53	d	IV	38.2	26-70
	i	IV	38.2	26-70
LICD-55	d	-	-	-
	i	VI	60	42-87
LICD-58	d	V	48.1	25-83
	i	V	48.1	25-83
LICD-59	d	III	28.7	21-46
	i	III	28.7	21-46
LICD-60	d	VI	61.2	34-86
	i	VI	61.2	34-86
LICD-61	d	-	-	-
	i	-	-	-
LICD-62	d	VI	61.2	34-86
	i	VI	61.2	34-86

Tabla 5.8. Resultados de las eLICD, eSA y eSP en la Población Contemporánea Sin Edad Cronológica Conocida.

N° de muestra	eLICD	eSA	eSP
LICD-49	24.91	29.33	23.4
LICD-33	29.83	29.33	30.7
LICD-59	30.91	37.86	28.7
LICD-36	34.04	29.33	-
LICD-23	36.29	37.86	35.2
LICD-53	39.58	37.86	38.2
LICD-47	39.79	37.86	38.2
LICD-44	43.58	51.41	38.2
LICD-35	47.49	51.41	48.1
LICD-50	50.58	-	48.1
LICD-39	50.83	51.41	48.1
LICD-40	51.45	-	45.6
LICD-43	53.04	51.41	45.6
LICD-58	54.79	51.41	48.1
LICD-34	54.87	51.41	48.1
LICD-42	60.04	59.94	61.2
LICD-46	60.87	59.94	60
LICD-61	61.45	59.94	-
LICD-32	64.79	59.94	60
LICD-10	64.79	72.25	60
LICD-60	68.37	59.94	61.2
LICD-55	68.79	51.41	60
LICD-51	69.83	66.71	-
LICD-48	71.08	66.71	-
LICD-62	71.45	66.71	61.2
LICD-41	87.37	72.25	74.2

Tabla 5.9. Resultados de la eLICD en la Población Prehispánica.

N° de muestra	Pieza Dental	Edad promedio de brote dental	N° de LICD	eLICD
LICD-88	24	10.54	9	19.54
LICD-79	16	7.16	16	23.16
LICD-81	23	11.04	14	23.04
LICD-86	24	10.54	13	23.54
LICD-89	35	11.08	13	24.08
LICD-93	44	10.45	14	24.45
LICD-84	34	10.45	14	24.45
LICD-123	43	9.79	16	25.79
LICD-78	46	7.04	20	27.04
LICD-92	45	11.08	16	27.08
LICD-124	44	10.45	17	27.45
LICD-91	24	10.54	18	28.54
LICD-77	33	9.79	22	31.79
LICD-85	23	10.87	25	35.87
LICD-117	34	10.45	26	36.45
LICD-76	32	7.37	30	37.37
LICD-112	43	10.45	29	39.45
LICD-111	45	11.08	38	49.08
LICD-121	35	11.08	43	54.08
LICD-120	22	8.70	51	59.7
LICD-113	23	10.87	56	66.87

Tabla 5.10. Resultados de la eSA en la Población Prehispánica. Valoración de acuerdo con los parámetros de Buckberry y Chamberlain (2002). L= lado, d= derecho, i= izquierdo, OT= organización transversal, TS= textura de la superficie, Mi= microporosidad, Ma= macroporosidad, CA= cambios en el ápice. I.C.= Intervalo de Confianza. Los valores nulos indican la ausencia del marcador morfológico.

N° de muestra	L	OT	TS	Mi	Ma	CA	Puntuación	Estadio	Edad promedio	I.C. del 95%
LICD-76	d	4	2	1	1	1	9	III	37.86	16-65
	i	5	2	1	1	1	10	III	37.86	16-65
LICD-77	d	4	2	1	1	1	9	III	37.86	16-65
	i	4	2	1	1	1	9	III	37.86	16-65
LICD-78	d	4	3	1	1	1	10	III	37.86	16-65
	i	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LICD-79	d	4	1	1	1	1	8	II	29.33	21-38
	i	4	1	1	1	1	8	II	29.33	21-38
LICD-81	d	2	1	1	1	1	6	I	17.33	16-19
	i	2	1	1	1	1	6	I	17.33	16-19
LICD-84	d	2	1	1	1	1	6	I	17.33	16-19
	i	2	1	1	1	1	6	I	17.33	16-19
LICD-85	d	5	2	1	1	1	10	III	37.86	16-65
	i	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LICD-86	d	3	1	1	1	1	7	II	29.33	21-38
	i	3	1	1	1	1	7	II	29.33	21-38
LICD-88	d	2	1	1	1	1	6	I	17.33	16-19
	i	2	1	1	1	1	6	I	17.33	16-19
LICD-89	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	i	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LICD-91	d	3	1	1	1	1	7	II	29.33	21-38
	i	3	1	1	1	1	7	II	29.33	21-38
LICD-92	d	4	2	2	1	1	10	III	37.86	16-65
	i	3	2	2	1	1	9	III	37.86	16-65
LICD-93	d	3	1	1	1	1	7	II	29.33	21-38
	i	4	1	1	1	1	8	II	29.33	21-38
LICD-111	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	i	4	2	2	1	1	10	III	37.86	16-65
LICD-112	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	i	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LICD-113	d	5	3	1	1	1	11	IV	51.41	29-81
	i	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LICD-117	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	i	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LICD-120	d	5	3	3	3	2	16	VI	66.71	39-91
	i	5	3	3	3	2	16	VI	66.71	39-91

Tabla 5.10. Continúa...

N° de muestra	L	OT	TS	Mi	Ma	CA	Puntuación	Estadio	Edad promedio	I.C. del 95%
LICD-121	d	5	4	1	1	1	12	IV	51.41	29-81
	i	5	4	1	1	1	12	IV	51.41	29-81
LICD-123	d	4	1	1	1	1	8	II	29.33	21-38
	i	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LICD-124	d	3	2	1	1	1	8	II	29.33	21-38
	i	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 5.11. Resultados de la eSP en la Población Prehispánica. Valoración de acuerdo con los parámetros de Brooks y Suchey (1990).

N° de muestra	Lado	Fase	Edad promedio	Intervalo de confianza del 95%
LICD-76	d	IV	35.2	23-57
	i	IV	35.2	23-57
LICD-77	d	III	30.7	21-53
	i	III	30.7	21-53
LICD-78	d	III	30.7	21-53
	i	-	-	-
LICD-79	d	III	28.7	21-46
	i	III	28.7	21-46
LICD-81	d	II	23.4	19-34
	i	II	23.4	19-34
LICD-84	d	II	23.4	19-34
	i	II	23.4	19-34
LICD-85	d	V	48.1	25-83
	i	-	-	-
LICD-86	d	II	23.4	19-34
	i	II	23.4	19-34
LICD-88	d	II	23.4	19-34
	i	II	23.4	19-34
LICD-89	d	-	-	-
	i	-	-	-
LICD-91	d	III	28.7	21-46
	i	III	28.7	21-46
LICD-92	d	III	28.7	21-46
	i	III	28.7	21-46
LICD-93	d	II	23.4	19-34
	i	II	23.4	19-34
LICD-111	d	-	-	-
	i	-	-	-
LICD-112	d	-	-	-
	i	-	-	-
LICD-113	d	-	-	-
	i	-	-	-
LICD-117	d	-	-	-
	i	-	-	-
LICD-120	d	VI	60	42-87
	i	-	-	-
LICD-121	d	-	-	-
	i	-	-	-

Tabla 5.11. Continúa...

N° de muestra	Lado	Fase	Edad promedio	Intervalo de confianza del 95%
LICD-123	d	-	-	-
	i	-	-	-
LICD-124	d	II	23.4	19-34
	i	-	-	-

Tabla 5.12. Resultados de la eLICD, eSA, eSP y eOIM (*cierre epífisiario; ** desgaste dental) en la Población Prehispánica.

N° de muestra	eLICD	eSA	eSP	eOIM
LICD-88	19.54	17.33	23.4	-
LICD-81	23.04	17.33	23.4	-
LICD-79	23.16	29.33	28.7	-
LICD-86	23.54	29.33	23.4	-
LICD-89	24.08	-	-	25*
LICD-93	24.45	29.33	23.4	-
LICD-84	24.45	17.33	23.4	-
LICD-123	25.79	29.33	-	-
LICD-78	27.04	37.86	30.7	-
LICD-92	27.08	37.86	28.7	-
LICD-124	27.45	29.33	23.4	-
LICD-91	28.54	29.33	28.7	-
LICD-77	31.79	37.86	30.7	-
LICD-85	35.87	37.86	48.1	-
LICD-117	36.45	-	-	40**
LICD-76	37.37	37.86	35.2	-
LICD-112	39.45	-	-	35**
LICD-111	49.08	37.86	-	-
LICD-121	54.08	51.41	-	-
LICD-120	59.7	66.71	60	-
LICD-113	66.87	51.41	-	-

Tabla 5.13. Resultados de las pruebas no paramétricas y de estadística descriptiva de la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida. EC=Edad Cronológica; LICD=Líneas Incrementales de Cemento Dental; SA=Superficie Auricular; SP=Sínfisis Púbrica; OIM=Otros Indicadores Morfológicos. **La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Métodos	Rho de Spearman	Wilcoxon	U Mann-Whitney	Kruskal-Wallis	Diferencia en años					
					Estadística descriptiva	Adulto Joven	Adulto Completo	Adulto Maduro	Adulto Avanzado	Toda la muestra
EC-LICD	$\rho = .992^{**}$ $P = .000$ $P < 0.01$	$Z = -.777$ $P = .437$ $P > 0.05$	$U = 93.000$ $P = .228$ $P > 0.05$	$P = .351$ $P > 0.05$	N° de casos	6	8	7	12	33
					media	1.32	1.51	2.13	2.45	1.95
					desv. est.	.96	.58	1.10	1.77	1.32
					mínima	.45	.55	.45	.37	.37
					máxima	2.92	2.45	3.45	5.21	5.21
EC-SA	$\rho = .969^{**}$ $P = .000$ $P < 0.01$	$Z = -2.808$ $P = .005$ $P < 0.05$	$U = 80.500$ $P = .307$ $P > 0.05$	$P = .098$ $P > 0.05$	N° de casos	5	8	7	10	30
					media	4.19	3.48	4.14	9.98	5.92
					desv. est.	3.61	2.09	3.30	6.99	5.37
					mínima	.67	.86	.59	.71	.59
					máxima	9.33	7.14	9.14	21.75	21.75
EC-SP	$\rho = .969^{**}$ $P = .000$ $P < 0.01$	$Z = -3.069$ $P = .002$ $P < 0.05$	$U = 43.00$ $P = .402$ $P > 0.05$	$P = .020$ $P < 0.05$	N° de casos	4	6	4	8	22
					media	1.62	3.40	5.42	12.85	6.88
					desv. est.	.97	2.52	2.29	8.13	6.86
					mínima	.70	.60	2.00	.80	.60
					máxima	3.00	7.80	6.90	23.80	23.80
LICD-SA	$\rho = .962^{**}$ $P = .000$ $P < 0.01$	$Z = -2.767$ $P = .006$ $P < 0.05$	$U = 67.500$ $P = .112$ $P > 0.05$	$P = .259$ $P > 0.05$	N° de casos	5	8	7	10	30
					media	4.20	3.97	5.55	8.58	5.91
					desv. est.	2.83	2.50	2.35	6.46	4.55
					mínima	1.71	.49	2.63	1.17	.49
					máxima	7.29	8.18	8.38	20.62	20.62
LICD-SP	$\rho = .960^{**}$ $P = .000$ $P < 0.01$	$Z = -3.165$ $P = .002$ $P < 0.05$	$U = 48.00$ $P = .616$ $P > 0.05$	$P = .080$ $P > 0.05$	N° de casos	4	6	4	8	22
					media	1.80	3.90	5.65	10.67	6.30
					desv. est.	1.48	2.55	4.52	7.08	5.86
					mínima	.08	.44	.21	1.17	.08
					máxima	3.54	7.25	9.85	19.25	19.25

Tabla 5.14. Resultados de las pruebas no paramétricas y de estadística descriptiva de la Población Contemporánea Sin Edad Cronológica Conocida. EC=Edad Cronológica; LICD=Líneas Incrementales de Cemento Dental; SA=Superficie Auricular; SP=Sínfisis Púbrica; OIM=Otros Indicadores Morfológicos. **La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Métodos	Rho de Spearman	Wilcoxon	U Mann-Whitney	Kruskal-Wallis	Diferencia en años					
					Estadística descriptiva	Adulto Joven	Adulto Completo	Adulto Maduro	Adulto Avanzado	Toda la muestra
LICD-SA	$\rho = .923^{**}$ $P = .000$ $P < 0.01$	$Z = -1.51$ $P = .130$ $P > 0.05$	$U = 67.00$ $P = .886$ $P > 0.05$	$P = .058$ $P > 0.05$	Nº de casos	3	5	7	9	24
					media	3.95	3.55	2.00	7.44	4.60
					desv. est.	3.24	2.71	1.56	5.43	4.31
					mínima	.50	1.57	.10	1.51	.10
					máxima	6.95	7.83	3.9	17.38	17.38
LICD-SP	$\rho = .944^{**}$ $P = .000$ $P < 0.01$	$Z = -3.831$ $P = .000$ $P < 0.05$	$U = 50.00$ $P = .714$ $P > 0.05$	$P = .033$ $P < 0.05$	Nº de casos	3	4	9	6	22
					media	1.53	2.36	3.84	8.16	4.43
					desv. est.	.67	2.02	2.81	3.27	3.51
					mínima	.87	1.09	.61	4.79	.61
					máxima	2.21	5.38	7.44	13.17	13.17
SA-SP	$\rho = .926^{**}$ $P = .000$ $P < 0.01$	$Z = -1.944$ $P = .052$ $P > 0.05$	$U = 36.00$ $P = .485$ $P > 0.05$	$P = .736$ $P > 0.05$	Nº de casos	3	4	7	6	20
					media	5.48	4.13	2.91	4.93	4.15
					desv. est.	3.91	6.14	1.82	4.76	3.95
					mínima	1.37	.34	.06	.06	.06
					máxima	9.16	13.21	5.81	12.25	13.21

Tabla 5.15. Resultados de las pruebas no paramétricas y de estadística descriptiva de las Población Prehispánica.

EC=Edad Cronológica; LICD=Líneas Incrementales de Cemento Dental; SA=Superficie Auricular; SP=Sínfisis Púbrica; OIM=Otros Indicadores Morfológicos. **La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Métodos	Rho de Spearman	Wilcoxon	U Mann-Whitney	Kruskal-Wallis	Diferencia en años					
					Estadística descriptiva	Adulto Joven	Adulto Completo	Adulto Maduro	Adulto Avanzado	Toda la muestra
LICD-SA	<i>rho</i> =.882** <i>P</i> =.000 <i>P</i> <0.01	<i>Z</i> =-.719 <i>P</i> =.472 <i>P</i> >0.05	U=30.00 <i>P</i> =.479 <i>P</i> >0.05	<i>P</i> =.080 <i>P</i> >0.05	N° de casos	10	4	3	1	18
					media	5.89	2.33	6.96	15.46	5.81
					desv. est.	3.09	2.57	4.27	.	4.11
					mínima	1.88	.49	2.67	15.46	.49
					máxima	10.82	6.07	11.22	15.46	15.46
LICD-SP	<i>rho</i> =.793** <i>P</i> =.001 <i>P</i> <0.01	<i>Z</i> =-.785 <i>P</i> =.433 <i>P</i> >0.05	U=16.00 <i>P</i> =.635 <i>P</i> >0.05	<i>P</i> =.533 <i>P</i> >0.05	N° de casos	9	4	1	-	14
					media	2.37	3.91	.30	-	2.66
					desv. est.	1.93	5.60	.	-	3.24
					mínima	.14	.16	.30	-	.14
					máxima	5.54	12.23	.30	-	12.23
SA-SP	<i>rho</i> =.884** <i>P</i> =.000 <i>P</i> <0.01	<i>Z</i> =-.913 <i>P</i> =.362 <i>P</i> >0.05	U=3.000 <i>P</i> =.014 <i>P</i> <0.05	<i>P</i> =.816 <i>P</i> >0.05	N° de casos	9	4	1	-	14
					media	5.88	5.17	6.71	-	5.7
					desv. est.	2.23	4.34	.	-	2.7
					mínima	.63	.63	6.71	-	.63
					máxima	9.16	10.24	6.71	-	10.24
LICD-EM	<i>rho</i> =.500 <i>P</i> =.667 <i>P</i> >0.05	<i>Z</i> =.000 <i>P</i> =1.000 <i>P</i> >0.05	U=.000 <i>P</i> =.667 <i>P</i> >0.05	<i>P</i> =.221 <i>P</i> >0.05	N° de casos	1	2	-	-	3
					media	.92	4.0	-	-	2.97
					desv. est.	.	.63	-	-	1.83
					mínima	.92	3.55	-	-	.92
					máxima	.92	4.45	-	-	4.45

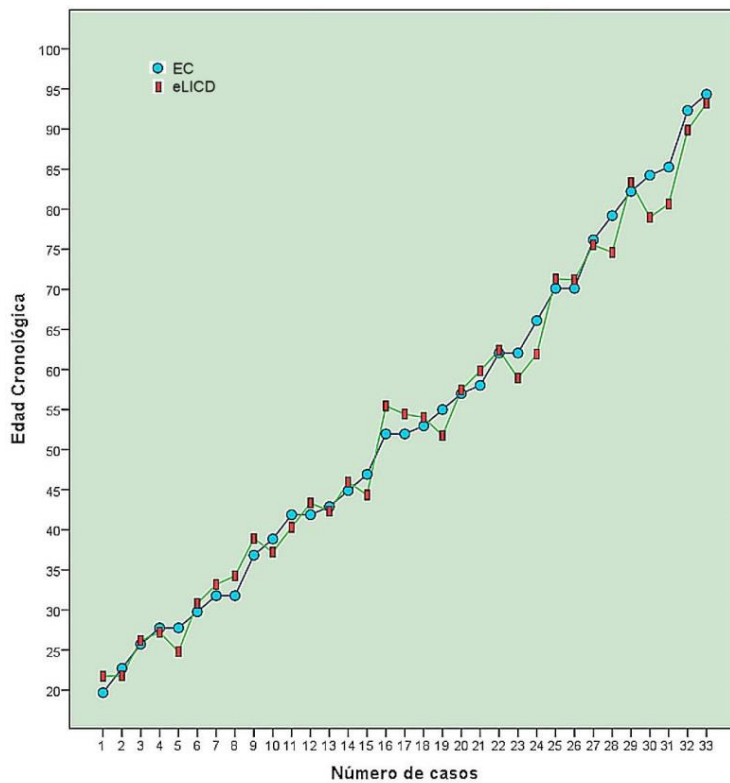


Figura 5.1. Resultados de la eLICD y su comparación con la EC en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida.

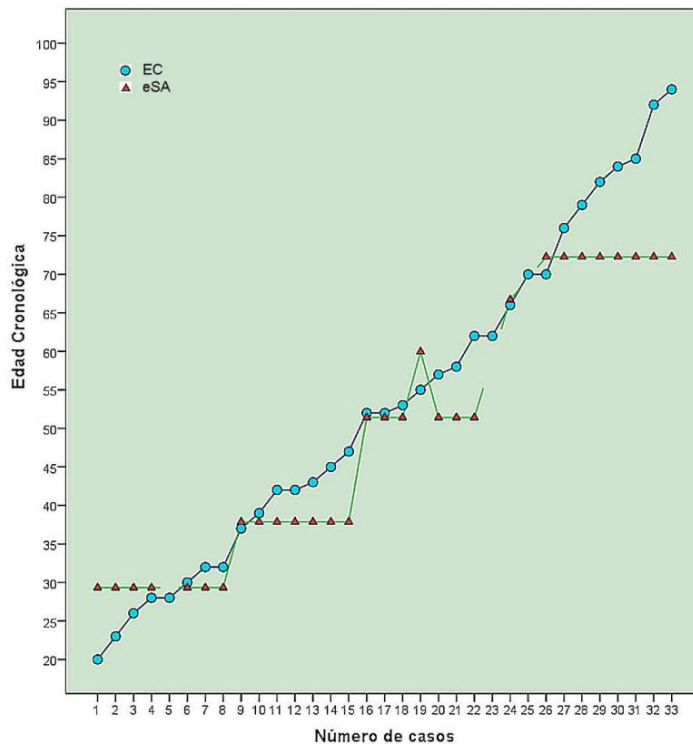


Figura 5.2. Resultados de la eSA y su comparación con la EC en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida.

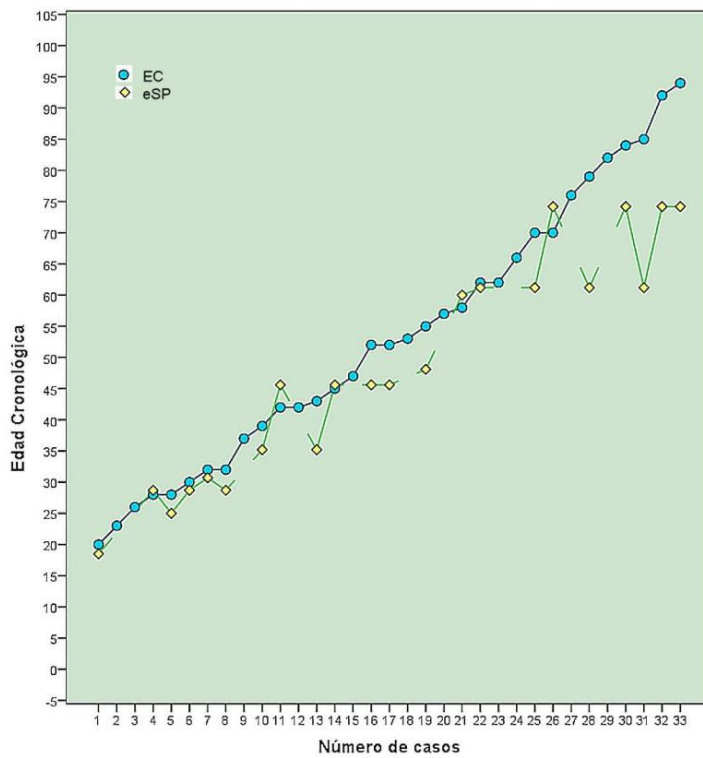


Figura 5.3. Resultados de la eSP y su comparación con la EC en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida.

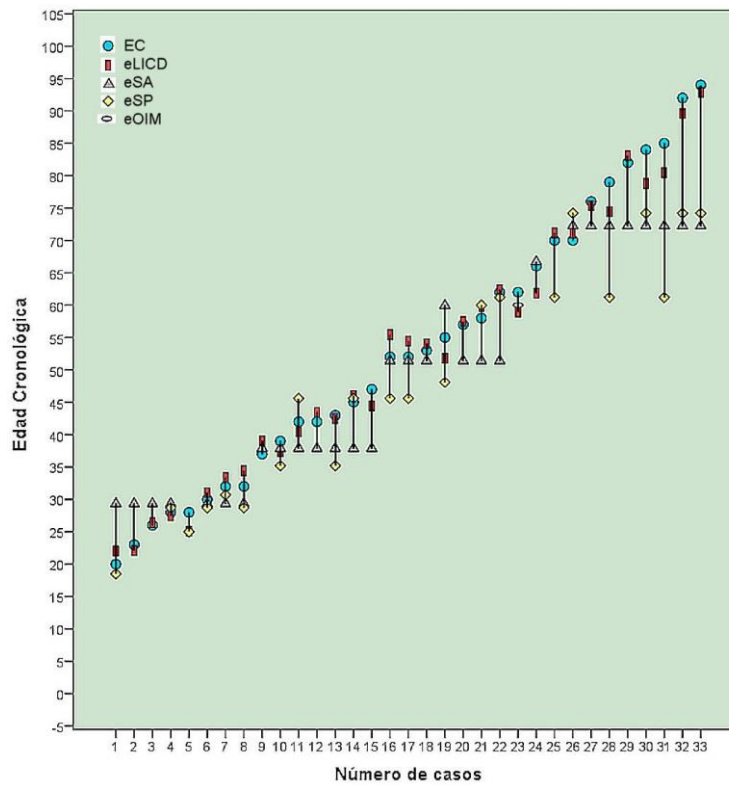


Figura 5.4. Resultados de las eLICD, eSA y eSP, así como su comparación con la EC en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida.

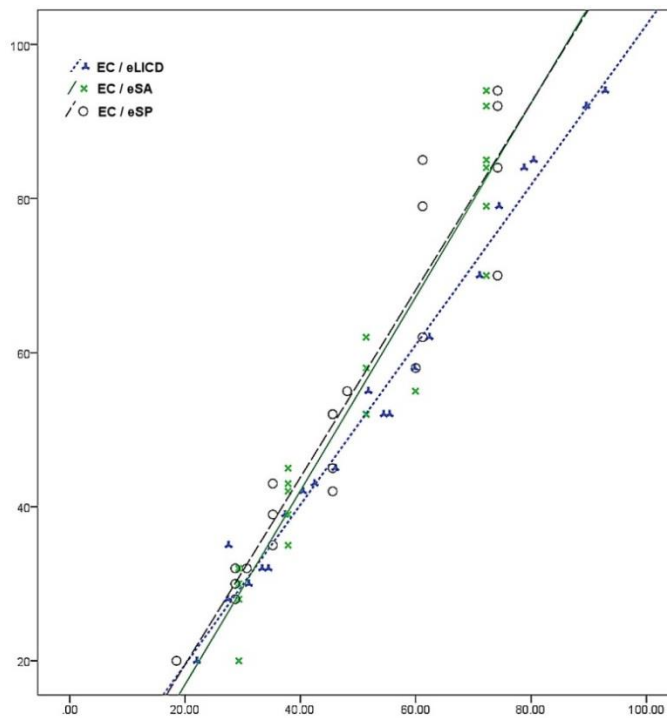


Figura 5.5. Dispersión de los resultados de las estimaciones de edad que indican el tipo de correlación entre los tres métodos utilizados con la edad cronológica conocida.

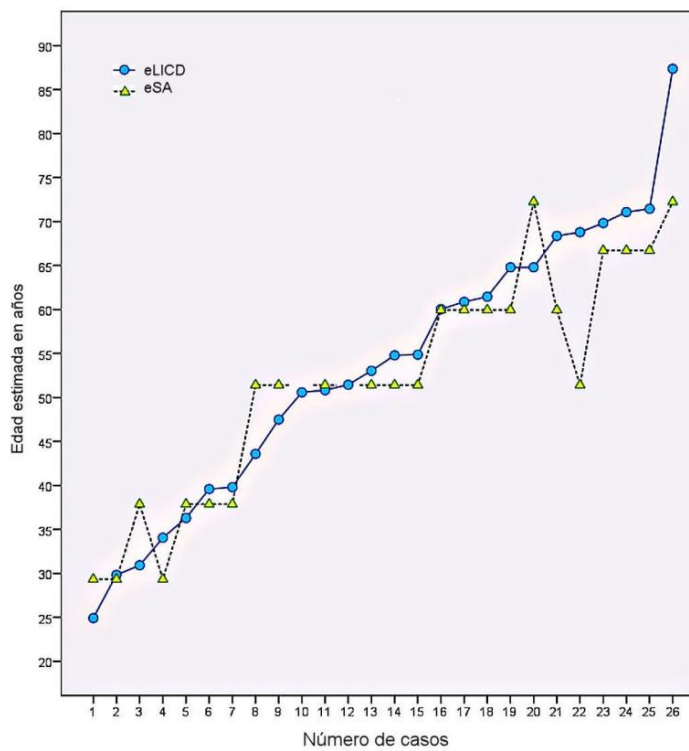


Figura 5.6. Resultados de las eLICD y eSA en la Población Contemporánea Sin Edad Cronológica Conocida.

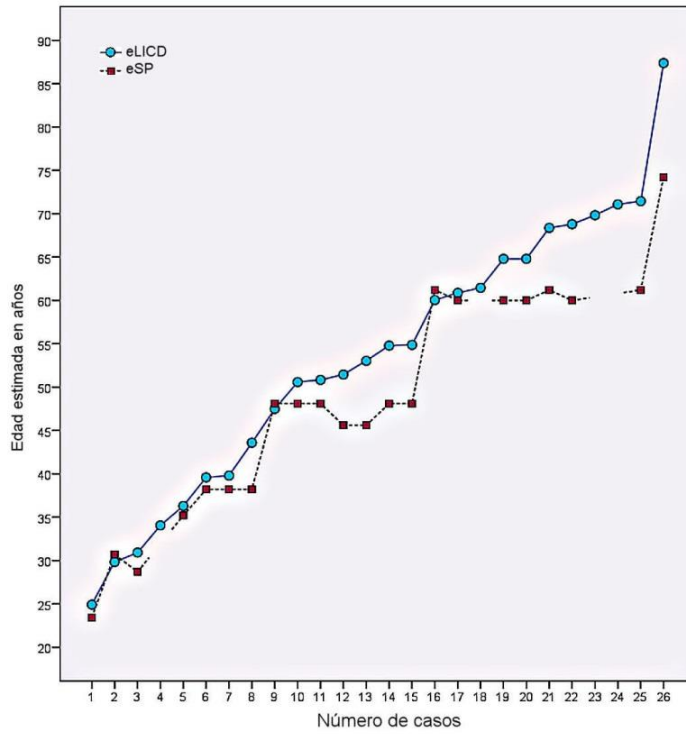


Figura 5.7. Resultados de las eLICD y eSP en la Población Contemporánea Sin Edad Cronológica Conocida.

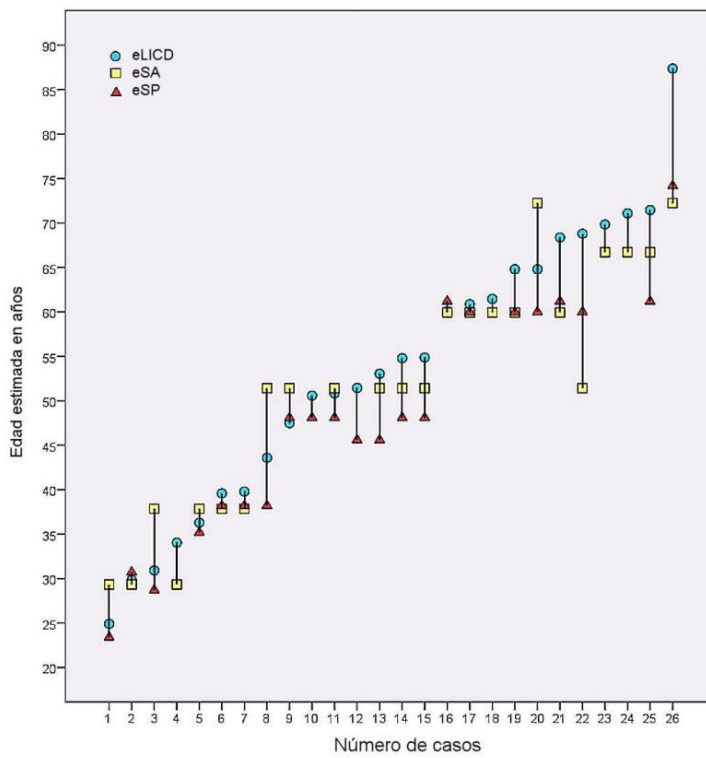


Figura 5.8. Resultados de las eLICD, eSA y eSP en la Población Contemporánea Sin Edad Cronológica Conocida.

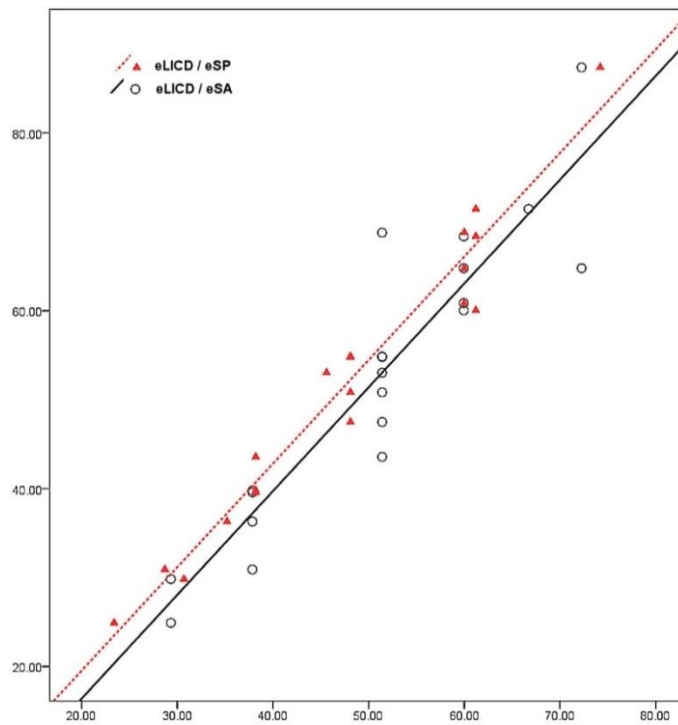


Figura 5.9. Dispersión de los resultados de las estimaciones de edad que indican el tipo de correlación entre el método de LICD con los de SA y SP en la Población Contemporánea Sin Edad Cronológica Conocida.

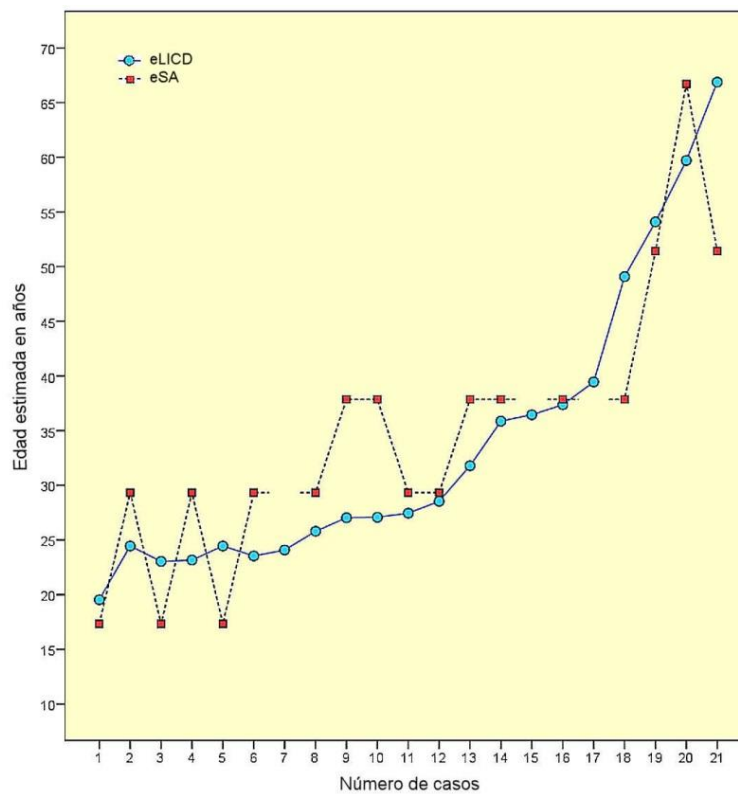


Figura 5.10. Resultados de las eLICD y eSA en la Población Prehispánica.

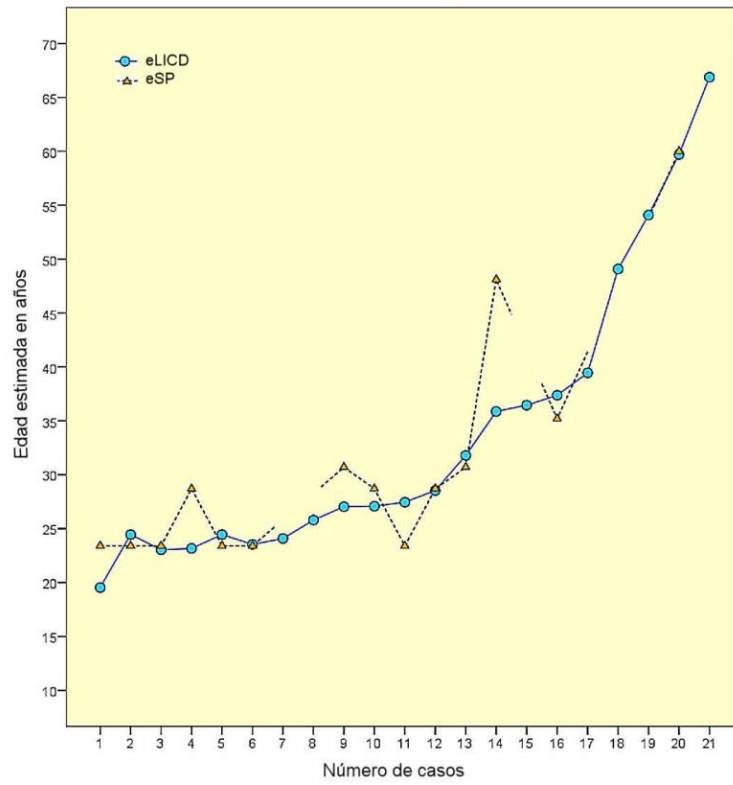


Figura 5.11. Resultados de las eLICD y eSP en la Población Prehispánica.

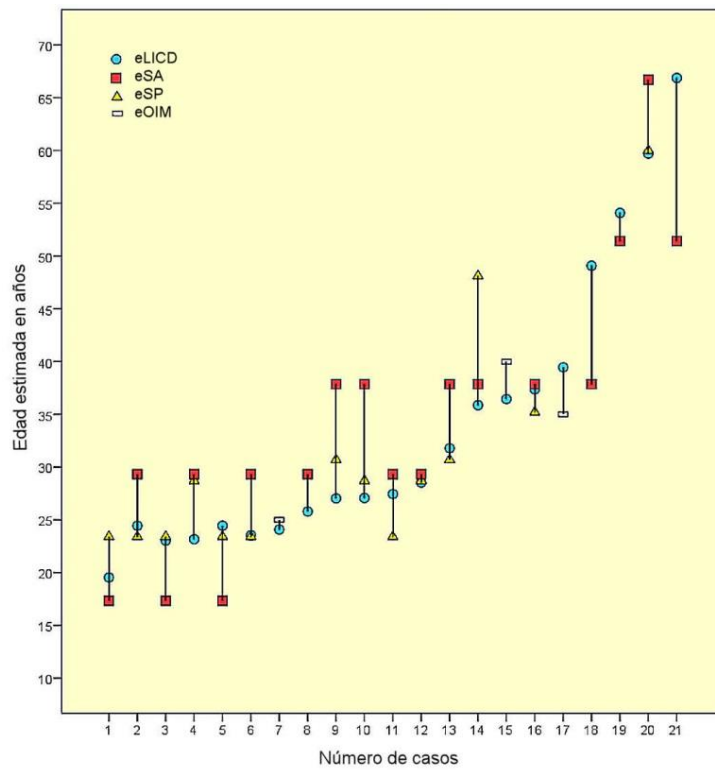


Figura 5.12. Resultados de las eLICD, eSA, eSP y eOIM en la Población Prehispánica.

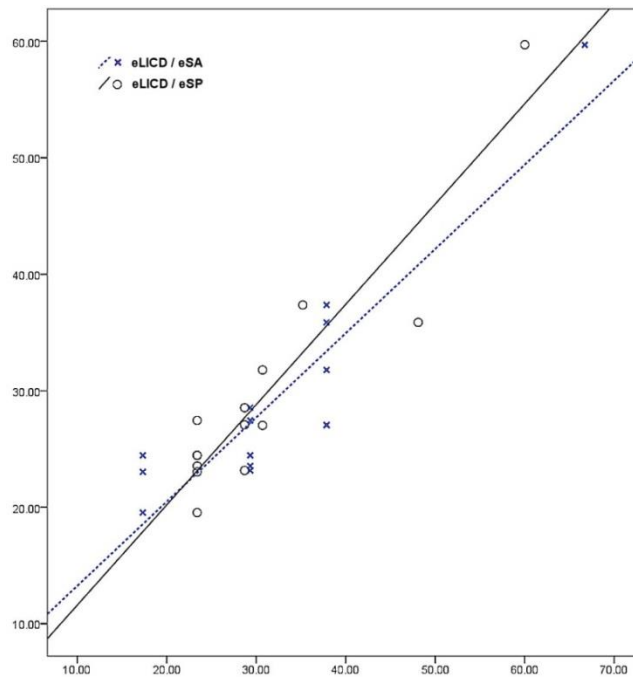


Figura 5.13. Dispersión de los resultados de las estimaciones de edad que indican el tipo de correlación entre el método de LICD con los de SA y SP en la Población Prehispánica.

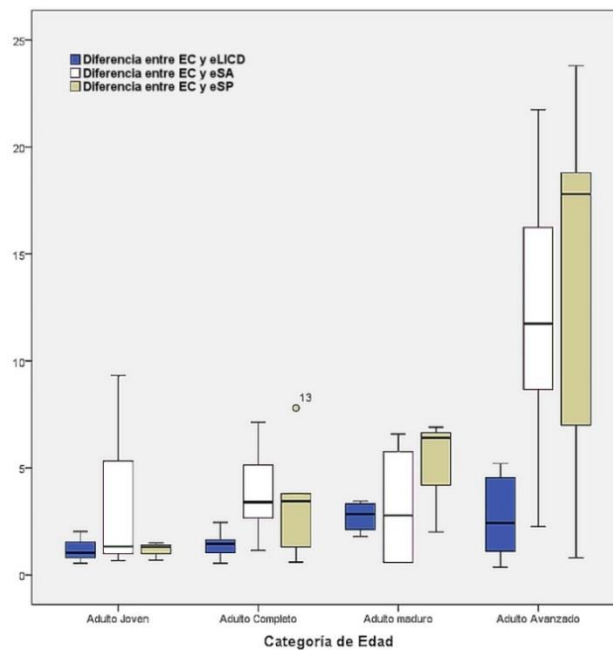


Figura 5.14. Diagrama de cajas de la diferencia en años entre EC / eLICD, eSA y eSP, en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida. (La caja representa el 50% de los casos centrales y en ella se indica la mediana. Los extremos reflejan los casos de menor y mayor valor sin llegar a ser atípicos. Los casos atípicos se representan con un círculo e indican que el valor se aleja más de 1,5 longitudes de caja del percentil 75).

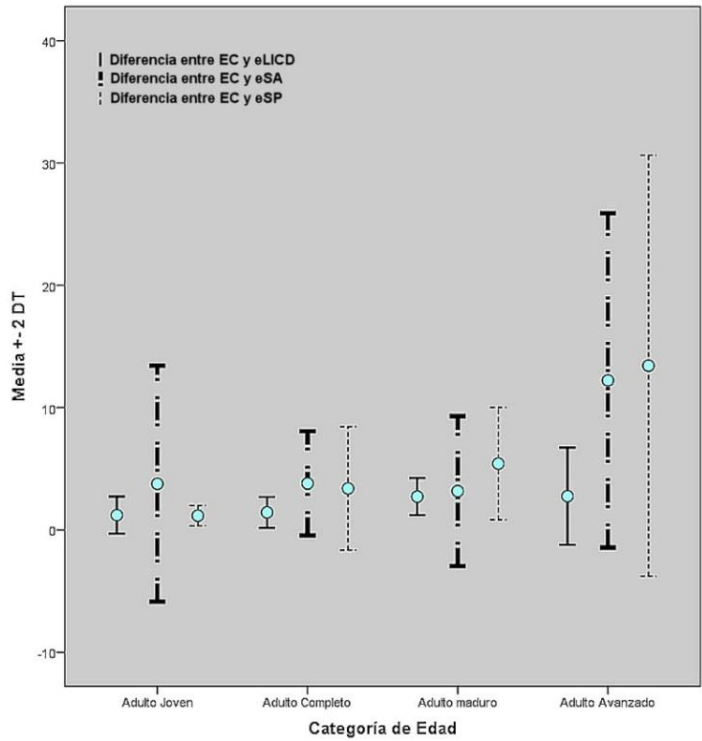


Figura 5.15. Barras de error que indican la media y la desviación estándar de la diferencia en años entre EC / eLICD, eSA y eSP en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida.

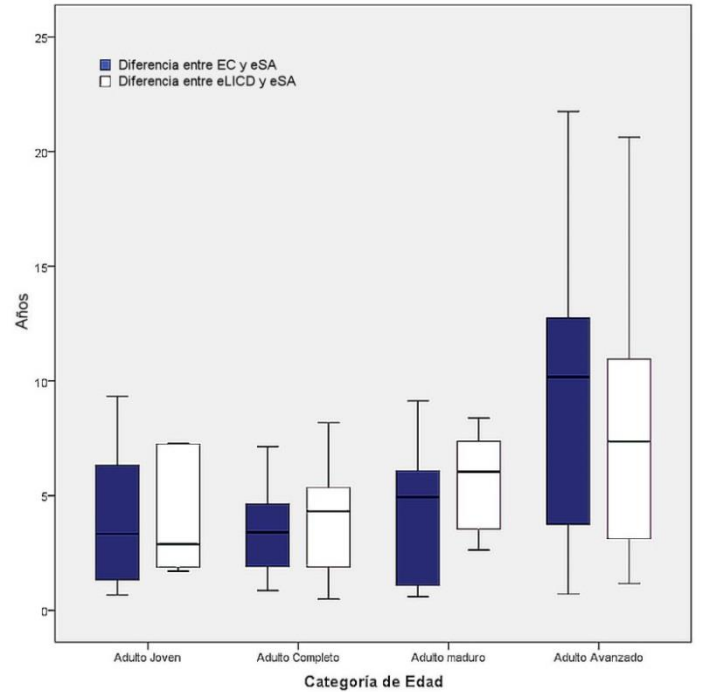


Figura 5.16. Diagrama de cajas de la diferencia en años entre EC y eSA, así como entre la eLICD y eSA en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida.

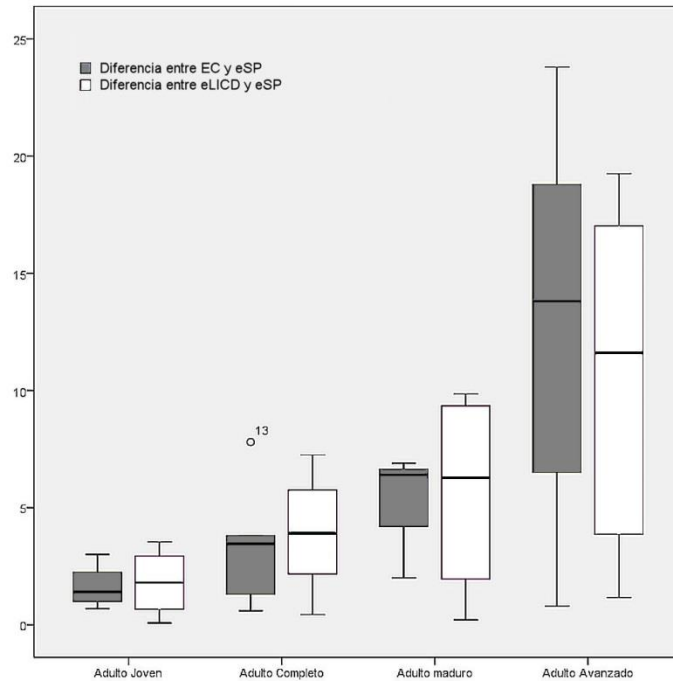


Figura 5.17. Diagrama de cajas de la diferencia en años entre EC y eSP, así como entre eLICD y eSP en la Población Contemporánea Con Edad Cronológica Conocida.

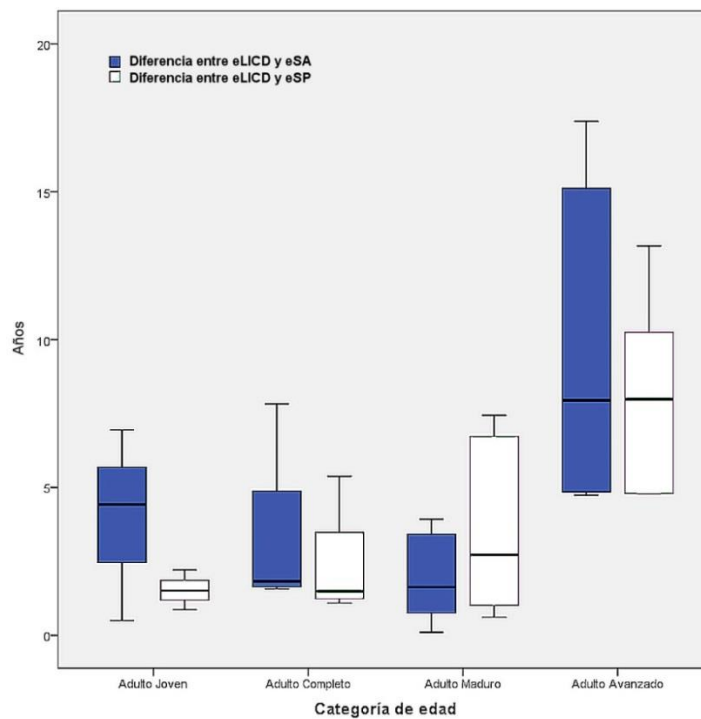


Figura 5.18. Diagrama de cajas de la diferencia en años entre la eLICD / eSA y eLICD / eSP en la Población Contemporánea Sin Edad Cronológica Conocida.

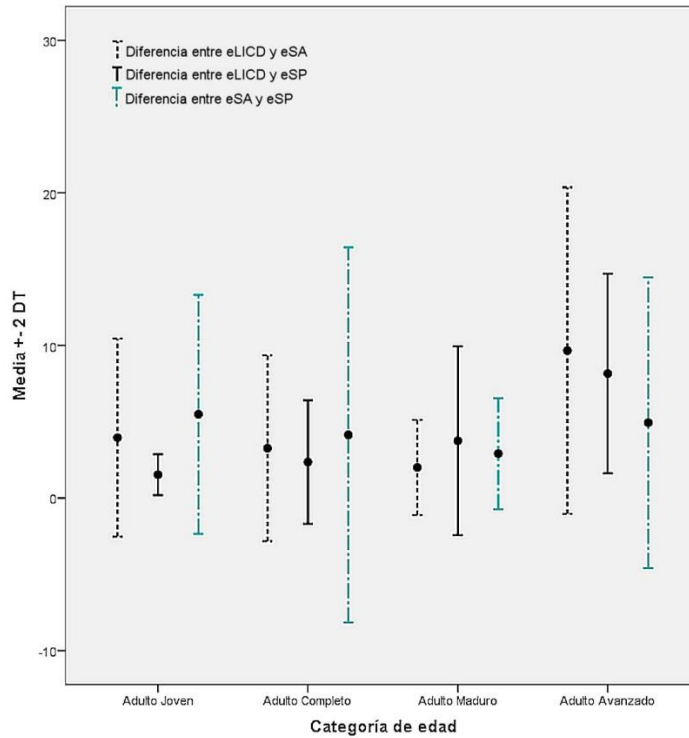


Figura 5.19. Barras de error que indican la media y la desviación estándar de la diferencia en años entre eLICD / eSA y eSP, así como entre eSA / eSP en la Población Contemporánea Sin Edad Cronológica Conocida.

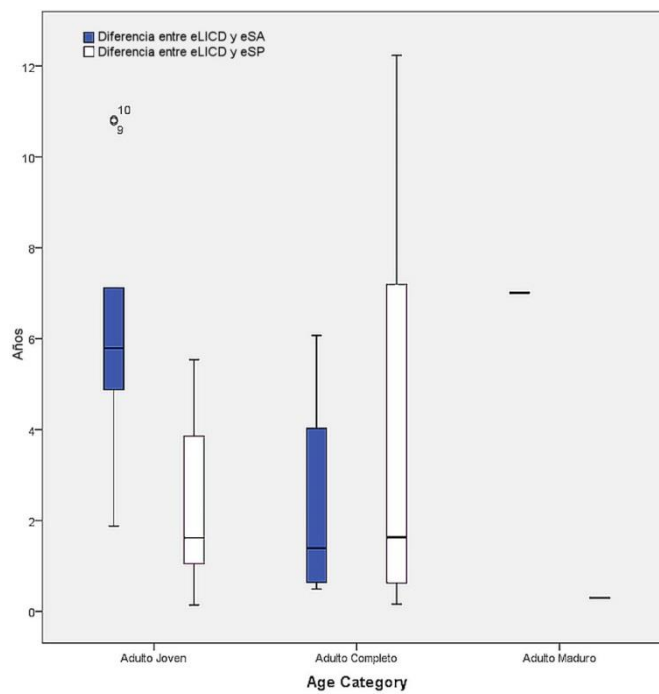


Figura 5.20. Diagrama de cajas de la diferencia en años entre eLICD / eSA y eLICD / eSP en la Población Prehispánica.

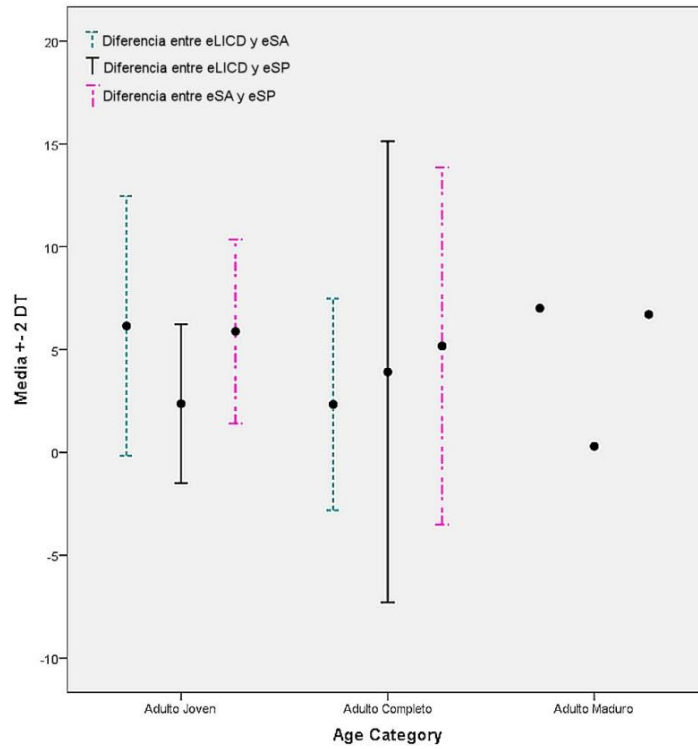


Figura 5.21. Barras de error que indican la media y la desviación estándar de la diferencia en años entre eLICD / eSA y eSP, así como entre eSA / eSP en la Población Prehispánica.

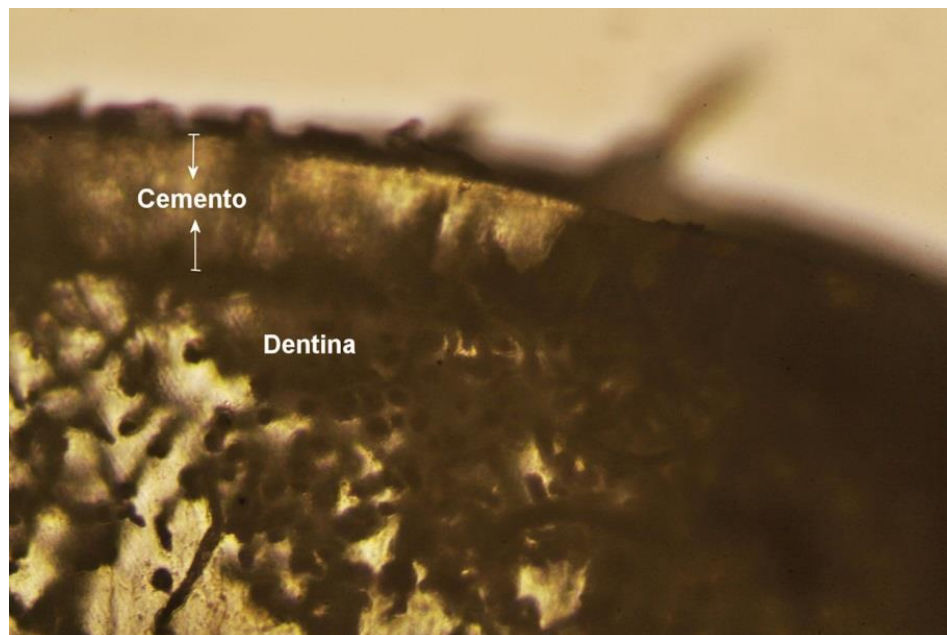


Figura 5.22. Ejemplo de la destrucción de la microestructura del cemento dental por procesos diagenéticos.

5.2 Discusión de resultados

5.2.1 Las LICD como BM de EC

5.2.1.1 Posibles causas de la diferencia y asociación entre EC y eLICD

Múltiples trabajos han demostrado que la eLICD guarda una buena correlación con la EC (ver Tabla 3.1) pero ¿cuáles son los factores que pueden alterar dicha asociación? Hasta el momento, sólo de forma experimental, se ha demostrado que la hipofosfatasa³⁴ inhibe la aposición del CAFE —el tejido donde se observan las LICD de interés— (Foster et al., 2012). Además, el análisis que se llevó a cabo sobre la biología del cemento dental arrojó los siguientes argumentos para respaldar la asociación de las LICD con la EC:

Las condiciones físico-químicas de las que depende el CAFE para su aposición no son las mismas para el CCFI ni para el hueso, por lo cual CAFE no tiene la misma vulnerabilidad a sufrir alteraciones por desequilibrios sistémicos como estos dos últimos.

La aposición periódica de las LICD en el CAFE, en los humanos, está gobernada por un ritmo biológico de tipo circanual (*circa* 365 días) de robusta periodicidad endógena, ya que se ha demostrado su falta de dependencia a factores extrínsecos para dejar de funcionar.

Lo anterior encuentra sentido en la naturaleza propia del CAFE porque, hasta la fecha, no se han localizado receptores de la vitamina D ni de la hormona paratiroidea. Esto se refuerza por el análisis de la mayoría de las poblaciones en las que se han analizado las LICD (Figura 3.14), donde se demuestra que la latitud, relacionada con el fotoperiodo, no interfiere en la aposición anual del CAFE.

También, de forma experimental se ha visto que la hipofosfatemia y la hipocalcemia no son causa de inhibición del CAFE (Foster et al., 2013).

³⁴ La hipofosfatasa es una enfermedad hereditaria de baja incidencia (1 de cada 100,000 nacimientos; en todo el mundo se han comunicado alrededor de 300 casos) caracterizada por mutaciones en el gene *ALPL*, codificador de la TNAP, que resultan en una mineralización anormal del tejido óseo y dental (Alonso et al., 2009).

5.2.1.2 Efectos de patologías orales en el CAFE

Quince de las muestras analizadas registraron alguna lesión por patología oral y en su mayoría se trató de la enfermedad periodontal. Las alteraciones que resultan de este padecimiento en el cemento dental se pueden dividir en dos categorías, la primera radica en los efectos que causa la inflamación gingival: descalcificación parcial de la superficie, así como degradación de las fibras de colágeno y reabsorción cervical o apical de la raíz (Bosshardt y Selvig, 1997). La segunda se refiere a la exposición de la superficie de la raíz al medio ambiente oral, lo cual provoca contaminación bacterial e hipermineralización (Bilgin et al., 2004). Sin embargo, los daños al cemento, por lo general, se limitan a la capa superficial del tejido dentro de la zona apical (*Ibid.*). La acción de colagenasas y enzimas proteolíticas provoca la disminución o pérdida del colágeno, debido a que son las responsables de romper su estructura proteica antes de que el cemento quede expuesto (Carranza y Bernars, 2002; Schroeder, 1992). Una vez que esto último sucede, la acción de bacterias y enzimas de la saliva producen otros cambios en la superficie descubierta del cemento. De manera consecuente, en las áreas afectadas el grosor de las capas puede disminuir por la interrupción del depósito continuo del cemento mientras tiene lugar el proceso inflamatorio del tejido conectivo adyacente, debido a que el medio físico-químico resulta alterado. Sin embargo, durante dicho proceso las áreas de la raíz dental que no son afectadas tienen una aposición continua y normal (Bilgin et al., 2004). Esto último es muy importante de resaltar porque aunque sea evidente la lesión vale la pena analizar la muestra, debido a que es suficiente que una pequeña área se haya mantenido sin alterar para que se pueda hacer el conteo de las LICD (Figura 5.23).

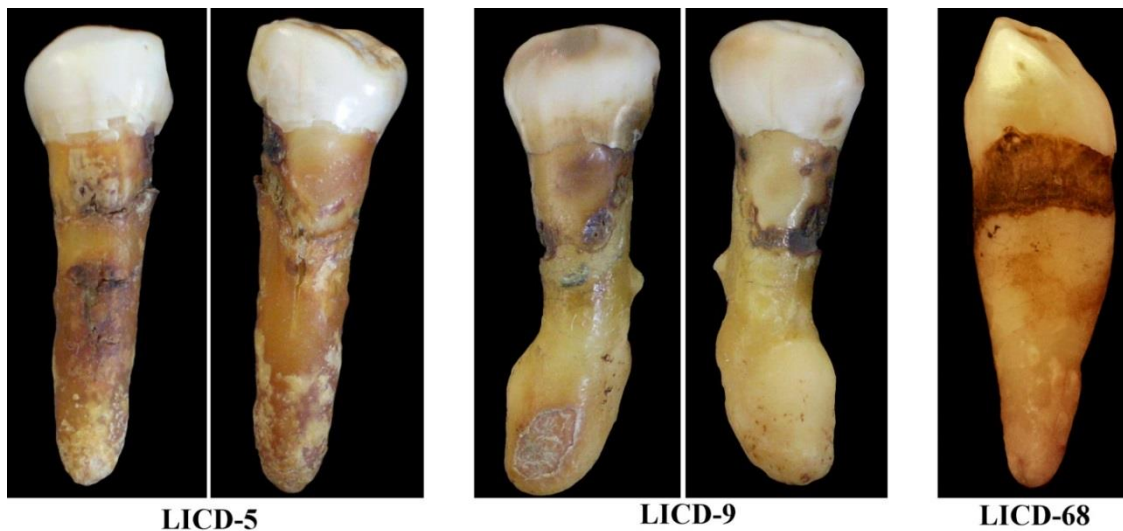


Figura 5.23. Ejemplo de tres casos con evidente lesión de enfermedad periodontal en los que se realizó la eLICD de manera exitosa. Las muestras LICD-5, LICD-9 y LICD-68 de 92, 82 y 94 años de EC presentaron una diferencia con la eLICD de 2.42, 1.08 y 1.13 años, respectivamente.

De esta manera, como se mencionó antes, en este estudio las piezas dentales alteradas en su raíz por alguna lesión patológica oral, no registraron una diferencia significativa al compararse con los dientes sanos. Estos resultados, al igual que el estudio de Broucker et al. (2013), concuerdan en que la eLICD puede ser usada en dientes que presenten problemas periodontales —siempre y cuando haya un área remanente sin alteración— y contrastan con el trabajo de Dias et al. (2010) quienes registraron una diferencia con la EC de 22.6 años en promedio. Es posible que estos últimos hayan hecho el conteo de las LICD en las áreas donde la enfermedad periodontal sí destruyó el CAFE.

5.2.1.3 Diferencias entre EC y eLICD

La mayoría de las investigaciones previas reportan que la edad estimada por LICD difiere de la EC por 2-3 años y algunos autores coinciden en que su precisión disminuye después de los 60 años de edad, elevando dicha diferencia hasta los 12 años (Tabla 3.1). No obstante, debido a que ha habido una falta tanto de uniformidad, en cuanto al procedimiento técnico para observar las LICD, como de conocimiento sobre la biología del cemento dental, es difícil asumir que las diferencias encontradas entre eLICD y EC sean por las LICD *per se* y no por el método experimental.

Además, otro aspecto a considerar sobre la falta de exactitud de la eLICD con respecto a la EC, es la variabilidad inter-poblacional que puede haber en la edad de brote de las piezas dentales. La desviación estándar que presenta la muestra de referencia de edad de brote dental en población mexicana, utilizada en este trabajo, tiene una mínima de 0.33 y una máxima de 1.95 años en individuos femeninos, mientras que en masculinos es de 0.79 y 1.74, respectivamente (Tabla 4.5).

En la presente investigación se encontró una diferencia promedio de 1.95 años entre la eLICD y EC en toda la muestra de la población contemporánea con EC conocida. Dicha diferencia, podría corresponder con la desviación estándar reportada sobre la edad del brote dental. Además las diferencias máximas — que no rebasaron los cinco años— también podrían adjudicarse a cuestiones técnicas más que a causas sistémicas, por lo que se ha mencionado con anterioridad (Tablas 5.1 y 5.13).

Asimismo, el aumento de dicha diferencia no se dio de manera proporcional con el incremento de la EC. Por ejemplo, la muestra LICD-7 de 79 años de EC presentó una diferencia con la eLICD de 4.55 años, mientras que la LICD-68 de 94 años de EC fue de 1.13 años.

De manera estricta la eLICD está determinada por procesos biológicos y por lo tanto es un indicador de la EB. Sin embargo, por la función que tiene el CAFE se ha visto que su aposición continua es estable, debido a que ante la presencia de problemas de orden sistémico o local —como la enfermedad periodontal— no se altera de manera fácil. Pero sobre todo el ritmo biológico circanual al que obedecen las LICD hace que éstas puedan fungir como un BM de la EC. Por lo tanto en este trabajo se considera la eLICD como tal en las poblaciones que no cuentan con una EC conocida. Lo cual contribuye a tener una mejor eEB.

5.2.1.4 Relación de eSA y eSP con EC

A partir de que se desarrollara la técnica para estimar la edad por medio de las SA de los iliacos en población norteamericana (Lovejoy et al., 1985), diversos estudios informaron sobre problemas para obtener una edad precisa con relación a la EC, en especial en poblaciones europeas y asiáticas (Santos, 1996; Hens et al., 2008; Schmitt, 2004). Además, encontraron que la confiabilidad del método disminuía después de los 45 años (Saunders et al., 1992; Murray y Murray, 1991; Santos, 1996; Hens et al., 2008).

Ante esto, Buckberry y Chamberlain (2002) realizaron una revisión a dicha técnica y la modificaron de tal forma que consideraron las características morfológicas de la SA como entidades independientes que cambian conforme avanza la edad. A pesar de que esta propuesta ha resultado ser un método más práctico de utilizar (Moraitis et al., 2014), sus autores enfatizaron la necesidad de que sea probado en diferentes poblaciones con EC conocida para comprobar su aplicabilidad y precisión. En este sentido, los trabajos que lo han hecho (Hens y Belcastro, 2012; Mulher y Jones, 2005; Rissech et al., 2012; San Millán et al., 2013; Moraitis et al., 2014) coinciden en que a pesar de que existe una correlación significativa entre los cambios que sufre la SA con la EC la imprecisión de la edad estimada es substancial. Asimismo, una de sus críticas más fuertes es el amplio rango de confiabilidad que tiene cada fase, por ejemplo los estadios IV y V tienen una amplitud de 52 y 59 años, respectivamente (Tabla 5.6), lo que cubre la vida adulta completa. Si bien se ha reconocido que una de las ventajas de este método es que se pueden evaluar individuos de >60 años (Nagaoka y Hirata, 2008; Hens y belcastro, 2012) la precisión de la edad estimada en estos es incluso menor que en los más jóvenes. También algunos autores consideran que se deben tomar en cuenta las diferencias entre individuos masculinos y femeninos (Igarashi et al., 2005; Hens y Belcastro, 2012). No obstante, en general, se han obtenido mejores resultados con la revisión de Buckberry y Chamberlain que con el método original de Lovejoy et al. Por

lo demás, todos los trabajos antes citados han demostrado que las relaciones entre las características morfológicas de la SA y la EC varían entre las diferentes poblaciones. En la presente investigación —acorde con los trabajos recién citados— a pesar de que sí se encontró una correlación positiva entre la EC y eSA, la diferencia promedio en toda la muestra fue de 5.92 años pero la diferencia máxima alcanzó los 21.75 años en la categoría de edad de Adulto Avanzado (AA) y en las otras categorías osciló entre los 7 y 9 años (Tabla 5.13). Además, la tendencia general observada fue una eSA subestimada, con especial énfasis en la categoría de edad AA. Lo cual no sorprende porque la edad promedio del estadio más alto es de 72.25 años, de acuerdo con Buckberry y Chamberlain (2002), y la muestra analizada incluye individuos de 80 y 90 años.

Si no consideramos la categoría de edad de AA, por las limitaciones del método *per se*, vemos que las diferencias entre la eSA y EC no rebasaron los 10 años, que es el límite que Hochschild (1994) sugirió para la diferencia entre EB y EC en población viva. Sin embargo, hay que tomar en cuenta que se están comparando los cambios morfológicos de la SA de una población mexicana del siglo XX contra una británica que data del 1729-1859 d.C. (Spitalfields, Londres), es decir la muestra en que se basa el método de Buckberry y Chamberlain. Además, se le está asignando a la primera —la mexicana— la edad promedio en que se presentaron dichos cambios en la segunda —la británica— y no podemos asumir que los procesos del envejecimiento que condujeron a la metamorfosis de la SA fueron exactamente los mismos en ambas poblaciones. Puesto que hay que recordar que la intervención genética, en lo que se refiere a la longevidad humana, es tan sólo del 25-30% (Herskind et al., 1996; Hjelmborg et al., 2006; Deelen et al., 2013), mientras que el 70-75% está del lado del estilo de vida (dentro del cual un factor primordial es el tipo de dieta) y no podemos ignorar que estamos ante dos poblaciones culturalmente diferentes.

Los cambios que se observan en la SA, con el paso de los años, están asociados con los procesos del envejecimiento tanto del hueso como del cartílago, por lo tanto no se pueden aislar de la posible influencia degenerativa de otros órganos y tejidos (Manolagas y Cummings, 2013). Por ejemplo, la diabetes mellitus tipo 1 y 2 está asociada con una baja calidad ósea (osteoporosis) y con un deterioro acelerado del cartílago —aunque aún se desconoce el mecanismo— (Yan y Li, 2013). Entre las razones de esto se encuentra la hiperglicemia, la acumulación de AGEs, así como la disminución de los niveles séricos de osteocalcina y hormona paratiroidea (*Ibid.*).

Lo que sí es un hecho es que la eSA indicó de forma correcta, en general, la categoría de edad correspondiente de los individuos y quizá de esto es responsable la parte genética. Esto coincide con lo señalado por Hens y Belcastro (2012) en cuanto a que este método puede ser más útil como indicador de las etapas de la vida, más que para

obtener una edad exacta. Ahora, si lo que reportó Hochschild —sobre la diferencia de 10 años entre la EB y la EC— es cierto para todas las poblaciones, entonces las diferencias (por el estilo de vida) entre los procesos del envejecimiento manifiestos en la SA de la población de referencia y la de estudio estarían dentro de un intervalo de 10 años. Además, de manera hipotética, la subestimación o sobreestimación de la eSA estarían apuntando, de manera respectiva, al retraso o aceleración del ritmo de envejecimiento. Sin embargo, esto sólo se podrá corroborar hasta que se evalúe cada una de las características cambiantes de la SA, en relación a la EC, en una población mexicana, así como lo hicieron los autores del método en cuestión en la población británica.

De esta manera, las diferencias registradas entre la eSA y la EC, al igual que en todas las poblaciones que se han evaluado con este método, corresponden a la variabilidad de los ritmos de envejecimiento del hueso y del cartílago, como en cierto modo también lo ha sugerido Moraitis et al. (2014). Por ello, resulta casi imposible esperar que la eSA tenga una correspondencia exacta con la EC. La eSA tiene el potencial de proporcionar información sobre el ritmo de envejecimiento, pero desafortunadamente, en la población mexicana analizada no se puede señalar con certidumbre —con base en las diferencias entre eSA y EC— si dichos ritmos están acelerados, retrasados o son normales, por el problema de la muestra de referencia.

Por lo que respecta a la eSP, primero hay que recordar que la SP es un centro de osificación secundaria y el último en desarrollar, ya que completa su maduración a los 35-40 años, después de lo cual los cambios que se presentan son de tipo degenerativo (Alicioglu et al., 2008). De esta manera, el método de eSP está basado en la apariencia progresiva de la epífisis sinfisial y en su degeneración tardía (Brooks y Suchey, 1990; Shirley et al., 2013). El primer estándar para la eSP fue propuesto por Todd (1920) en población norteamericana y muchos años después el método fue modificado por Suchey, Katz y Brooks (Brooks y Suchey, 1990) al simplificar el esquema original y clasificar de forma separada a los individuos masculinos y femeninos. A este se le conoce como método de Suchey-Brooks y a la fecha es considerado como uno de los más confiables para estimar la edad en población norteamericana. No obstante, a pesar de su popularidad, su uso en individuos franceses (Baccino et al., 1990), canadienses (Saunders et al., 1992), portugueses (Hens et al., 2008), italianos (Santos, 1996), de los Balcanes (Djurić et al., 2007) y españoles (Rissech et al., 2012; San Millán et al., 2013) ha demostrado que la estimación de la edad está sesgada y después de los 40 años de edad su empleo resulta problemático. En este sentido, algunos autores (Berg, 2008; Hartner, 2010b) han propuesto modificaciones al método y han añadido una nueva fase para individuos de >60 años.

En este trabajo se observó una tendencia general de subestimación de la edad. Sin embargo, en los individuos de hasta 39 años de EC la diferencia con la eSP no rebasó los 3 años, lo cual concuerda con previas investigaciones. Esto es porque los cambios para alcanzar la madurez ósea de la SP, al parecer, siguen un ritmo constante que, en general, se ha visto en las poblaciones analizadas por otros autores. Por otro lado, en los individuos de 40 a 70 años las diferencias entre EC y eSP aumentaron pero no rebasaron los 8 años (Tabla 5.13). Sin embargo, en los individuos de 76 a 94 años de edad, las diferencias con la eSP se dispararon hasta los 19.8 años. Esto era de esperarse por las limitaciones del método, ya que en individuos masculinos la última fase tiene como edad promedio 61.2 años y en individuos femeninos 74.2, que corresponde a la séptima fase propuesta por Berg (2008). Esta última contribuyó a tener una mejor distribución de la edad en la población, pero todavía falta que se exploren más los cambios degenerativos que se presentan en la SP después de los 60 años en ambos sexos.

En cuanto a las diferencias con la EC, en referencia a Hochschild, considerando sólo a los individuos de <60 años, las diferencias entre la EC y la eSP no rebasaron los 10 años, pero hubo un aumento notable después de los 40 años de edad, que es cuando se completa la osificación. Así, de manera hipotética y de igual forma que con la eSA, la sobrestimación de la eSP estaría indicando una aceleración del ritmo de envejecimiento, mientras que la subestimación, apuntaría a un retraso del mismo.

Aunado a lo anterior, recientemente se ha descubierto que las dimensiones morfológicas de la SP aumentan con la edad y su degeneración está relacionada con la pérdida sistémica de masa ósea en individuos de ≥ 55 años (Lottering et al., 2014). Lo cual puede implicar que la metamorfosis degenerativa de la SP lleve un ritmo más constante que la SA, por lo que es posible que el envejecimiento óseo y del cartílago se reflejen de manera más puntual en la primera. Quizá por esto, en la muestra analizada en este trabajo, la eSP resultó ligeramente con menores diferencias que la eSA, sin considerar la categoría de edad de AA. No obstante, al igual que con el método de SA, para probar que las diferencias entre EB y EC están dentro de un límite de 10 años, como Hochschild lo reportó en población viva, se tendrán que analizar los cambios de la SP en una población mexicana a manera de muestra de referencia.

En cuanto a la información sobre las causas de muerte de 22 de los individuos (Tabla 4.4) no se encontraron obvias asociaciones con las diferencias entre la EC con la eSA y eSP. La única excepción fue la SA derecha del individuo LICD-12, de 26 años de edad, que muestra una degeneración severa que quizás estuvo relacionada con la desnutrición severa y/o con la cirrosis hepática por alcoholismo que fueron las causas de su deceso (Figura 5.24). En este sentido, uno de los mayores problemas de la paleopatología es que se desconoce cuánto tiempo le lleva al tejido óseo alterarse por una lesión o

desorden fisiológico, por lo que resulta difícil predecir la enfermedad que se experimentó en la vida sólo con base en los restos óseos (Van Schaik et al., 2014).

Por otra parte, no se puede ignorar el hecho de que ambos métodos, SA y SP, presentan intervalos de confianza del 95% muy amplios (Tablas 5.2 y 5.3), de hasta 59 y 52 años respectivamente, lo que puede apuntar a dos cosas. Una, a la incertidumbre sobre el conocimiento real que los procesos del envejecimiento ejercen sobre estas estructuras anatómicas. La otra, a que el ritmo de envejecimiento, manifiesto en la SA y SP, puede acelerarse o retrasarse hasta por poco más de 50 años. Esto último podría refutar lo que encontró Hochschild —sobre la diferencia entre EB y EC en población normal—, pero cabría la posibilidad de que encontrara sentido con el descubrimiento reciente de Horvath (2013), el cual por medio del análisis de la metilación del ADN, ha descubierto que en personas con ciertos tipos de cáncer, el envejecimiento se puede acelerar hasta 36 años en promedio. Sin embargo, aún falta mucha investigación al respecto. Por lo tanto, lo que sí se puede sugerir es que si las eSA y eSP no tienen una correspondencia exacta con la EC es debido a la variabilidad de los ritmos de envejecimiento y no a un error del método *per se*.

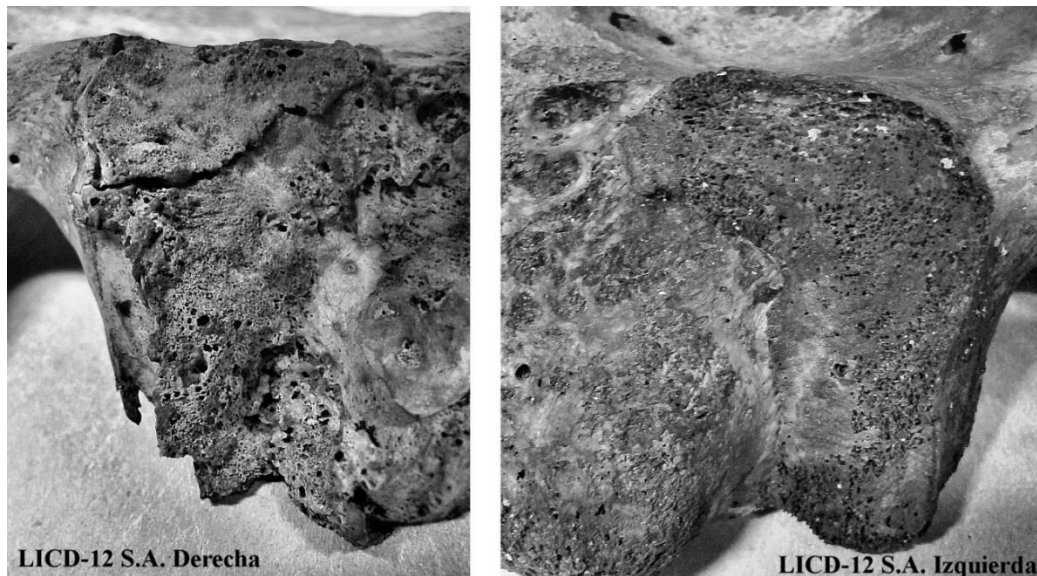


Figura 5.24. Superficies auriculares del individuo LICD-12 de 26 años de edad. Se observa una notable degeneración en la SA derecha.

5.2.1.5 Las LICD como BM de la EC y su relación con eSA, eSP y eOIM en las poblaciones sin EC conocida

En las poblaciones sin EC conocida, contemporánea y prehispanica, se utilizó la eLICD como el referente más próximo a la EC, como bien se comprobó con anterioridad. Así, en la población contemporánea las diferencias encontradas entre la eSA y eSP con la eLICD demostraron una tendencia a la subestimación de la edad principalmente en la categoría de edad AA. También en esta última se encontraron las mayores diferencias entre la eLICD con eSA y eSP, 15 y 13 años respectivamente; la razón de esto se discutió en la sección anterior. Sin embargo, dichas diferencias en la categoría de edad AA no fueron tan marcadas porque, de acuerdo a la eLICD, sólo un individuo sobrepasó, por mucho, los 70 años de edad. En cuanto a las categorías de edad restantes las diferencias no rebasaron los 8 años (Tabla 5.8).

Por otro lado, es interesante ver que en los individuos de hasta 40 años las diferencias entre la eSP y eLICD no sobrepasaron los dos años. Lo cual confirma, una vez más, que la tasa de cambio de la SP es constante hasta esta edad porque es cuando, aproximadamente, se alcanza su madurez ósea.

Asimismo, tanto la eSA como la eSP acertaron, en general, en la asignación de la categoría de edad de los individuos otorgada por la eLICD. Lo que de igual forma se encontró en la población con EC conocida, por lo cual surgen las mismas cuestiones sobre los ritmos de envejecimiento manifiestos en la SA y SP.

En cuanto a la estimación de la edad por otros indicadores morfológicos (eOIM), que sólo fueron tres casos, las diferencias no sobrepasaron los 5 años. Cabe señalar que el método del desgaste dental, para su uso en poblaciones pretéritas, no depende de estándares derivados de poblaciones de referencia y se basa en los procesos de masticación de dietas específicas, principalmente. Es decir, que no depende de manera directa de los procesos sistémicos del envejecimiento. Por ello no podría usarse como un indicador de la aceleración o retraso de los ritmos del envejecimiento y hasta cierto punto, este método podría jugar un papel como el de las LICD para ayudar a medir las variaciones de los otros BMs de la EB (Mays, 2012).

Por otro lado, en la población prehispanica la mayoría de los individuos se concentró en la categoría de edad de Adulto Joven (AJ 20-30 años) de acuerdo con la eLICD y la eSA tuvo una clara tendencia a sobrestimar la edad hasta por 10 años. Por su parte, la eSP, en esta misma categoría de edad, no tuvo una tendencia obvia en dicho sentido, pero su diferencia con la eLICD alcanzó los 5 años. Esto llama la atención porque en comparación con las poblaciones modernas, en los individuos AJ las diferencias tendieron a ser menores. Con respecto a las otras categorías de edad, no hubo una

tendencia clara a sub o sobrestimar la edad, pero las diferencias por ambos métodos con eLICD llegaron hasta los 12 años.

Por otro lado, así como las causas de muerte de algunos de los individuos de la población con EC conocida, no se pudieron asociar con las diferencias entre eSA y eSP con la EC, se encontró lo mismo en el individuo de la muestra LICD-124 (procedente del sitio arqueológico de Palenque, Chiapas). En este caso el individuo sufrió una escoliosis severa que afectó todo su organismo, así como su calidad de vida y probablemente le orilló a la muerte (Couoh, 2013). Sin embargo, por la diferencia entre la eLICD con los otros dos métodos, de manera hipotética se puede interpretar que el ritmo de envejecimiento no se aceleró en SA y SP, a pesar de la condición de salud de sujeto (Tabla 5.12). Bajo este mismo tenor, el hecho de que la mayoría de los individuos AJ presentaron una sobrestimación de la eSA, también de manera hipotética, podría estar asociado con una aceleración del ritmo de envejecimiento (además de que casi todos provienen de Tlatelolco). Sin embargo, sería importante analizar con profundidad otros BMs de la EB en hueso en estos mismos individuos para apoyar esta moción.

Si bien la muestra de la población prehispánica es de sólo 22 individuos, los resultados de la eLICD concuerdan con otros trabajos que han señalado, por medio de técnicas tradicionales, una alta mortalidad entre los 30 y 50 años de edad en poblaciones de este tipo (Bullock et al., 2013). No obstante, como también se identificaron tres sujetos por encima del mencionado intervalo de edad, el uso de eLICD, en muestras de población antigua, sería de gran utilidad para corroborar si la distribución de la edad fue como hasta hoy lo hemos pensado. Porque, aunque son contados los registros prehispánicos de personas que alcanzaron edades avanzadas — como por ejemplo *Tlacaélel* (el consejero o *Cihuacóatl* de cuatro tlatoque mexica) quién vivió aproximadamente 90 años, *Huémac* (guía de los aztecas) y *Nezahualcóyotl* (señor de Texcoco) quienes parecen haber muerto alrededor de los 70 años (Vargas, 2012)— no podemos ignorar la reverencia que existía hacia las personas ancianas en el México antiguo y por ende la existencia de personas que alcanzaron la etapa de la vejez.

En este sentido, resulta crucial considerar las causas de mortalidad del pasado para ver si estuvieron asociadas con los procesos y ritmos de envejecimiento a los que nos enfrentamos en la actualidad. No podemos dar por sentado que hoy tenemos mejor calidad de vida que en el pasado sólo porque hay antibióticos y quimioterapia (Van Schaik et al., 2014), ni por los estándares de la vida moderna (comida procesada, alimentos transgénicos, sedentarismo, estrés ambiental, contaminación, toxicidad, sobrepoblación, etc.). Es decir, no debemos asumir que el estilo de vida de las sociedades modernas impactan del mismo modo las estructuras óseas como lo hicieron en las sociedades pretéritas.

Ante esto, en definitiva, el empleo de la eLICD —como marco de referencia cronológica— puede ayudar a entender cómo han ido cambiando los ritmos de envejecimiento a través del tiempo. Además de que tiene el potencial de brindar un mejor conocimiento de la distribución de la edad en las poblaciones pretéritas y modernas sin EC conocida.

Conclusiones

El estudio de la longevidad humana desde una perspectiva evolutiva permitió discurrir sobre cómo se han dado los cambios en la esperanza de vida a lo largo de la evolución del género *Homo*. La hipótesis de la Capacidad de Reserva y los balances energéticos propuestos por Bogin (2009) se utilizaron para explicar cómo diferentes estrategias evolutivas llevaron a la incursión de nuevas etapas de vida antes de alcanzar la madurez sexual. Lo cual produjo ventajas reproductivas, así como de supervivencia en la vida adulta y a su vez repercutieron en la extensión de la misma. Sin embargo, el aumento de la longevidad no puede considerarse sin la evolución de los procesos del envejecimiento. Por ello, la Teoría del Soma Perecedero de Kirwood (1990, 2008) permitió no sólo entender por qué organismos complejos, como los seres humanos, después de la madurez reproductiva, de manera inevitable, incurren en el deterioro, envejecimiento y muerte, sino que también explicó cómo ciertos factores influyen en la longevidad. Por otra parte, del mismo modo como el notorio incremento de la longevidad de *Homo* durante el Paleolítico Superior se ha asociado más con los cambios demográficos y culturales que con los atributos biológicos del taxón (Caspari y Lee, 2006), en la actualidad se reconoce que en los humanos tanto el estilo de vida como los factores medioambientales tienen un papel primordial para que varíe la duración de la vida, así como para que tengan lugar los procesos propios del envejecimiento (Herskind et al., 1996; Hjelmborg et al., 2006; Deelen, et al., 2013).

En este sentido, fue fundamental explicar las diferencias conceptuales entre EC y EB. Se confirmó que la primera, además de fungir como un indicador de la etapa de la vida en la que se encuentra un individuo, sólo puede determinar con precisión el tiempo que transcurre desde el nacimiento hasta un momento específico, como la muerte, pero no lleva de manera intrínseca los procesos del envejecimiento. Mientras que la segunda, la EB, como una expresión cuantitativa, estima el estado funcional global de una persona o su estado general de salud —que depende en más del 50% de su estilo de vida—, en un momento particular de su EC o de su muerte. Además, las diferencias existentes entre EC y EB derivan, tanto de la variabilidad inter-individual del desarrollo somático y de maduración ósea, como de los diferentes ritmos y/o magnitudes individuales en que se presentan los procesos del envejecimiento. De esta forma se reconoció que para medir el 'estado global' o EB de un individuo, en población viva, se hace uso de un conjunto de BMs del organismo que cambian de forma progresiva y casi concomitante con la EC. Asimismo, en las poblaciones del pasado los BMs que se observan en los restos óseos y dentales resultan de diversos procesos fisiológicos normales y de la

influencia sistémica que ejercen los cambios degenerativos de otros órganos y tejidos (Manolagas y Cummings, 2013).

La edad humana, cronológica y biológica, resulta ser un cimiento fundamental en la reconstrucción del perfil biocultural de un individuo y de una sociedad a partir de los restos óseos. Si bien en nuestro campo de estudio, la antropología física, el ideal a alcanzar es un método que nos permita 'determinar' la EC al deceso de un individuo — como un calendario escondido en la médula ósea—, en esta investigación se probó que el método de LICD más que estimar la EB, de manera estricta, pudo estimar la EC.

La revisión exhaustiva sobre la biología del cemento dental permitió entender la naturaleza de la manifestación tangible del tiempo que se presenta en este tejido. En los humanos hay dos tipos principales de cemento que revisten la raíz dental: el cemento acelular de fibras extrínsecas (CAFE) y el cemento celular de fibras intrínsecas (CCFI). El CAFE es considerado como un tejido mineralizado único por su peculiar fisiología y composición, así como por su lento y constante ritmo de formación, que al no ser sujeto a remodelación, continúa creciendo durante toda la vida. En contraste, el CCFI presenta mayor similitud con el tejido óseo, en cuanto a su función, composición y estructura. Además, el cemento, al igual que el resto de los tejidos mineralizados, está sujeto a la homeostasis del fosfato inorgánico para tener un desarrollo y mantenimiento normal. Entre los reguladores encargados de ello se encuentra la vitamina D, la hormona paratiroidea, algunas fosfatoninas y el pirofosfato. Sin embargo, la respuesta del CAFE y CCFI hacia dichos reguladores es, en gran medida, diferente entre sí. Hasta el momento se ha visto, de forma experimental, que la hipofosfatemia y la hipocalcemia no pueden causar la inhibición del CAFE (Foster et al., 2013), al contrario de la hipofosfatasa (Foster et al., 2012).

El patrón de crecimiento de las LICD se situó dentro del contexto de los organismos vivos porque no es una manifestación exclusiva de los humanos. Si bien las LICD han sido reconocidas en muchos otros mamíferos, adjudicando sus causas a una estrategia de conservación de energía, no se puede asumir de manera automática que los seres humanos responden a lo mismo. En estos últimos el depósito anual de las LICD obedece a un ritmo biológico circanual de curso libre, regido por una robusta periodicidad endógena, es decir, que no depende de factores externos para dejar de funcionar. Por lo que, al parecer, el depósito anual de las LICD funciona porque es un residuo de un ritmo biológico que lleva tras de sí una larga trayectoria evolutiva. No obstante, aún falta mucho por investigar sobre la microestructura del CAFE.

Así, por su depósito anual y por su estabilidad fisiológica, las LICD en la población contemporánea con EC conocida sirvieron de manera satisfactoria para estimar la EC, ya que la diferencia promedio entre eLICD y EC fue de 1.95 años. Sin embargo, la falta de exactitud entre la EC y la eLICD se atribuyó a la variabilidad inter-poblacional de la edad de erupción de las piezas dentales y a problemas de índole técnica.

Por otro lado, la evaluación de dos BMs de la EB en hueso, SA y SP, permitieron explorar las diferencias o similitudes que guardan con la EC. Al igual que otras investigaciones previas, los resultados de la comparación entre eSA y eSP con la EC demostraron una falta de concordancia precisa. No obstante, en este trabajo las diferencias entre eSA y eSP con EC se adjudicaron a los diferentes ritmos de envejecimiento de los individuos y no al método *per se*. Las metamorfosis que se observaron en la SP y SA indicaron de manera correcta la etapa de la vida en que se encontraba cada individuo —lo que quizá corre por cuenta de la parte genética—. Sin embargo, como ambas estructuras forman parte del sistema óseo y están en contacto directo con el cartílago, están expuestas a sufrir una degeneración acelerada o retardada que funciona en dependencia de las condiciones generales del organismo.

En las tres poblaciones analizadas, al excluir a los individuos de >60 años, la diferencia entre ambos métodos morfoscópicos con la EC no rebasó los 10 años, lo cual coincidió con lo que Hochschild (1994), en población viva, reportó. Por lo cual de manera hipotética la sub o sobre estimación de eSA y eSP estarían apuntando, respectivamente, al retraso o aceleración del ritmo del envejecimiento. Sin embargo, no puede dejarse de lado que recién se ha descubierto que en personas con cierto tipo de cáncer el envejecimiento puede acelerarse por más de 30 años (Horvath, 2013). En el caso que nos ocupó el ritmo de degeneración en SA y SP no pudo comprobarse, debido a que no se asumió que los procesos de envejecimiento que se manifestaron tanto en la SP como en la SA de las colecciones óseas en que se basaron dicho métodos —norteamericana y británica respectivamente— fueron los mismos que acontecieron en la población mexicana.

La única manera que habría para verificar el ritmo de envejecimiento sería analizar cada uno de los caracteres de la SA y SP en función del tiempo en una población mexicana, independientemente de la población de referencia. Es por ello que no debe esperarse que la estimación de la EB por BMs de hueso tenga una correspondencia precisa con la EC.

El uso de la eLICD en el contexto de la antropología forense, principalmente, permitiría acortar la incertidumbre que generan las otras técnicas de estimación de la edad, debido a que el objetivo primordial de esta área es la identificación de individuos. En cambio para fines que competen más al campo de la bioarqueología, conocer el ritmo de envejecimiento de los individuos de sociedades del pasado puede contribuir a entender las dinámicas de salud-enfermedad y calidad de vida. Para lograr esto, al igual que sucede en las poblaciones vivas, contar con la EC como un BM de la EB es muy importante para que la estimación de esta última sea confiable. Así, tal como se demostró en esta investigación, la eLICD puede fungir como marco cronológico de referencia en las poblaciones pretéritas y del presente que no tengan la EC conocida. Así también la evaluación para estimar la EB de individuos de >60 años resultaría más fructífera si se utiliza la eLICD.

Siguiendo la idea anterior, el uso de la eLICD en poblaciones prehispánicas podría confirmar o refutar la idea de que la esperanza de vida era mucho más corta que la que tenemos hoy en día. De igual manera, la eLICD al contribuir para obtener una eEB confiable abriría la puerta para atisbar sobre cómo han cambiado los procesos de envejecimiento a lo largo del tiempo.

Quizá, el mayor reto que tenemos para entender los cambios del envejecimiento, expresados en el tejido óseo y dental, es tratar con la complejidad. Esto se debe a que son muchos los mecanismos que actúan en diferentes niveles dentro del organismo para contribuir a las modificaciones que se manifiestan en el hueso. Por lo tanto, resulta apremiante cambiar la perspectiva, abrazar dicha complejidad y aprender a transferir el conocimiento que hay en la población viva para ayudar a entender el pasado plasmado en los huesos.

Referencias Bibliográficas

Abiko, Y., Shimizu, N., Yamaguchi, M., Suzuki, H. y Takiguchi, H. (1998). Effect of aging on functional changes of periodontal tissue cells. *Annals of Periodontology* 3, 350–69.

Acscadi, G. y Nemeskeri, N. (1970). *History of Human Life Span and Mortality*. Akademia Kiado, Budapest.

Aerssens, J., Boonen, S., Joly, J. y Dequeker, J. (1997). Variations in trabecular bone composition with anatomical site and age: potential implications for bone quality assessment. *Journal of Endocrinology* 155, 411-421.

Aggarwal, P., Saxena, S. y Bansal, P. (2008). Incremental lines in root cementum of human teeth: an approach to their role in age estimation using polarizing microscopy. *Indian Journal of Dental Research* 19, 326-330.

Aiello, L. y Key, C. (2002). Energetic consequences of being a Homo erectus female. *American Journal of Human Biology* 14, 551-565.

Alicioglu, B., Kartal, O., Gurbuz, H. y Sut, N. (2008). Symphysis pubis distance in adults: a retrospective computed tomography study. *Surgical and Radiologic Anatomy* 30, 153–157.

Alkass, K., Buchholz, B., Ohtani, S. Yamamoto, T., Druid, H. y Spalding, K. (2010). Age estimation in forensic sciences: application of combined aspartic acid racemization and radiocarbon analysis. *Molecular and Cellular Proteomics* 9 (5),1022-30. DOI: 10.1074/mcp.M900525-MCP200.

Allen, J. S. Bruss, J. Damasio, H. (2005). The aging brain: the cognitive reserve hypothesis and hominid evolution. *American Journal of Human Biology* 17, 673-689.

Almagro, J. (1999). *Nuevo microanalysis cuantitativo de metales empleando microscopía electrónica de barrido con dispersión de energías de Rayos X*. Tesis de Doctorado. Departamento de Ciencia de Materiales e Ingeniería Metalúrgica. Universidad complutense de Madrid, España.

Almeida, M. y O'Brien, A. (2013). Basic biology of skeletal aging: Role of stress response pathways. *Journals of Gerontology: Biological Sciences* 68 (10), 1197-1208.

Alonso, G., Varsavsky, M. y Muñoz-Torres, M. (2009). Hipofosfatasia: nuevas perspectivas terapéuticas. *Medicina Clínica* 132 (3), 108-111.

Altmann, J. y Alpert, S. (2003). Variability in reproductive success viewed from a life-history perspective in baboons. *American Journal of Human Biology* 155, 401-409.

Anderson, D., Thompson, D. y Popovich, F. (1976). Age of attainment of mineralization stages of the permanent dentition. *Journal of Forensic Sciences* 21, 191-200.

Arking, R. (2006). *The Biology of Aging: Observations & Principles*. Oxford University Press, Oxford.

Arola, D. y Reprogl, R. (2005). Effects of aging on the mechanical behavior of human dentin. *Biomaterials* 26 (18), 4051-4061.

Austad, S. (2006). Why women live longer than men: sex differences in longevity. *Gender Medicine* 3, 79-92.

Avadhani, A., Tupkari, J., Khambaty, A. y Sardar, M. (2009). Cementum annulations and age determination. *Journal of Forensic Dental Sciences* 1, 73-76.

Azcárate, M. (2007). *Transtorno de estrés postraumático. Daño cerebral secundario a la violencia*. Ediciones Días de Santos, España.

Baba, O., Qin, C., Brunn, J., Jones, J., Wygant, J., McIntyre, B. y Butler, W. (2004). Detection of dentin sialoprotein in rat periodontium. *European Journal of Oral Sciences* 112, 163-170.

Baccino, E., Ubelaker, D., Hayek, L. y Zerilli, A. (1999). Evaluation of seven methods of estimating age at death for mature human skeletal remains. *Journal of Forensic Sciences* 44, 931-936.

Bae, C., Kang, Y., Piao, M., Cho, B., Cho, K., Park, Y., Yu, B., Lee, S., Kim, et al. (2013). Models for estimating the biological age of five organs using clinical biomarkers that are commonly measured in clinical practice settings. *Maturitas* 75, 253-260.

Bajaj, D., Sundaram, N., Nazari, A. y Arola, D. (2006). Age, dehydration and fatigue crack growth in dentin. *Biomaterials* 27 (11), 2507-2517.

Bang, G. y Ramm, E. (1970). Determinations of age in humans from root dentin transparency. *Acta odontologica Scandinavica* 28, 3-35.

Barker, D. (2002). Fetal programming of coronary heart disease. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 13, 364-368.

Barrickman, N., Bastian, M., Isler, K., van Schail, C. (2008). Life history costs and benefits of encephalization: a comparative test using data from long-term studies of primates in the wild. *Journal of Human Evolution* 54, 568-590.

Barzilai, N., Guarante, L., Kirkwood, T., Partridge, L., Rando, T. y Slagboom, P. (2012). The place of genetics in ageing research. *Nature Reviews Genetics* 13, 589-594.

Beertsen, W., van den Bos, T. y Everts, V. (1997). Continuous growth of acellular extrinsic fiber cementum. *Acta Medicinæ Dentium Helvetica* 2, 103-115.

Bentley, G. y Mace, R. editores (2009). *Substitute parents: biological and social perspective on alloparenting across human societies*. Berghahn Books, Oxford.

Berdal, A., Gorter de Vries, I., Hotton, D., Cuisinier-Gleizes, P. y Mathieu, H. (1991). The cellular and extracellular distribution of osteocalcin and dentin phosphoprotein in teeth of vitamin D-deficient rats. *Journal de Biologie Buccale* 19, 45-53.

Berdal, A., Papagerakis, P., Hotton, D., Bailleul-Forestier, I. y Davideau, J. (1995). Ameloblasts and odontoblasts, target-cells for 1,25-dihydroxyvitamin D3: a review. *The International Journal of Developmental Biology* 39, 257-262.

Berg, G. (2008). Pubic bone age estimation in adult women. *Journal of Forensic Sciences* 53 (3), 569-577.

Berndt, T., Schiavi, S. y Kumar, R. (2005). ‘‘Phosphatonins’’ and the regulation of phosphorus homeostasis. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* 289, F1170-1182.

Bertacci, A., Chersoni, S., Davidson, C. y Prati, C. (2007). *In vivo* enamel fluid movement. *European Journal of Oral Sciences* 115 (3), 169-173.

- Bertrand**, B., Colard, T. Naji, S., Marchandise, P., Géant, L. y Falgayrac, G. (2013). μ step by μ step across dental cementum. Microanalysis of the alternating yearly deposits. Poster presentado en *The 82nd Annual Meeting of the American Assotiation of Physical Anthropologist*. Knoxville, Tennessee, 9-13 Abril.
- Bielaczyc**, A. y Golebiewska, M. (1997). Ultrastructural changes of a tooth root in young rats fed a low calcium and vitamin D-deficient diet. *Roczniki Akademii Medycznej w Bialymstoku* 42 Suppl 2, 153-8.
- Bielesz**, B. (2006). Emerging role of a phosphatonin in mineral homeostasis and its derangements. *European Journal of Clinical Investigation* 36(Suppl 2), 34–42.
- Bilgin**, E., Gürgan, C., Nejat, M., Bostanci, H. y Güven, K. (2004). Morphological Changes in Disease Cementum Layers: A Scanning Electron Microscopy Study. *Calcified Tissue International* 74, 476-485.
- Blackburn**, E. (1991). Structure and function of telomeres. *Nature* 350 (6319), 569-573.
- Bocquel-Appel**, J. y Masset, C. (1985). Paleodemography: resurrection or ghost? *Journal of Human Evolution* 14 (2), 107-111.
- Bodecker**, C. (1925). A consideration of some of the changes in the teeth from young to old age. *Dental Cosmos* 67, 543-549.
- Bogin**, B. (1988). *Patterns of human growth*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Bogin**, B. (1999). Evolutionary perspective on human growth. *Annual Review of Anthropology* 28, 109-153.
- Bogin**, B. (2001). *The growth of humanity*. Wiley-Liss, Nueva York.
- Bogin**, B. (2009). Childhood, Adolescence, and Longevity: A Multilevel Model of the Evolution of Reserve Capacity in Human Life History. *American Journal of Human Biology* 21, 567-577.
- Bogin**, B. y Smith, B. (1996). Evolution of the human life cycle. *American Journal of Human Biology* 8, 703-716.
- Bogin**, B., Varela-Silva, M., Rios, L. (2007), Life history trade-offs in human growth: adaptation or pathology? *American Journal of Human Biology* 19, 631-642.

Bohacek, J. y Mansuy, I. (2013). Epigenetic Inheritance of Disease and Disease Risk. *Neuropsychopharmacology Reviews* 38, 220-236.

Bojarun, R., Jankauskas, R. y Garmus, A. (2004). Altersbestimmung mithilfe von Wachstumslinien des Zahnzements. *Rechtsmedizin* 14, 405–408.

Boldsen, J., Milner, G., Konigsberg, L. y Wood, J. (2002). Transition analysis: a new method for estimating age from skeletons. En *Paleodemography: age distributions from skeletal samples* (R. Hoppa, J. Vaupel, eds), pp. 73-106. Cambridge University Press, Cambridge.

Bollheimer, L., Volkert, D., Bertsch, T., Sieber, C. y Büttner, R. (2013). Alternsumkehr und Lebensspannenverlängerung. *Zeitschrift für Gerontologie und Geriatrie* 46, 563-568.

Bosshardt, D. (2005). Are cementoblasts a subpopulation of osteoblasts or a unique phenotype?. *Journal of Dental Research* 84(5), 390-406.

Bosshardt, D. y Schroeder, H. (1991). Establishment of acellular extrinsic fiber cementum on human teeth. A light and electron microscopy study, *Cell and Tissue Research* 263, 325-336.

Bosshardt, D. y Schroeder, H. (1992). Initial formation of cellular intrinsic fiber cementum in developing human teeth. A light- and electronmicroscopic study. *Cell and Tissue Research* 267, 321-335.

Bosshardt, D. y Schroeder, H. (1996). Cementogenesis reviewed: a comparison between human premolars and rodent molars. *The Anatomical Record* 245, 267-292.

Bosshardt, D. y Selvig, K. (1997). Dental cementum: the dynamic tissue covering of the root. *Periodontology 2000* 13, 41-75.

Bosshardt, D. y Nanci, A. (1997). Immunodetection of enamel- and cementum-related (bone) proteins at the enamel-free area and cervical portion of the tooth in rat molars. *Journal of Bone Mineral Research* 12, 367-379.

Bosshardt, D. y Nanci, A. (2000). The pattern of expression of collagen determines the concentration and distribution of noncollagenous proteins along the forming root. En *Chemistry and Biology of Mineralized Tissues: Proceedings of the Sixth International Conference, Vittel, France* (M. Goldberg, A. Boskey y C. Robinson, eds.), pp. 129-136. American Academy of Orthopaedic Surgeons, Rosemont, IL.

Bosshardt, D. y Nanci, A. (2004). Hertwig's epithelial root sheath, enamel matrix proteins, and initiation of cementogenesis in porcine teeth. *Journal of Clinical Periodontology* 31, 184-192.

Bosshardt, D. y Sculean, A. (2009). Does periodontal tissue regeneration really work?. *Periodontology 2000* 51, 208-19.

Boyde, A. (1963). Estimation of age at death of young human skeletal remains from incremental lines in dental enamel. En *Proceedings of the third international meeting in forensic immunology, medicine, pathology and toxicology*, Sesión Plenaria 11A, Londres, Abril 16-24.

Boyde, A. (1989). Enamel. En *Teeth, handbook of microscopic anatomy* (B. Berkovitz et al. eds.), pp. 309-473. Springer, Nueva York.

Bradshaw, W. y Holzapfel, C. (2007). Evolution of animal photoperiodism. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 38, 1–25. doi:10.1146/annurev.ecolsys.37.091305.110115

Braga, B., González, K., Zaffalon, M., Sallum, E. y Nociti, H. (2012). Inflammatory and bone-related genes are modulated by aging in human periodontal ligament cell. *Cytokine* 46 (2), 176-181.

Brooks, S. y Suchey, J. (1990). Skeletal age determination based on the os pubis: a comparison of the Acsadi-Nemeskéri and Suchey–Brooks methods, *Human Evolution* 5, 227–238.

Brothwell, D. (1965). *Digging up bones*. Cornell University Press, Ithaca, Nueva York.

Broucker, A., Colard, T., Blondiaux, J. y Naji, S. (2013). Impact of periodontal disease on cementochronology. Poster presentado en *The 82nd Annual Meeting of the American Assotiation of Physical Anthropologist*. Knoxville, Tennessee, 9-13 Abril.

Buckberry, J. y Chamberlain, A. (2002). Age estimation from the auricular surface of the ilium: a revised method, *American Journal of Physical Anthropology* 119, 231–239.

Bullock, M., Márquez, L., Hernández, P. y Ruíz, F. Paleodemographic Age-at-Death distributions of two mexican skeletal collections: A comparison of transition analysis and traditional aging methods. *American Journal of Physical Anthropology*, DOI: 10.1002/ajpa.22329

Bunn, H. (2007). Meat made us human. En: Evolution of the human diet. *The known, unknown, and the Unknowable*. (Ungar Ps, ed), pp 191-211. Oxford University Press, Nueva York.

Burt, C. y McCartney, C. (2010). Obesity and the pubertal transition in girls and boys. *National Institute of Health* 140(3), 399-410. doi: 10.1530/REP-10-0119.

Bygren, L. (2013). Intergenerational Health Responses to Adverse and Enriched Environments. *Annual Review of Public Health* 34, 49-60.
DOI:10.1146/annurev-publhealth-031912-114419.

Calce, S. y Rogers, T. (2011). Evaluation of age estimation technique: testing traits of the acetabulum to estimate age at death in adult males. *Journal of Forensic Sciences* 56 (2), 302-11.

Calce, S. (2012). A new method to estimate adult age-at-death using the Acetabulum. *American Journal of Physical Anthropology* 148, 11-23.

Cameriere, R., Ferrante, L. y Cingolani, M. (2004). Variations in pulp/tooth área ratio as an indicator of age: a preliminary study. *Journal of Forensic Science* 49, 317-319.

Cameriere, R., Ferrante, L., Belcastro, M., Bonfilioli, B., Rastelli, E. y Cingolani, M. (2007). Age estimation by pulp/tooth ratio in canines by periapical X-ray. *Journal of Forensic Science* 52, 166-170.

Campanacho, V., Santos, A., Cardoso, H. (2012). Assessing the influence of occupational and physical activity on the rate of degenerative change of the pubic symphysis in Portuguese males from the 19th to 20th century. *American Journal of Physical Anthropology* 148, 371-378.

Campisi, G., Chiappelli, M., De Martinis, M., Franco, V., Ginaldi, L., Guiglia, R., et al. (2009). Pathophysiology of age-related diseases. *Immunity & Ageing* 6, 12.
DOI: 10.1186/1742-4933-6-12.

Cannet, C., Baraybar, J., Kolopp, M., Meyer, P. y Ludes, B. (2011). Histomorphometric estimation of age in paraffin-embedded ribs: a feasibility study. *International Journal of Legal Medicine* 125, 493-502.

Cardoso, H., Pereira, V. y Rios, L. (2013). Chronology of fusión of the primary and secondary ossification centers in the human sacrum and age estimation in child and adolescent skeletons. *American Journal of Physical Anthropology*, DOI: 10.1002/ajpa.22422.

Carmody, R. y Wranham, R. (2009). The energetic significance of cooking. *Journal of Human Evolution* 57, 379-391.

Carranza, F. y Bernard, G. (2002). The tooth-supporting structures. En *Carranza's Clinical Periodontology* (M.G. Newman, H. Takei y F.A. Carranza, eds.), pp. 36-57. W.B. Saunders, Philadelphia.

Casey, B., Galvan, A., Hare, T. (2005). Changes in cerebral functional organization during cognitive development. *Current Opinion Neurobiology* 15 (2), 239-244.

Caspari, R. y Lee, S. (2004). Older age becomes common late in human evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 101, 10895-10900.

Caspari, R. y Lee, S. (2006). Is human longevity a consequence of cultural change or modern biology? *American Journal of Physical Anthropology* 129, 512-517.

Castanet, J., Francillon-Vieillot, H., Meunier, F. y Ricqlès, A. (1993). Bone and individual aging. En *Bone. Vol, 7: Bone Growth* (B. Hall, ed.), pp. 245–283. CRC Press, Boca Raton.

Castanet, J., Croci, S., Aujard, F., Perret, M., Cubo, J. y Margerie, E. (2004). Lines of arrested growth in bone and age estimation in a small primate: *Microcebus murinus*. *Journal of Zoology*, London 263, 31-39.

Catros, S., Pothuaud, L., Dard, M. y Fricain, J. (2008). Collagen Fibrils of Human Acellular Extrinsic Fiber Cementum. *Journal of Periodontology* 79, 1095-1100.

Cementochronology Research Program (2013).

«<http://www.cementochronology.com/Cementochronology/Cementochronology.html>»

Chamberlain, A. (2006). *Demography in archaeology*. Cambridge University Press, Cambridge.

Charles, D., Condon, K., Cheverud, J., Buikstra, J. (1986). Cementum annulation and age determination in *Homo sapiens*. I. Tooth variability and observer error. *American Journal of Physical Anthropology* 71(3), 311-20.

Chaussain-Miller, C., Sinding, C., Septier, D., Wolikow, M., Goldberg, M. y Garabedian, M. (2007). Dentin structure in familial hypophosphatemic rickets: benefits of vitamin D and phosphate treatment. *Oral Diseases* 13(5), 482-9.

Chen, F. y Li, W. (2001). Genomic divergences between humans and other hominoids and the effective population size of the common ancestor of humans and chimpanzees. *The American Journal of Human Genetics* 68, 444-456.

Chen, J., Jin, H., Ranly, D., Sodek, J. y Boyan, B. (1999). Altered expression of bone sialoproteins in vitamin D-deficient rBSP2.7Luc transgenic mice. *Journal of Bone Mineral Research* 14, 221-229.

Chinsamy-Turan, A. (2005). *The Microstructure of Dinosaur Bone*. The Johns Hopkins, University Press, Baltimore y Londres.

Chinsamy, A. y Valenzuela, N. (2008). Skeletochronology of the endangered side-neck turtle, *Podocnemis expansa*. *South African Journal of Science* 104, 311–314.

Cho, I., Park, K. y Lim, C. (2010). An empirical comparative study on biological age estimation algorithms with an application of Work Ability Index (WAI). *Mechanisms of Ageing and Development* 131, 69–78.

Cho, M. y Garant, P. (1988). Ultrastructural evidence of directed cell migration during initial cementoblast differentiation in root formation. *Journal of Periodontal Research* 23(4), 268-276.

Cho, M. y Garant, P. (2000). Development and general structure of the periodontium. *Periodontology* 2000 24, 9-27.

Christensen-Dalsgaard, S., Aars, J., Andersen, M. y Lockyer, C. (2010). Accuracy and precision in estimation of age of Norwegian Arctic polar bears (*Ursus maritimus*) using dental cementum layers from known-age individuals. *Polar Biology* 33, 589-597.

Chritz, K., Dyke, G., Zazzo, A., Lister, A., Monaghan, N. y Sigwart, J. (2009). Palaeobiology of an extinct Ice Age mammal: Stable isotope and cementum analysis of giant deer teeth. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 282, 133–144.

Clayden, A., Young, W., Zhang, C., Harbrow, D., Romaniuk, K. y Waters, M. (1994). Ultrastructure of cementogenesis as affected by growth hormone in the molar periodontium of the hypophysectomized rat. *Journal of Periodontal Research* 29, 266-275.

- Condon, K., Charles, D., Cheverud, J. y Buikstra, J. (1986).** Cementum annulation and age determination in *Homo sapiens*. II. Estimates and accuracy. *American Journal of Physical Anthropology* 71(3), 321-30.
- Cool, S., Forwood, M., Campbell, P. y Bennett, M. (2002).** Comparisons between bone and cementum compositions and the possible basis for their layered appearances. *Bone* 30 (2), 386-392.
- Couoh, L. (2013),** Bioarchaeological Analysis of a Royal Burial from the Oldest Maya Tomb in Palenque, Mexico. *International Journal of Osteoarchaeology*,
Doi: 10.1002/oa.2338.
- Cox, M. (2000).** Ageing adults from the skeleton. En *Human osteology in archaeology and forensic science* (M. Cox y S. Mays, eds.), pp. 61-81. Cambridge University Press, Cambridge.
- Crews, D. (2003).** *Human senescence: evolutionary and biocultural perspectives*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Crimmins, E. y Finch, C. (2006).** Infection, inflammation, height, and longevity. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 103, 498-503.
- Crimmins, E., Vasunilashorn, S., Kim, K. y Alley, D. (2008).** Biomarkers related to aging in human populations. En *Advances in Clinical Chemistry* (G. Makowsky, ed.), Vol. 46, pp. 161-216. Academic Press, Burlington.
- Cunha, E., Baccino, E., Martrille, L., Ramsthaler, F., Prieto, J., Schuliar, Y., Lynnerup, N. y Cattaneo, C. (2009).** The problem of aging human remains and living individuals: a review. *Forensic Science International* 193, 1-13.
- DaVanzo, J., Hale, L., Razzaque, A., Rahman, M. (2008).** The effects of pregnancy spacing on infant and child mortality in Matlab, Bangladesh: How they vary by the type of pregnancy outcome that began the interval. *Population Studies* 62, 131-154.
- De Grey, A, Ames, B., Andersen, J., et al. (2002).** Time to talk SENS: critiquing the immutability of human aging. *Annals of the New York Academy of Sciences* 959, 452-462.
- De Lange, T. (2005).** Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes and development* 19 (18), 2100-2110.

De Rooij, S. y Roseboom, T. (2013) The developmental origins of ageing: study protocol for the Dutch famine birth cohort study on ageing. *BMJ Open* 3, e003167. DOI:10.1136/bmjopen-2013-003167.

Dean, M., Leakey, M., Reid, D., Schrenk, F., Schwartz, G., Stringer, C., Walker, A. (2001). Growth processes in teeth distinguish modern humans from *Homo erectus* and earlier hominins. *Nature* 414, 628-631.

Dean, C. y Lucas, V. (2009). Dental and skeletal growth in early fossil hominins. *Annals of human Biology* 36 (5), 545-561.

Deelen, J., Beekman, M., Capri, M., Franceschi, C. y Slagboom, P.E. (2013). Identifying the genomic determinants of ageing and longevity in human population studies: Progress and challenges. *Bioessays* 35, 386-396.

Demirjian, A. y Goldstein, H. (1976). New systems for dental maturity based on seven and four teeth. *Annals of Human Biology* 3, 411-427.

Dias, P., Beaini, T. y Melani, R. (2010). Age estimation from dental cementum incremental lines and periodontal disease. *The Journal of Forensic Odontostomatology* 28, 1:13-21.

Diekwisch, T. (2001). Developmental Biology of Cementum. *International Journal of Developmental Biology* 45, 695-706.

DiGangi, E., Bethard, J., Kimmerle, E. y Konigsberg, L. (2009). A new method for estimating age-at-death from the first rib. *American Journal of Physical Anthropology* 138 (2), 164-76.

Djurić, M., Djonić, D., Nikolić, S., Popović, D. y Marinković, J. (2007). Evaluation of the Suchey-Brooks method for aging skeletons in the Balkans. *Journal of Forensic Sciences* 52, 21-23.

Dobzhansky, T. (1962). *Mankind Evolving*. Yale University Press, New Haven.

Dobzhansky, T. (1973). Nothing in biology makes sense except in the light of evolution. *The American biology teacher* 35, 125–129.

Ellison, P. (2001). *On fertile Ground*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.

Ensrud, K., Palermo, L., Black, D. (1995). Hip and calcaneal bone loss increase with advancing age: longitudinal results from the study of osteoporotic fractures. *Journal of bone and mineral research* 10, 1778–1787.

Fabre, P., Rodrigues, A. Douzery, E. (2009). Patterns of macroevolution among Primates inferred from a supermatrix of mitochondrial and nuclear DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 53, 808-825.

Finch, C. (2007). *The Biology of Human Longevity. Inflammation, Nutrition, and Aging in the Evolution of Lifespans.* Academic Press Elsevier, San Diego.

Finch, C. (2010). Evolution of the human lifespan and diseases of aging: Roles of infection, inflammation, and nutrition. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 107, 1718-1724.

Finch, C. y Sapolsky, R. (1999). The evolution of Alzheimer disease, the reproductive schedule, and apoE isoforms. *Neurobiology of Aging* 20, 407-428.

Finch, C. y Stanford, C. (2004). Meat-adaptive genes and evolution of slow aging in humans. *The Quarterly Review of Biology* 79, 3-50.

Foster, R. y Roenneberg, T. (2008). Human responses to the geophysical daily, annual and lunar cycles. *Current Biology* 18, R784–R794. DOI:10.1016/j.cub.2008.07.003

Foster, B. y Somerman, M. (2012). Cementum. En *Mineralized Tissues in Oral and Craniofacial Science: Biological Principles and Clinical Correlates* (L. McCauley y M. Somerman, eds.), pp. 169-181. John Wiley and Sons, Chichester.

Foster, B., Popowics, T., Fong, H. y Somerman, M. (2007). Advances in Defining Regulators of Cementum Development and Periodontal Regeneration. *Current Topics in Developmental Biology* 78, 47-126.

Foster, B., Tompkins, K., Rutherford, R., Zhang, H., Chu, E., Fong, H. y Somerman, M. (2008). Phosphate: Known and potential roles during development and regeneration of teeth and supporting structures. *Birth Defects Research (Part C)* 84, 281-314.

Foster, B., Nagatomo, K., Nociti, F., Fong, H., Dunn, D., Tran, A., Wang, W., Narisawa, S., Millán, J. y Somerman, M. (2012). Central role of pyrophosphate in acellular cementum formation. *Plos One* 7(6), e3839
DOI:10.1371/journal.pone.00383993

Foster, B., Soenjaya, Y., Nociti, F., Holm, E., Zerfas, P., Wimer, H., Holdsworth, D., Aubin, J., Hunter, G., Goldberg, H. y Somerman, M. (2013). Deficiency in acellular cementum and periodontal attachment in bsp null mice. *Journal of Dental Research* 92 (2), 166-72. DOI: 10.1177/0022034512469026.

Fritts, H. (1976). *Tree Rings and Climate*. The Blackburn Press, Caldwell, NJ.

Fullerton, S. (2000). Apolipoprotein E variation at the sequence haplotype level: Implication for the origin and maintenance of a major human polymorphism. *American Journal of Human Genetics* 67, 881-900.

Furseth, R. y Johansen, E. (1968). A microradiographic comparison of sound and carious human dental cementum. *Archives of Oral Biology* 13, 1197–1206.

Garshelis, D. (1992). Mark-recapture density estimation for animals with large home ranges. En *Wildlife 2001:populations*. (D. McCullough y R. Barrett, eds.), pp. 1098-1111, Elsevier Applied Science, Londres.

Gauthier, J. y Schutkowski, H. (2013). Assessing the application of tooth cementum annulation relative to macroscopic aging techniques in an archaeological sample. *HOMO – Journal of Comparative Human Biology* 64, 42-57.

Gilbert, B. y McKern, T. (1973). A method for aging the female Os pubis. *American Journal of Physical Anthropology* 38, 31-38.

Giraud-Guille, M. (1988). Twisted plywood architecture of collagen fibrils in human compact bone osteons. *Calcified Tissue International* 42,167–180.

Gocha, T. y Schutkowski, H. (2013). Tooth Cementum Annulation for Estimation of Age-at-Death in Thermally Altered Remains. *Journal of Forensic Sciences* 58 (S1), 151-155. DOI: 10.1111/1556-4029.12023

Gogtay, N., Giedd, J., Lusk, L., Hayashi, K., Greenstein, D., Vaituzis, A., Nugent, T., Herman, D., Clasen, L., Toga, A., Rapoport, J., Thompson, P. (2004). Dynamic mapping of human cortical development during childhood through early adulthood. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 101(21), 8174-8179.

Goldsmith, T. (2012). On the Programmed/Non-Programmed Aging Controversy. *Biochemistry (Moscow)*, 77(7):729-732.

Goldsmith, T. (2013). Arguments Against Non-Programmed Aging Theories. *Biochemistry (Moscow)* 78 (9), 971-978.

Goodall, J. (1986). *The Chimpanzees of Gombe: Patterns of Behavior*. Harvard, University Press, Boston.

Gould, S. (1977). *Ontogeny and Phylogeny*. Belknap Press, Harvard University Press, Cambridge, MA.

Grehan, J. y **Schwartz, J.** (2009). Evolution of the second orangutan: Phylogeny and biogeography of hominid origins. *Journal of Biogeography* 31, 1263-1266.

Griffin, R., **Moody, H.,** **Penkman, K.** y **Collins, M.** (2008). The application of amino acid racemization in the acid soluble fraction of enamel to the estimation of the age of human teeth. *Forensic Science International* 175,11-16.

Grosskopf, B. y **McGlynn, G.** (2011). Age diagnosis based on incremental lines in dental cementum: A critical reflection. *Anthropologischer Anzeiger – Journal of Biological and Clinical Anthropology* 68 (3), 275-289.

Grossniklaus U., **Kelly, W.,** **Ferguson-Smith, A.,** **Pembrey, M.** y **Lindquist, S.** (2013). Transgenerational epigenetic inheritance: How important is it? *Nature Reviews: Genetics* 14, 228-235.

Grue, H. y **Jensen, B.** (1979). Review of the formation of the incremental lines in tooth cementum of terrestrial mammals. *Danish Review of Game Biology* 11(3), 1–48.

Guillard, R., **Pollard, A.,** **Sutton, P.** y **Whittaker, D.** (1990). An improved method for age at death determination from the measurement of D-aspartic acid in dental collagen, *Archaeometry* 32, 61-70.

Gurven, M. y **Walker, R.** (2006). Energetic demand of multiple dependents and the evolution of slow human growth. *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences* 273, 1835-841.

Gurven, M. y **Kaplan, H.** (2007) Longevity among hunter-gatherers: a cross-cultural examination. *Population and Development Review* 33 (2), 321-365.

Gurven, M., **Kapla, H.,** **Supa, A. Z.** (2007). Mortality experience of Tsimane Amerindians of Bolivia: Regional variation and temporal trends. *American Journal of Human Biology* 19, 376-398.

Gurven, M., Kapla, H., Winking, J., Finch, C., Crimmins, E. E. (2008). Aging and inflammation in two epidemiological words. *Journal of Gerontology Series A: Biological Science* 63, 196-199.

Gustafson, G. (1950). Age determination on teeth. *The Journal of the American Dental Association* 41,45-54.

Gustafson, G. y Koch, G. (1974). Age estimation up to 16 years of age based on dental development. *Odontologisk Revy* 25, 297-306.

Gwinner, E. (1996). Circadian and circannual programmes in avian migration. *The Journal of Experimental Biology* 199, 39–48.

Hals, E. y Selvig, K. (1977). Correlated electron probe microanalysis and microradiography of carious and normal dental cementum. *Caries Research* 11, 62–75.

Hartnett, K. (2010a). Analysis of age-at-death estimation using data from a new, modern autopsy sample - part I: pubic bone. *Journal of Forensic Sciences* 55, 1145-1151.

Hartnett, K. (2010b). Analysis of age-at-death estimation using data from a new, modern autopsy sample--part II: sternal end of the fourth rib. *Journal of Forensic Sciences* 55 (5), 1152-1156.

Hawkes, K. (2010). How grandmother effects plus individual variation in frailty shape fertility and mortality: Guidance from human-chimpanzee comparisons. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 107, 8977-8984.

Hawkes, K. y O'Connell, J. (2005). How old is human longevity? *Journal of Human Evolution* 49, 650-653.

Hawkes, K., O'Connell, J., Blurton-Jones, N., Alvarez, H., Charnov, E. (1998). Grandmothering, menopause, and the evolution of human life histories. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 95, 1336-1339.

Hawkes, K., Smith, K., y Robson, S. (2009). Mortality and fertility rates in humans and chimpanzees: How within-species variation complicates cross-species comparisons. *American Journal of Human Biology* 21, 578-586.

- Heggberget, T.** (1984). Age determination in the European otter, *Lutra lutra lutra*. *Zeitschrift fur Saugetierkunde-International Journal of Mammalian Biology* 49, 299-305.
- Helm, B., Ben-Shlomo, R., Sheriff, M., Hut, R., Foster, R., Barnes, B. y Dominoni, D.** (2013). Annual rhythms that underlie phenology: biological time-keeping meets environmental change. *Proceedings of The Royal Society B* 280, 20130016. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2013.0016>.
- Hens, S., Rastelli, E. y Belcastro, M.** (2008). Age estimation from the human Os coxa: a test on a documented Italian collection. *Journal of Forensic Sciences* 53, 1040-1043.
- Hens, S. y Belcastro, M.** (2012). Auricular surface aging: a blind test of the revised method on historic Italians from Sardinia. *Forensic Science International* 214, 209.e1-209.e5.
- Hensel, R. y Sørensen, F.** (1980). Age determination of live polar bears. *International Association for Bear Research and Management* 4, 93–100.
- Herskind, A., McGue, M., Holm, N., Sorensen, T., et al.** (1996). The heritability of human longevity: a population-based study of 2872 Danish twin pairs born 1870-1900. *Human Genetics* 97, 319-23.
- Hill, K., Boesch, C., Goodall, J., Pusey, A., Williams, J., Wrangham, R.** (2001). Mortality rates among wild chimpanzees. *Journal of Human Evolution* 40, 437-450.
- Hjelmborg, J., Iachine, I. Skytthe, A., Vaupel, J., et al.** (2006). Genetic influences on human lifespan and longevity. *Human Genetics* 119, 312–321.
- Hochschild, R.** (1989a). Improving the precision of biological age determinations. Part 1. A new approach to calculating biological age. *Experimental Gerontology* 24, 289–300.
- Hochschild, R.** (1989b). Improving the precision of biological age determinations. Part 2. Automatic human test, age norms and variability. *Experimental Gerontology* 24, 301–316.
- Hochschild, R.** (1994). Validating biomarkers of aging-mathematical approaches and results of a 2462-person study. En *Practical Handbook of Human Biologic Age Determination* (A. Bilin, ed.), pp. 93-144. CRC Press, Boca Raton.

Holliday, S., Schneider, B., Galang, M., Fukui, T., Yamane, A., Luan, X. y Diekwisch, T. (2005). Bones, teeth, and genes: a genomic homage to Harry Sicher's "Axial Movement of Teeth". *World Journal of Orthodontics* 6 (1), 61-70.

Hoppa, R. y Vaupel, J. (2002). The Rostock Manifesto for paleodemography: the way from stage to age. En *Paleodemography: Age Distributions from Skeletal Samples* (S. Hoppa y J. Vaupel, eds.), pp. 1-8. Cambridge University Press, Cambridge.

Horvath, S. (2013). DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome Biology* 14, R115. <http://genomebiology.com/2013/14/10/R115>.

Igarashi, Y., Uesu, K., Wakebe, T. y Kanazawa, E. (2005). New method for estimation of adult skeletal age at death from the morphology of the auricular surface of the ilium. *American Journal of Physical Anthropology* 128, 324-339.

Ingram, D., Nakamura, E., Smucny, D., Roth, G. y Lane, M. (2001). Strategy for identifying biomarkers of aging in long-lived species. *Experimental Gerontology* 36, 1025-1034.

Ingram, D. (1988). Key questions in developing biomarkers of aging. *Experimental Gerontology* 23, 429-434.

İşcan, M. (1984). Age estimation from the rib by phase analysis: white males, *Journal of Forensic Science* 29, 1094-1104.

İşcan, M. (1986) Age estimation from the rib by phase analysis: white females, *Journal of Forensic Science* 30, 853-863.

İşcan, M. (1989). *Age Markers in the Human Skeleton*. Charles C. Thomas & Company, Springfield, IL.

Jackes, M. (2000). Building the bases for palaeodemographics analysis: adult age determination. En *Biological anthropology of the human skeleton* (M. Katzenberg y S. Saunders, eds.), pp. 417-466. Wiley, Chichester.

Jakob, C., Seitz, A., Crivelli, A. y Miaud, C. (2002). Growth cycle of the marbled newt (*Triturus marmoratus*) in the Mediterranean region assessed by skeletochronology. *Amphibia-Reptilia* 23, 407-418.

Jankauskas, R., Barakauskas, S. y Bojarun, R. (2001). Incremental lines of dental cementum in biological age estimation. *HOMO – Journal of Comparative Human Biology* 52, 59–71.

Johnson, C., Golden, S. y Kondo, T. (1998). Adaptive significance of circadian programs in cyanobacteria. *Trends in microbiology* 6 (10), 407-10.

Kagerer, P. y Grupe, G. (2001). Age-at-death diagnosis and determination of life-history parameters by incremental lines in human dental cementum as an identification aid. *Forensic Science International* 118, 75-82.

Kaplan, H. y Robson, A. (2009). We age because we grow. *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences* 276, 1837-1844.

Kaplan, H., Hill, K., Lancaster, J. B. y Hurtado, A. M. (2000). A theory of human life history evolution: diet, intelligence, and longevity. *Evolutionary Anthropology* 9, 156-185.

Kaplan, H., Hill, K., Lancaster, J. B. y Robson, A. (2003). Embodied capital and the evolutionary economics of the human lifespan. *Population and Development Review Supplement* 29, 152-182.

Karasik, D., Demissie, S., Cupples, A. y Kiel, D. (2005). Disentangling the genetic determinants of human aging: biological age as an alternative to the use of survival measures, *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences* 60 (85), 574-587.

Karatsoreos, I., Thaler, J., Borgland, S., Champagne, F., Hurd, Y. y Hill, M. (2013). Food for Thought: Hormonal, experiential, and neural influences on feeding and obesity. *The Journal of Neuroscience* 33 (45), 17610-17616.

Kasetty, S., Rammanohar, M. y Raju-Ragavendra, T. (2010). Dental cementum in age estimation: a polarized light and stereomicroscopic study. *Journal of Forensic Sciences* 55, 779–783.

Kennedy, G. (2005). From the ape's dilemma to the weanling's dilemma: early weaning and its evolutionary context. *Journal of Human Evolution* 48, 123-145.

Kerley, E. (1965). The microscopic determination of age in human bone. *American Journal of Physical Anthropology* 23, 149–164.

- Khosla, S.** (2013). Pathogenesis of Age-Related bone loss in humans. *Journals of Gerontology: Medical Sciences* 68 (10), 1226-1235.
- King, J. C.** (2003). The risk of maternal depletion and poor outcomes increases in early or closely spaced pregnancies. *Journal of Nutrition* 133, 1732S-1736S.
- Kinney, J., Nalla, R., Pople, J., Breunig, T. y Ritchie, R.** (2005). Age-related transparent root dentin: mineral concentration, crystallite size, and mechanical properties. *Biomaterials* 26 (16), 3363-3376.
- Kirkwood, T.** (1990). Embodied capital and evolutionary economics of the human lifespan. En: *Genetic effects on aging II* (D. E. Harrison ed.), pp. 9-19, Telford Press, Nueva York.
- Kirkwood, T.** (2005). Understanding the odd science of aging. *Cell* 120, 437-447.
- Kirkwood, T.** (2008). Understanding ageing from an evolutionary perspective. *Journal of Internal Medicine* 263, 117-127.
- Kirkwood, T. y Cremer, T.** (1982). Cyto gerontology since 1881: a reappraisal of August Weismann and a review of modern progress. *Human Genetics* 60, 101-121.
- Kirkwood, T. y Austad, S.** (2000). Why do we age? *Nature* 408 (6809), 233-238.
- Kirkwood, T. y Melov, S.** (2011). On the Programmed/Non-Programmed Nature of Ageing within the Life History. *Current Biology* 21, R701-R707.
DOI 10.1016/j.cub.2011.07.020
- Klemera, P. y Doubal, S.** (2006). A new approach to the concept and computation of biological age. *Mechanisms of Ageing and Development* 127, 240-248
- Klevezal, G.** (1996). *Recording Structures of Mammals: Determination of Age and Reconstruction of Life History*. A.A. Balkema, Rotterdam.
- Köhler, M., Marín-Moratalla, N., Jordana, X., Aanes, R.** (2012). Seasonal bone growth and physiology in endotherms shed light on dinosaur physiology. *Nature* 487, 358-361.
- Konigsberg, L. y Frankenberg, S.** (2013). Bayes in Biological Anthropology. *American Journal of Physical Anthropology* 57, 153-184.

Kramer, K. (2007). Application of an integrated cooperation approach to human cooperative breeders. *Behavioural Processes* 76, 167-169.

Kulminski, A., Ukraintseva, S., Akushevich, I., Arbeev, K., Land, K. y Yashin, A. (2007) Accelerated accumulation of health deficits as a characteristic of aging. *Experimental Gerontology* 42, 963–970.

Kumar, S., Filipski, A., Swarna, V., Walker, A., y Hedges, S. (2005). Placing confidence limits on the molecular age of the human-chimpanzee divergence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (52),18842-7.

Kuo, L., Polson, A., y Kang, T. (2008). Associations between periodontal diseases and systemic diseases: A review of the inter-relationships and interactions with diabetes, respiratory diseases, cardiovascular diseases and osteoporosis. *Public Health* 122, 417–33.

Kvaal, S. y Solhiem, T. (1989). Fluorescence from dentin and cementum in human mandibular second premolars and its relation to age. *Scandinavian Journal of Dental Research* 97, 131-138.

Kvaal, S. y Solhiem, T. (1994). A non-destructive dental method for age estimation. *The Journal of Forensic Odonto-Stomatology* 12, 6-11.

Kvaal S. y Solheim, T. (1995). Incremental lines in human dental cementum in relation to age. *European Journal of Oral Sciences* 103, 225–230.

Lacreuse, A., Chennareddi, L., Gould, K., Hawkes, K., Wijayawardana, S., Easley, K., Herndon, J. (2008). Menstrual cycles continue into advanced old age in the common chimpanzee (*Pan troglodytes*). *Biology of Reproduction* 79, 407-412.

Lam, Y. (2008). Variability in cementum deposition in springbok from the South African Cape. *Journal of Archaeological Science* 35, 1062-1073.

Lamendin, H., Baccino, E. Humbert, J., Tavernier, J., Nossintchouk, R. y Zerilli, A. (1992). A simple technique for age estimation in adult sorpses: the two-criteria dental method. *Journal of Forensic Science* 37 (5), 1373-1379.

Langley-Shirley, N. y Jantz, R. (2010), A Bayesian approach to age estimation in modern Americans from the clavicle. *Journal of Forensic Sciences* 55 (3), 571-83.

Larke, A. y Crews, D. (2006). Parental Investment, Late Reproduction, and Increased Reserve Capacity Are Associated with Longevity in Humans. *Journal of Physiological Anthropology* 25 (1), 119-131.

Laws, R. (1952). A new method for age determination for mammals. *Nature* 169, 972–973.

Leigh, S. (2004). Brain growth, life history, and cognition in primate and human evolution. *American Journal of Primatology* 62, 139-164.

Levenson, J. y Sweatt, J. (2005). Epigenetic mechanism in memory formation. *Nature Review Neuroscience* 6, 108-118.

Levine, M. (2013). Modeling the rate of senescence: Can estimated biological age predict mortality more accurately than chronological age? *Journals of Gerontology: Biological Sciences* 68 (6), 667-674.

Li, H., Bartold, P., Young, W., Xiao, Y. y Waters, M. (2001). Growth hormone induces bone morphogenetic proteins and bone-related proteins in the developing rat periodontium. *Journal of Bone Mineral Research* 16, 1068-1076.

Lieberman, D. (1994). The biological basis for seasonal increments in dental cementum and their application to archaeological research. *Journal of Archaeological Science* 21, 525-539.

Lippitsch, A. y Grupe, G. (2007). Variability of the apposition of the acellular, extrinsic fibre cementum and its influence on the tooth cementum annulation technique in humans: The influence of physical demands and functional morphology. *Documenta Archaeobiologiae* 5, 87–112.

Lottering, N., Reynolds, M., MacGregor, D., Meredith, M. y Gregory, L. (2014). Morphometric modelling of ageing in the human pubic symphysis: Sexual dimorphism in an Australian population. *Forensic Science International* 236, 195.e1-195.e11. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2013.12.041>

Lovejoy, C., Meindl, R., Pryzbeck, T., Mensforth R.P. (1985). Chronological metamorphosis of auricular surface of the ilium: a new method for the estimation of adult skeletal age at death, *American Journal of Physical Anthropology* 23, 144–164.

Low, W. y Cowan, I. (1963). Age determination of deer by annular structure of dental cementum. *Journal of Wildlife Management* 27, 466–471.

- Luan, X., Ito, Y., Diekwisch, T. (2006).** Evolution and Development of Hertwig's Epithelial Root Sheath. *Developmental Dynamics* 235, 1167–1180.
- Lucy, D., Aykroyd, R., Pollard, A. y Solheim, T. (1996).** A Bayesian approach to adult human age estimation from dental observations by Johanson's age changes. *Journal of Forensic Sciences* 41, 189-194.
- Maat, G., Gerretsen, R. y Aarents, M. (2006).** Improving the visibility of tooth cementum annulations by adjustment of the cutting angle of microscopic sections. *Forensic Science International* 159S, S95-S99.
- McLaughlin, C., Matula, G., Cross, R., Halteman, W., Caron, M. y Morris, K. (1990).** Precision and accuracy of estimating age of Maine black bears by cementum annuli. *International Association for Bear Research and Management* 8,415–419.
- MacNeil, R. y Somerman, M. (1999).** Development and regeneration of the periodontium: parallels and contrasts. *Periodontology 2000* 19, 8-20.
- McClearn, G. (1997).** Biomarkers of age and aging. *Experimental Gerontology* 32 (1-2), 87-94.
- Mahjoub, M., Berenbaum, F. y Houard, X. (2012).** Why subchondral bone in osteoarthritis? The importance of the cartilage bone interface in osteoarthritis. *Osteoporosis International* 23 (Suppl 8), S841-S846.
- Manolagas, S. y Almeida, M. (2007).** Gone with the Wnts: beta-catenin, T-cell factor, forkhead box O, and oxidative stress in age-dependent diseases of bone, lipid, and glucose metabolism. *Molecular endocrinology* 21 (11), 2605-14.
- Manolagas, S. y Cummings, S. (2013).** Skeletal Aging: From Bench to Bed Side. *Journal of Gerontology: Biological Sciences* 68(10), 1195-1196.
- Manolagas, S., O'Brien, C. y Almeida, M. (2013).** The role of estrogen and androgen receptors in bone health and disease. *Nature Reviews. Endocrinology* 9, 699-712. doi:10.1038/nrendo.2013.179
- Maples, W. (1989).** *The practical application of age-estimation techniques. En Age markers in the human skeleton* (Işcan, M. ed.), pp 319-324. C.C. Thomas, Springfield, IL.

- Marali, S.,** Wisshak, M., López, M. y Freiwald, A. (2013). Skeletal microstructure and stable isotope signature of three bathyal solitary cold-water corals from the Azores. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 373, 25–38.
- Marín-Moratalla, N.,** Jordana, X. y Köhler, M. (2013). Bone histology as an approach to providing data on certain key life history traits in mammals: Implications for conservation biology. *Mammalian Biology* 78, 422– 429.
- Matson, G.** (1985). *Workbook for cementum analysis*. Matson's Milltown, Montana.
- Mays, S.** (1998). *The archaeology of human bones*. Routledge, Londres.
- Mays, S.** (2012). An Investigation of Age-Related Changes at the Acetabulum in 18th–19th Century AD Adult Skeletons From Christ Church Spitalfields, London. *American Journal of Physical Anthropology* 149, 485-492.
- McDade, T.** (2005). Life history, maintenance, and the early origins of immune function. *American Journal of Human Biology* 17, 81-94.
- McDougall, I.,** Brown, F.H., y Fleagle, J.G. (2005). Stratigraphic placement and age of modern humans from Kibish, Ethiopia. *Nature* 433 (7027), 733-6.
- McKern, T.** y Stewart, T. (1957). Skeletal age changes in young American males. *U.S. Army Quartermaster Research and Development Command, Technical Report, EP-45*, Natick, Massachusetts.
- McLaughlin, C.,** Matula, G., Cross, R., Halteman, W., Caron, M. y Morris, K. (1990). Precision and accuracy of estimating age of Maine black bears by cementum annuli. *International Association for Bear Research and Management* 8,415–419.
- Medawar, P.** (1952). *An Unsolved Problem in Biology*. H.K. Lewis, Londres.
- Meindl, R.** y Lovejoy, C. (1985). Ectocranial suture closure: a revised method for the determination of skeletal age at death based on the lateral-anterior sutures, *American Journal of Physical Anthropology* 68, 57–66.
- Meinl, A.,** Huber, C., Tangl, S., Gruber, G., Teschler-Nicola, M. y Watzek, G. (2008). Comparison of the validity of three dental methods for the estimation of age at death. *Forensic Science International* 178, 96–105.

Melcher, A. (1985). Cells of periodontium: Their role in the healing of wounds. *Annals of the Royal College of Surgeons of England* 67 (2), 130-131.

Merczi, M., Marcsik, A., Bernert, Z., Józsa, L., Buczkó, L., et al. (2014). Skeletal Metastatic Carcinomas from the Roman Period (1st to 5th Century AD) in Hungary. *Pathobiology* 81(2), 100-11. Doi: 10.1159/000357435.

Milne, E. (2006). When does human ageing begin? *Mechanisms of Ageing and Development* 127, 290-297.

Milner, G. y Boldsen, J. (2012). Transition Analysis: a validation study with known-age modern American Skeletons. *American Journal of Physical Anthropology* 148, 98-110.

Mitnitski, A., Song, X. y Rockwood, K. (2013). Assessing biological aging: the origin of deficit accumulation. *Biogerontology* 14, 709-717.

Mitnitski, A., Mogilner, A. y Rockwood, K. (2001). Accumulation of deficits as a proxy measure of aging. *The Scientific World Journal* 1, 323-336.

Mitteldorf, J. (2010). Programmed and Non-Programmed Theories of Aging. *Russian Journal of General Chemistry* 80 (7), 1465-1475.

Miura, J., Nishikawa, K., Kubo, M., Fukushima, S., Hashimoto, M., Takeshige, F. y Araki, T. (2014). Accumulation of advanced glycation end-products in human dentine. *Archives of Oral Biology* 59(2), 119-124.

Miyazaki, Y., Nisimura, T. y Numata, H. (2012) Circannual rhythm in the varied carpet beetle, *Anthrenus verbasci*. En *Neurobiology of circadian timing* (R. Foster, A. Kalsbeek, M. Merrow y T. Roenneberg, eds), pp. 439-456. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.

Mohan, S. y Baylink, D. (1997). Serum insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)-4 and IGFBP-5 levels in aging and age-associated diseases. *Endocrine* 7, 87-91.

Molinari, L., Gasser, T. y Largo, R. (2013). A comparison of skeletal maturity and growth. *Annals of Human Biology* 40 (4), 333-340.

- Moraitis, K., Zorba, E., Eliopoulos, C. y Fox, S. (2014).** A test of the revised auricular surface aging method on a modern european population. *Journal of Forensic Sciences* 59 (1), 188-194. doi: 10.1111/1556-4029.12303
- Morris, P. (1972).** A review of mammalian age determination methods. *Mammal Review* 2, 69-104.
- Mouri, Y., Shiba, H., Mizuno, N., Noguchi, T., Ogawa, T. y Kurihara, H. (2003).** Differential gene expression of bone-related proteins in epithelial and fibroblastic cells derived from human periodontal ligament. *Cell Biology International* 27 (7), 519-24.
- Mulhern, D. y Jones, E. (2005).** Test of revised method of age estimation from the auricular surface of the ilium. *American Journal of Physical Anthropology* 126, 61-66.
- Muller, F., Lustgarten, M., Jang, Y., Richardson, A. y Van Remmen, H. (2007).** Trends in oxidative aging theories. *Free radical biology and medicine* 43 (4), 477-503.
- Murray, K. y Murray, T. (1991).** A test of the auricular surface aging technique. *Journal of Forensic Sciences* 36, 1162-1169.
- Murray, P., Stanley, H., Matthews, J., Sloan, A. y Smith, A. (2002).** Age-related odontometric changes of human teeth. *Journal of Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology* 93 (4), 474-82.
- Nagaoka, T. y Hirata, K. (2008).** Demographic structure of skeletal populations in historic Japan: a new estimation of adult age-at-death distributions based on the auricular surface of the ilium. *Journal of Archaeological Science* 35, 1370-1377.
- Nakanishi, N., Ichinose, F., Higa, G. y Izawa, M. (2009).** Age determination of the Iriomote cat by using cementum annuli. *Journal of Zoology* 279, 338-348.
- Nanci, A. (1999).** Content and distribution of noncollagenous matrix proteins in bone and cementum: relationship to speed of formation and collagen packing density. *Journal of Structural Biology* 126, 256-269.
- Nanci, A. y Somerman, M. (2003).** Periodontium. En *Ten Cate's Oral Histology: Development, Structure and Function* (A. Nanci, ed.), pp. 239-267. Harcourt Health Sciences, St. Louis.
- Nor, F., Pastor, R. y Schutkowski, H. (2013).** Age at death estimation from bone histology in Malaysian males. *Medicine, Science and the Law*, Nov. 4.

Nývltová, M. (2013). Seasonality of Gravettian sites in the Middle Danube Region and adjoining areas of Central Europe. *Quaternary International* 294, 120-134.

Obertová, Z. y Francken, M. (2009). Tooth cementum annulation method: accuracy and applicability. En *Comparative Dental Morphology* (Koppe, T., Meyer, G., Alt, K. eds.), pp. 184–189, *Frontiers Oral Biology*, vol. 13. Karger, Basel.

Oeppen, J. y Vaupel, J. W. (2002). Demography. Broken limits to life expectancy. *Science* 296, 1029-1031.

Ogino, T., Ogino, H. y Nagy, B. (1985). Application of aspartic acid racemization to forensic odontology: post mortem designation of age at death, *Forensic Science International* 29, 259-267.

Ohtani, S. (1995). Estimation of age from dentin by utilizing the racemization of aspartic acid: influence of pH, *Forensic Science International* 75, 181-187.

Olney, R. (2003). Regulation of bone mass by growth hormone. *Medical and Pediatric Oncology* 41, 228-234.

Olshansky, S., Passaro, D., Hershov, R., et al. (2005). A potential decline in life expectancy in the United States in the 21st century. *The New England journal of medicine* 352, 1138–1145.

Olza, J., Aguilera, C., Gil-Campos, M., Leis, R., Bueno, G., Valle, M., Cañete, R., Tojo, R., Moreno, L., Gil, A. (2014). Waist-to-height ratio, inflammation and CVD risk in obese children. *Public Health Nutrition* 2, 1-8.

Olze, A., Bilang, D., Schmidt, S., Wernecke, K, Geserick, G. y Schmeling, A. (2005). Validation of common classification systems for assessing the mineralization of third molars. *International Journal of Legal Medicine* 119 (1), 22-26.

Onishi, T., Okawa, R., Murakami, H., Ogawa, T., Ooshima, T. y Wakisaka, S. (2003). Immunolocalization of calbindin D28k and vitamin D receptor during root formation of murine molar teeth. *The Anatomical Record* 273 (A), 700-704.

Ornish, D., Lin, J., Chan, J., Epel, E., et al. (2013). Effect of comprehensive lifestyle changes on telomerase activity and telomere length in men with biopsy-proven low-risk prostate cancer: 5-year follow-up of a descriptive pilot study. *The Lancet Oncology* 14 (11), 1112-1120.

- Ouyang, H., McCauley, L., Berry, J., Saygin, N., Tokiyasu, Y. y Somerman, M.** (2000). Parathyroid hormone-related protein regulates extracellular matrix gene expression in cementoblasts and inhibits cementoblast mediated mineralization in vitro. *Journal of Bone and Mineral Research* 15, 2140-2153.
- Park, S., Wang, D., Zhang, D., Romberg, E. y Arola, D.** (2008). Mechanical properties of human enamel as a function of age and location in the tooth. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 19 (6), 2317-2324.
- Pavón, M., Cucina, A. y Tiesler, V.** (2010). New formulas to estimate age at death in Maya populations using histomorphological changes in the fourth human rib. *Journal of Forensic Sciences* 55 (2), 473-7.
- Paynter, K. y Pudy, G.** (1958). A study of the structure, chemical nature, and development of cementum in the rat. *The Anatomical Record* 131 (2), 233-251.
- Pereira, M. y Fairbanks, L.** (1993). *Juvenile primates: life history, development, and behavior*. Oxford University Press, Nueva York.
- Pereira, M. y Fairbanks, L.** (2002). *Forward 2002: Family, friends, and the evolution of childhood. En Pereira, M. E. Fairbanks, L. A. Eds. Juvenile primates: life history, development, and behavior*. Oxford University Press, Nueva York.
- Pike-Tay, A. y Ma, X.** (2013). A pilot study in Odontochronology for the pig domestication question in North-Central China. *International Journal of Osteoarchaelogy* 23, 590-599.
- Pundir, S., Saxena, S. y Aggrawal, P.** (2009). Estimation of age based on tooth cementum annulations using three different microscopic methods. *Journal of Forensic Dental Sciences* 1, 82–87.
- Quarles, L.** (2003). FGF23, PHEX and MEPE regulation of phosphate homeostasis and skeletal mineralization. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* 285 (1), E1-9.
- Rai, B., Kaur, J. y Jain, R.** (2010a). New classification of dental age estimation from first molar for Indian population. *The Journal of Forensic Odonto-Stomatology* 2, 12-14.

Rai, B., Kaur, J., Cingolani, M., Ferrante, L. y Cameriere, R. (2010b). Age estimation in children by measurement of open apices in teeth: an Indian formula. *International Journal of Legal Medicine* 124 (3), 237-241.

Rai, B. y Kaur, J. (2013). Dental Age Estimation. En *Evidence-Based Forensic Dentistry*, pp. 35-63. DOI 10.1007/978-3-642-28994-1_3, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.

Rajendran, M., Priyadarshini, V. y Arora, G. (2013). Is immunesenescence a contributing factor for periodontal diseases? *Journal of Indian Society of Periodontology* 17 (2),169-174.

Rajkumari, S., Nirmal, M., Sunil, P. y Smith, A. (2013). Estimation of age using aspartic acid racemization in human dentin in Indian population. *Forensic Science International* 228, 38-41.

Regalado, L. (2005). *Líneas incrementales del cemento dental humano y su relación con la edad cronológica*. Tesis de Maestría en Ciencias Odontológicas Básicas, Facultad de Odontología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

Ricklefs, R. (2007). *The Economy of Nature*. 5th ed. Freeman, Nueva York.

Rissech, C., Estabrook, G., Cunha, E. y Malgossa, A. (2006). Using the acetabulum to estimate age at death of adult males, *Journal of Forensic Science* 51, 213–229.

Rissech, C., Wilson, J., Winburn, A.P., Turbón, D. ySteadman, D. (2012). A comparison of three established age estimation methods on an adult Spanish sample. *International Journal of Legal Medicine* 126 (1), 145-155.

Ritchie, H., Park, H., Liu, J., Bervoets, T. y Bronckers, A. (2004). Effects of dexamethasone, vitamin A and vitamin D3 on DSP-PP mRNA expression in rat tooth organ culture. *Biochimica et Biophysica Acta* 1679 (3), 263-71.

Robbins, G., Brandt, E. y Lukacs, J. (2012). Cementum annulations, age estimation, and demographic dynamics in Mid-Holocene foragers of North India. *HOMO – Journal of Comparative Human Biology* 63, 94-109.

Robinson, C., Kirkham, J. y Shore, R. (1995). *Dental Enamel: Formation to Destruction*. CRC Press, Boca Raton.

Robson, A. y Kaplan, H. (2003). The evolution of human longevity and intelligence in hunter-gatherer economies. *American Economic Review* 93, 150-169.

Robson, S. y Wood, B. (2008). Hominin life history: Reconstruction and evolution. *Journal of Anatomy* 212, 394-425.

Rockwood, K., Mitnitski, A. y Song, X. (2011). Changes in relative fitness and frailty across the adult lifespan: evidence from the Canadian National Population Health Survey. *Canadian Medical Association journal* 59, 814–821.

Roff, D. (2002). *Life History Evolution*. Sinauer Associates Inc., Sunderland.

Rogers, L. (1978). Interpretation of cementum annuli in first premolars of bears. *Proceedings Eastern Workshop on Black Bear Research and Management* 4,102–112.

Roksandic, M., Vlak, D., Schillaci, M. y Voicu, D. (2009). Technical note: applicability of tooth cementum annulation to an archaeological population. *American Journal of Physical Anthropology* 140, 583–588.

Romo, R., Pérez, S., Herrera, M., Hernández, M., Bribiesca, M. y Rubio, J. (2002). Cronología de erupción dental en población escolar. *Vertientes. Revista Especializada en Ciencias de la Salud* 5 (1-2), 43-48.

Rosenberg, K. Zuné, L. Ruff, C. (2006). Body size, body proportions, and encephalization in a middle Pleistocene archaic human from northern China. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 103, 3552-3556.

Ross, A. y Kimmerle, E.(2009). Contribution of Quantitative Methods in Forensic Anthropology. En *A New Era Digging Deeper: Current Trends and Future Directions in Forensic Anthropology and Archaeology* (S. Blau y D. Ubelaker, eds.), pp. 479-489. Left Coast Press, Inc., Walnut Creek, California.

Rossi, P., Marzani, B., Giardina, S., Negro, M. y Marzatico, F. (2008). Human skeletal muscle aging and the oxidative system: celular events. *Current aging science* 1 (3), 182-91.

Rougé-Maillart, C., Telmon, N., Rissech, C., Malgosa, A. y Rougé, D. (2004). The determination of male adult age at death by central and posterior coxal analysis: a preliminary study, *Journal of Forensic Science* 49, 208–214.

Rougé-Maillart, C., Vielle, B., Jousset, N., Chappard, D., Telmon, N. y Cunha, E. (2009). Development of a method to estimate skeletal age at death in adults using the acetabulum and the auricular surface on a Portuguese population. *Forensic Science International* 188 (1-3), 91-5.

Ruff, C., Trinkhaus, E, Walker y A. Larsen, C. (1993). Postcranial robusticity in Homo. I. Temporal trends and mechanical interpretation. *American Journal of Physical Anthropology* 91, 21-53.

Ruiz-Torres, A., Agudo, A., Vicent, D. y Beier, W. (1990). Measuring human aging using a two-compartmental mathematical model and the vitality concept. *Archives of gerontology and geriatrics* 10 (1), 69-76.

Russell, S. y Ship, J. (2008). Normal oral mucosal, dental, periodontal, and alveolar bone changes associated with aging. En *Improving Oral Health for the Elderly* (I. Lamster y M. Northridge eds.). Springer.

San Millán, M., Rissech, C. y Turbón, D. (2013). A test of Suchey-Brooks (pubic symphysis) and Buckberry-Chamberlain (auricular surface) methods on an identified Spanish sample: paleodemographic implications. *Journal of Archaeological Science* 40, 1743-1751.

Sander, P. y Andrassy, P. (2006). Lines of arrested growth and long bone histology in Pleistocene large mammals from Germany: what do they tell us about dinosaur physiology? *Palaeontographica Section A* 277, 143–159.

Santos, A. (1996). How old is this pelvis? A comparison of age at death estimation using the auricular surface of the ilium and Os pubis. En *Aspects of African Archaeology* (G. Pwiti y R. Soper, eds.). Proceedings of the 10th Congress of the Pan African Association for Prehistory and Related Studies, Zimbabwe, pp. 29-36.

Saunders, S., Fitzgerald, C., Rogerts, T., Dudar, C. y McKillop, H. (1992). A test of several methods of skeletal age estimation using a documented archaeological sample. *Journal of the Canadian Society of Forensic Science* 25, 97-118.

Saygin, N., Giannobile, W. y Somerman, M. (2000). Molecular and cell biology of cementum. *Periodontology* 2000 24, 73-98.

Scheffer, V. (1950). Growth layers on the teeth of Pinipedia as an indication of age. *Science* 112, 309–311.

Schenk, R. y Buser, D. (1998). Osseointegration: a reality. *Periodontology 2000* 17, 22-35.

Schour, I. y Massler, M. (1941). The development of the human dentition. *Journal of the American Dental Association* 28, 1153-1160.

Sherrard-Smith, E. y Chadwick, E. (2010). Age structure of the otter (*Lutra lutra*). Population in England and Wales, and Problems with the Cementum Ageing. *IUCN Otter Specialist Group Bulletin* 27 (1), 42-49.

Schiavi, S. y Kumar, R. (2004) The phosphatonin pathway: new insights in phosphate homeostasis. *Kidney International* 65 (1), 1-14.

Schmitt, A. (2004). Age-at-death assessment using the os pubis and the auricular surface of the ilium: a test on an identified Asian sample. *International Journal of Osteoarchaeology* 14, 1-6.

Schöne, B. y Gillikin, D. (2013). Unraveling environmental histories from skeletal diaries – Advances in sclerochronology. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 373, 1–5.

Schroeder, H. (1992). Biological problems of regenerative cementogenesis: synthesis and attachment of collagenous matrices on growing and established root surfaces. *International Review Cytology* 142, 1-59.

Schulz, R., Zwiesigk, P., Schiborr, M., Schmidt, S. y Schmeling, A. (2008). Ultrasound studies on the time course of clavicular ossification. *International Journal of Legal Medicine* 122, 163–167.

Seeman, E. y Delmas, P. (2006). Bone quality—the material and structural basis of bone strength and fragility. *The New England journal of medicine* 354, 2250–2261.

Seeman, E. (2013). Age- and menopause – related bone loss compromise cortical and trabecular microstructure. *Journals of Gerontology: Biological Sciences* 68 (10): 1218-1225.

Selvig, K. (1990) Ultrastructural changes in periodontal disease. En *Contemporary periodontics* (R.J. Genco, H.M. y D.W. Goldman, eds.), pp. 82–96. Mosby, St. Louis.

Senawongse, P., Otsuki, M., Tagami, J. y Mjör, I. (2006). Age-related changes in hardness and modulus of elasticity of dentine. *Archives of Oral Biology* 51 (6), 457-463.

Seo, B., Miura, M., Gronthos, S., Bartold, P., Batouli, S., Brahim, J., Young, M., Robey, P., Wang, C. y Shi, S. (2004). Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet* 364 (9429), 149-155.

Sellan, J. y Berenbaum, F. (2013). Is osteoarthritis a metabolic disease? *Joint Bone Spine* 80, 568-573.

Shapland, F. y Lewis, M. (2013). A Proposed Osteological Method for the Estimation of Pubertal Stage in Human Skeletal Remains. *American Journal of Physical Anthropology* 151, 302-310.

Shapland, F. y Lewis, M. (2014). A Proposed Method for the Assessment of Pubertal Stage in Human Skeletal Remains Using Cervical Vertebrae Maturation. *American Journal of Physical Anthropology* 153 (1), 144-153. DOI: 10.1002/ajpa.22416.

Sharpless, N. y DePinho, R. (2007). How stem cells age and why this makes us grow old. *Nature reviews. Molecular Cell Biology* 8 (9), 703-13.

Shiau, H, Aichelmann-Reidy, M. y Reynolds, M. (2014). Influence of sex steroids on inflammation and bone metabolism. *Periodontology 2000*, 64(1):81-94.

Shirley, N. y Jantz, R. (2011). Spheno-occipital synchondrosis fusion in modern Americans. *Journal of Forensic Sciences* 56 (3), 580-5.

Shirley, N., Fazlollah, A. y Tersigni-Tarrant, M. (2013). Age Estimation Methods. En *Forensic Anthropology: An Introduction* (M.Tersigni-Tarrant y N. Shirley, eds.), pp. 161–180. CRC Press, Boca Raton.

Shour, I. y Massler, M. (1941). The development of the human dentition. *The Journal of the American Dental Association* 28, 1153-1160.

Simon, S., Tomson, P. y Berdal, A. (2014). *Regenerative Endodontics: Regeneration or Repair?* *Journal of Endodontics* 40-4S, S70-75.

Slagboom, P., Beekman, M., Passtoors, W., Deelen, J., et al. (2011). Genomics of human longevity. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 366, 35-42.

- Slavkin, H.** (1975). Towards a cellular and molecular understanding of periodontics. Cementogenesis revisited. *Journal of Periodontology* 47(5), 249-255.
- Smid, J., Rowland, J., Young, W., Daley, T., Coschigano, K., Kopchick, J. y Waters, M.** (2004). Mouse cellular cementum is highly dependent on growth hormone status. *Journal of Dental Research* 83, 35-39.
- Soni, N., Van Huysen, G. y Swenson, H.** (1962). A microradiographic and x-ray densitometric study of cementum. *Journal of Periodontology* 33, 372-378.
- Stearns, S.** (1992). *The evolution of life histories*. Oxford University Press, Oxford.
- Stott, G., Sis, R. y Levy, B.** (1982). Cemental annulation as an age criterion in forensic dentistry. *Journal of Dental Research* 61, 814-817.
- Stout, S., Dietze, W., Iscan, M. y Loth, S.** (1994). Estimation of age at death using cortical histomorphometry of the sterna end of the fourth rib. *Journal of Forensic Sciences* 39, 778-84.
- Stutz, A.** (2002). Polarizing microscopy identification of chemical diagenesis in archaeological cementum. *Journal of Archaeological Science* 29, 1327-1347.
- Suttie, J. y Webster, J.** (1995). Extreme seasonal growth in arctic deer: comparisons and control mechanisms. *American Zoologist* 35, 215-221.
- Talavera, A., Lara, I., Olvera, R., García, S. y Silva, M.** (2006). *Catálogo San Nicolás Tolentino. Una colección osteológica contemporánea mexicana*. Instituto Nacional de Antropología e Historia, México.
- Tanner, J., Healy, M., Goldstein, H. y Cameron, N.** (2001). *Assessment of skeletal maturity and prediction of adult height (Tw3 method)*. Harcourt Publishers, Londres.
- Ten Cate, A.** (1997). The development of the periodontium, a largely ectomesenchymally derived unit. *Periodontology 2000* 13, 9-19.
- Ten Cate, A.** (1998). *Oral Histology: Development, Structure, and Function*. Mosby, Saint Louis.
- Tenorio, D., Hughes, F.** (1996). An immunohistochemical investigation of the expression of parathyroid hormone receptors in rat cementoblasts. *Archives of Oral Biology* 41, 299-305.

Thomas, H. (1995). Root formation. *International Journal of Developmental Biology* 39, 231-237.

Thompson, R., Allam, A., Lombardi, G., Wann, L. Sutherland, M., et al. (2013). Atherosclerosis across 4000 years of human history: the Horus study of four ancient populations. *Lancet* 381 (9873), 1211-22. Doi: 10.1016/S0140-6736(13)60598-X.

Todd, T. (1920). Age changes in the pubic bone I: The male white pubis. *American Journal of Physical Anthropology* 3, 285-334.

Toyosawa, S., Kanatani, N., Shintani, S., Kobata, M., Yuki, M., Kishino, M., Ijuhin, N. y Komori, T. (2004). Expression of dentin matrix protein 1 (DMP1) during fracture healing. *Bone* 35 (2), 553-61.

Trubistsyn, A. (2013). The Joined Aging Theory. *Advances in Gerontology* 3(3), 155-172.

Tucker, A. y Fraser, G. (2014). Evolution and developmental diversity of tooth regeneration. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.semcd.2013.12.013>

Tumarkin-Deratzian, A. (2007). Fibrolamellar bone in wild adult Alligator mississippiensis. *Journal of Herpetology* 41, 341–345.

Tütken, T., Pfretzschner, H., Vennemann, T., Sun, G. y Wang, Y. (2004). Paleobiology and skeletochronology of Jurassic dinosaurs: implications from the histology and oxygen isotope compositions of bones. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 206, 217– 238.

United Nations. (2012). *World Population Prospects: The 2012 Revision Population Database* «<http://esa.un.org/wpp/>»

Vaupel, J. (2010). Biodemography of human ageing. *Nature* 464, 536-542.

Van den Bos, T., Handoko, G., Niehof, A., Ryan, L., Coburn, S., Whyte, M. y Beertsen, W. (2005). Cementum and dentin in hypophosphatasia. *Journal of Dental Research* 84 (11), 1021-1025.

Van Schaik, K., Vinichenko, D. y Rühli, F. (2014). Health Is not always written in bone: Using a modern comorbidity Index to assess disease load in Paleopathology. *American Journal of Physical Anthropology*, DOI: 10.1002/ajpa.22494.

Vargas, L. (2012). Las condiciones bioculturales y el envejecimiento. En *Envejecimiento y salud: una propuesta para un plan de acción* (L. Gutiérrez y D. Kershenovich, coord.), pp. 103-120. Universidad Nacional Autónoma de México, México.

Veenendaal, M., Painter, R., de Rooij, S., Bossuyt, P., van der Post, J., Gluckman, P., Hanson, M. y Roseboom, T. (2013). Transgenerational effects of prenatal exposure to the 1944-45 Dutch famine. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 120, 548-554.

Villa, C., Hansen, M., Buckberry, J., Cattaneo, C. y Lynnerup, N. (2013). Forensic age estimation based on the trabecular bone changes of the pelvic bone using post-mortem CT. *Forensic Science International* 233, 393-402.

Visser, M., Caro, S., van Oers, K., Schaper, S. y Helm, B. (2010). Phenology, seasonal timing and circannual rhythms: towards a unified framework. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365, 3113-3127. DOI:10.1098/rstb.2010.0111

Wade, A., Nelson, A., Garvin, G. y Holdsworth, D. (2011). Preliminary radiological assessment of age-related change in the trabecular structure of the human os pubis. *Journal of Forensic Sciences* 56 (2), 312-9.

Wedel, V. (2007). Determination of season at death using dental cementum increment analysis. *Journal of Forensic Sciences* 52, 1334-1337.

Wildman, D., Uddin, M., Liu, G., Grossman, L., Goodman, M. (2003). Implications of natural selection in shaping 99.4% nonsynonymous DNA identity between human and chimpanzees: Enlanguing genus Homo. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 100, 7181-7188.

Willard, L. y Sothorn, R. (2006). *Introducing Biological Rhythms*. Springer, Estados Unidos.

Williams, G. (1957). Pleiotropy, natural selection, and the evolution of senescence. *Evolution* 11, 398-411.

Willcox, D., Scapagnini, G. y Willcox, B. (2014). Healthy aging diets other than the Mediterranean: A focus on the Okinawan diet. *Mechanisms of Ageing and Development*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.mad.2014.01.002>

Wilson, D. y **Wilson, E.** (2007). Rethinking the theoretical foundation of sociobiology. *The Quarterly Review of Biology* 82, 327-348.

Wittwer-Backofen, U. (2012). Age estimation using tooth cementum annulation. En *Forensic Microscopy for Skeletal Tissues: Methods and Protocols* (L. Bell, ed.). *Methods in Molecular Biology*, vol. 915. pp. 129-143. DOI 10.1007/978-1-61779-977-8_8, Springer Science+Business Media.

Wittwer-Backofen, U. y **Buba, H.** (2002). Age estimation by tooth cementum annulation: perspectives of a new validation study. En *Paleodemography. Age distributions from skeletal samples* (R. Hoppa, y J. Vaupel, eds.), pp. 107–128. *Cambridge Studies in Biological and Evolutionary Anthropology*, Cambridge.

Wittwer-Backofen, U., Gampe, J. y **Vaupel, J.** (2004). Tooth Cementum Annulation for Age Estimation: Results from a Large Known-Age Validation Study. *American Journal of Physical Anthropology* 123, 119–129.

Wittwer-Backofen, U., Buckberry, J., Czarnetzki, A., Doppler, S., Grupe, G., Hotz, G., Kemkes, A., Larsen, C.S., Prince, D., Wahl, J., Fabig, A. y **Weise, S.** (2008). Basics in paleodemography: a comparison of age indicators applied to the Early Medieval skeletal sample of Lauchheim. *American Journal of Physical Anthropology* 137, 384–396.

Wiweko, B., Prawesti, D., Hestiantoro, A., Sumapraja, K., Natadisastra, M. y **Baziad, A.** (2013). Chronological age vs biological age: an age-related normogram for antral follicle count, FSH and anti-Mullerian hormone. *Journal of assisted reproduction and genetics* 30 (12), 1563-7. Doi: 10.1007/s10815-013-0083-1.

Wood, B. (2010). Reconstructing human evolution: Achievements, challenges, and opportunities. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 107, 8902-8909.

Wrangham, R. (2009). *Catching fire: How Cooking Made Us Human*. Basic Books, Nueva York.

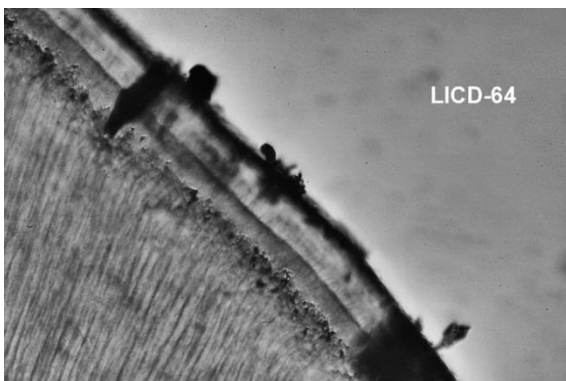
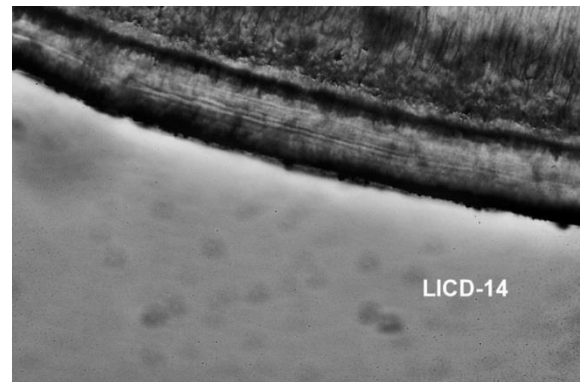
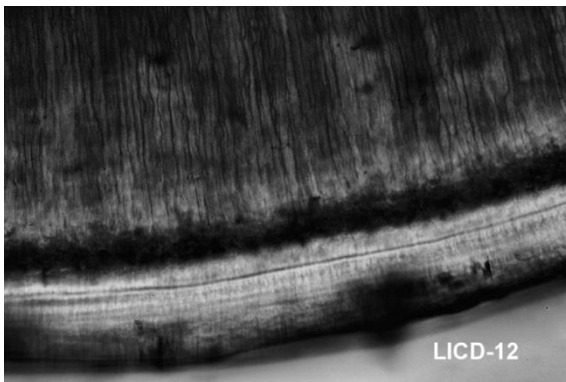
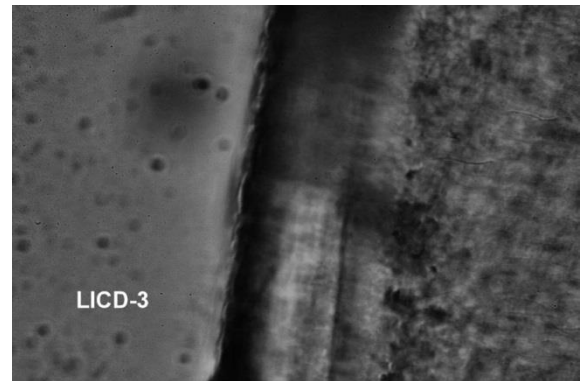
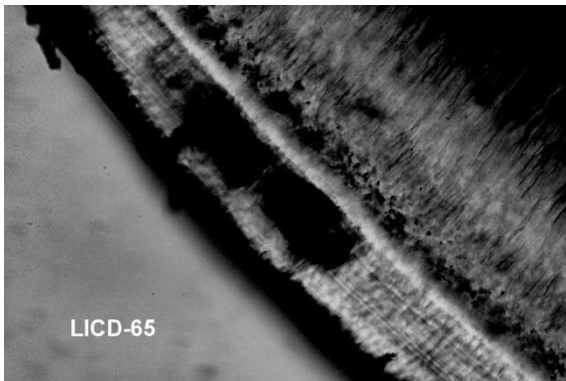
Yamamoto, T., Domon, T., Takahashi, S., Anjuman, K., Fukushima, C., Wakita, M. (2007). Mineralization process during acellular cementogenesis in rat molars: a histochemical and immunohistochemical study using fresh-frozen sections. *Histochemistry and Cell Biology* 127, 303-311.

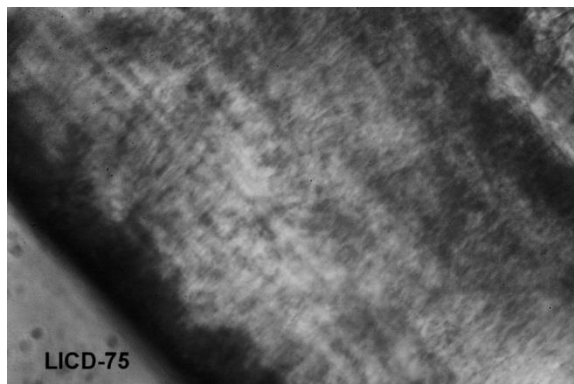
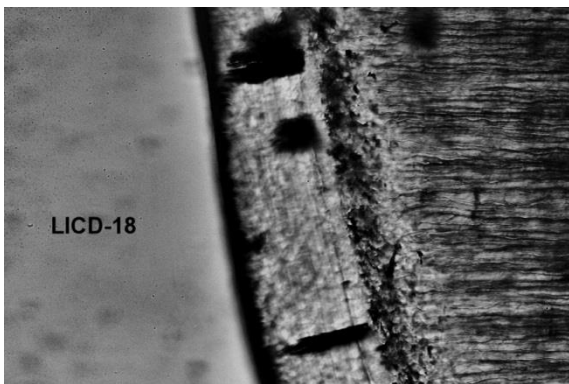
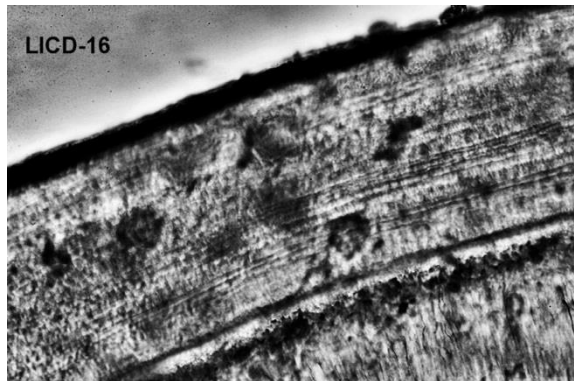
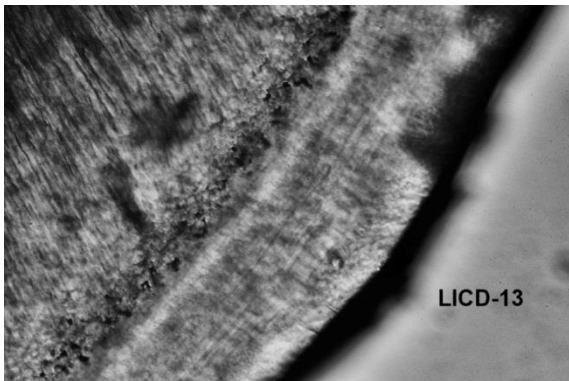
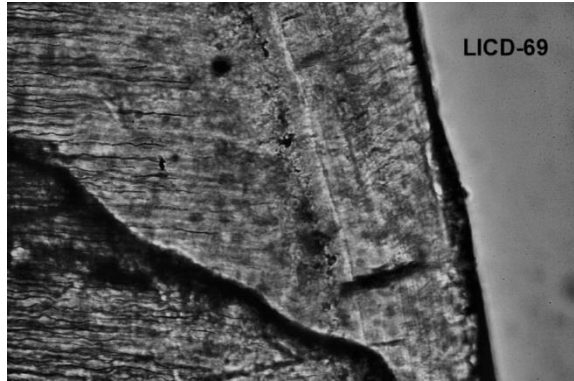
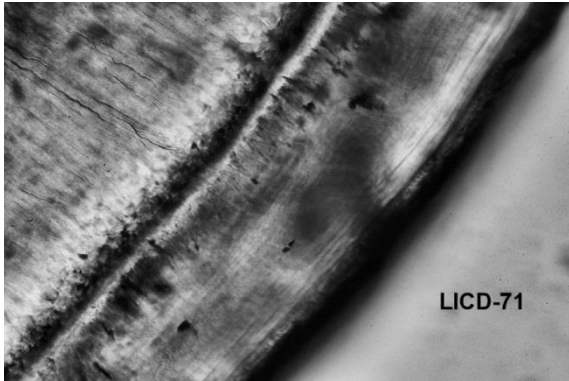
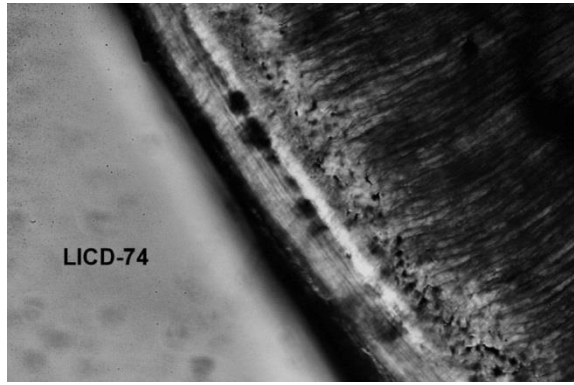
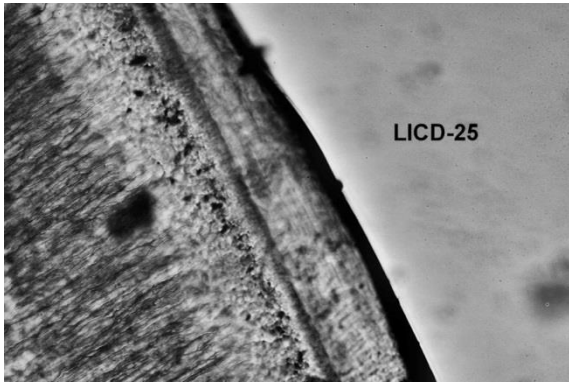
- Yamamoto, T., Li, M., Liu, Z., Guo, Y., Hasegawa, T., Masuki, H., Suzuki, R. y Amizuka, N. (2010).** Histological review of the human cellular cementum with special reference to an alternating lamellar pattern. *Odontology* 98, 102-109.
- Yan, W. y Li, X. (2013).** Impact of diabetes and its treatments on skeletal diseases. *Frontiers of Medicine* 7(1), 81-90.
- Yashin, A., Arbeev, K., Kulminski, A., Akushevich, I., Akushevich, L. y Ukraintseva, S. (2007).** Cumulative index of elderly disorders and its dynamic contribution to mortality and longevity. *Rejuvenation Research* 10, 75–86.
- Ye, L., Zhang, S., Ke, H., Bonewald, L. y Feng, J. (2008).** Periodontal breakdown in the Dmp1 null mouse model of hypophosphatemic rickets. *Journal of Dental Research* 87, 624–629.
- Yoshino, M., Imaizumi, K., Miyasaka, S. y Seta, S. (1994).** Histological estimation of age at death using microradiographs of humeral compact bone. *Forensic Science International* 64 (2-3), 191-8.
- Zebaze, R., Ghasem-Zadeh, A., Bohte, A., et al. (2010).** Intracortical remodeling and porosity in the distal radius and post-mortem femurs of women: a cross-sectional study. *Lancet* 375, 1729–1736.
- Zeichner-David, M., Oishi, K., Su, Z., Zakartchenko, V., Chen, L., Arzate, H. y Bringas, P. (2003).** Role of Hertwig's epithelial root sheath cells in tooth root development. *Developmental Dynamics* 228 (4), 651-63.
- Zeichner-David, M. (2006).** Regeneration of periodontal tissues: cementogenesis revisited. *Periodontology* 2000 24, 196-217.
- Zhang, C., Young, W. y Waters, M. (1992).** Immunocytochemical localization of growth hormone receptor in rat maxillary teeth. *Archives of Oral Biology* 37(2), 77-84.
- Zhang, X., Rahemtulla, F., MacDougall, M. y Thomas, H. (2007).** Vitamin D receptor deficiency affects dentin maturation in mice. *Archives of Oral Biology* 52, 1172–1179.
- Zheng, Q., Xu, Haiping, Song, F., Zhang, L., Zhou, X., Shao, Y. y Huang, D. (2013).** Spatial distribution of the human enamel fracture toughness with aging. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 26, 148-154.

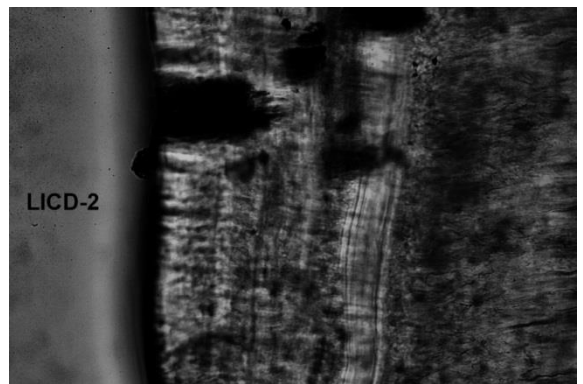
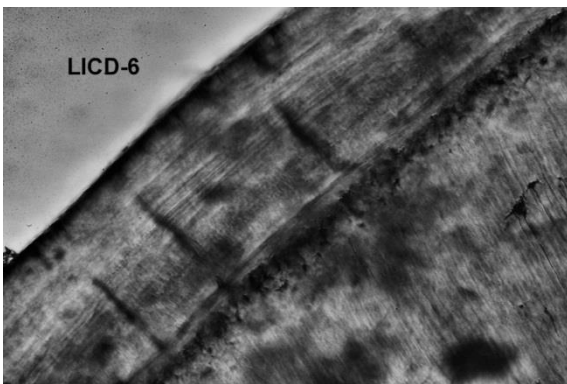
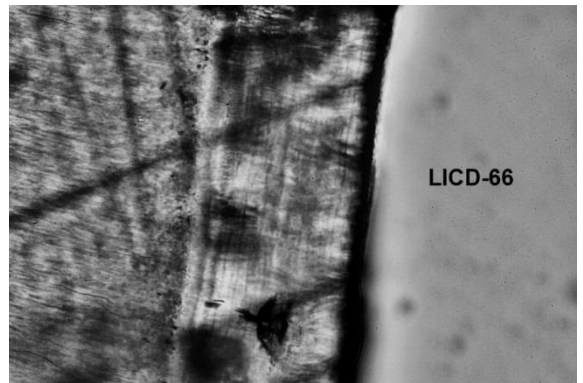
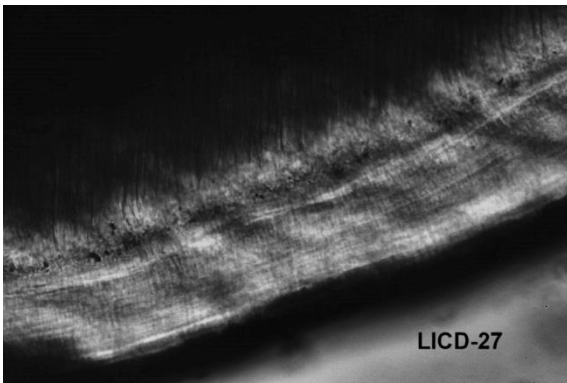
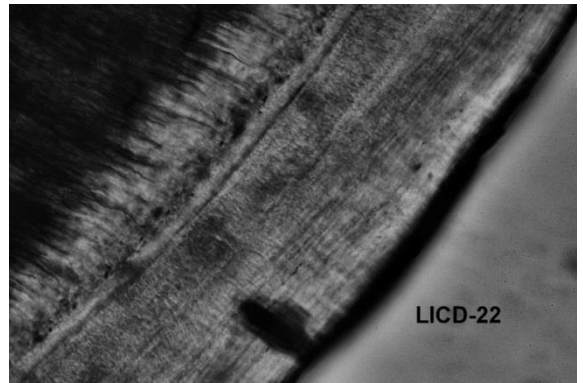
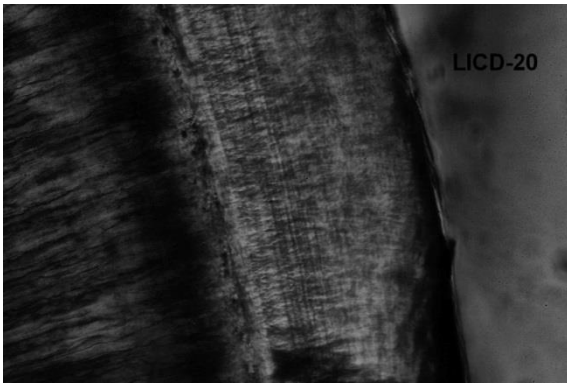
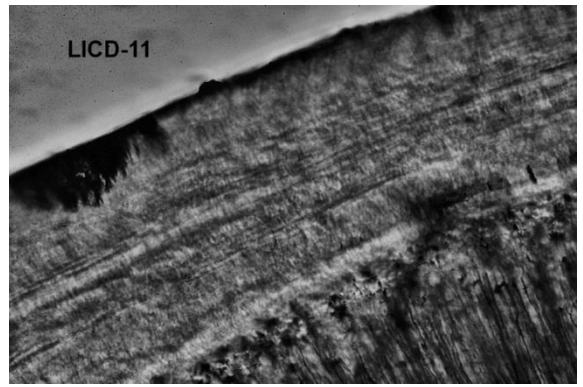
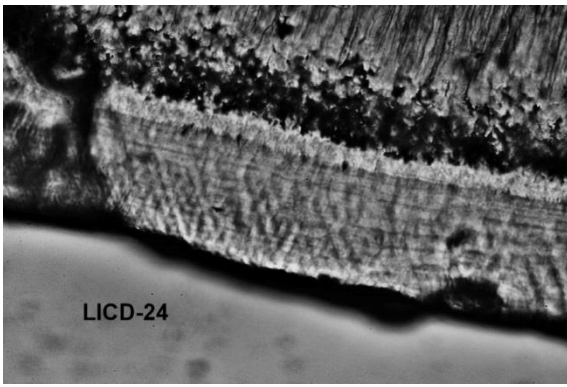
Anexo

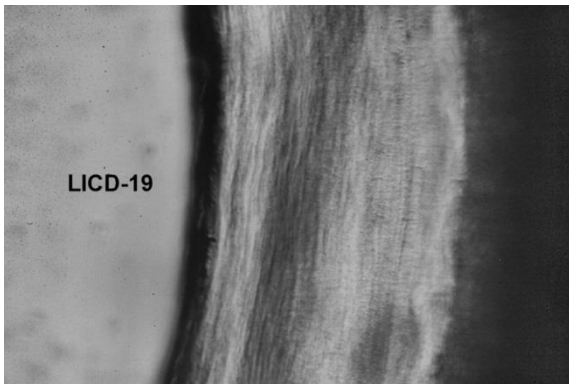
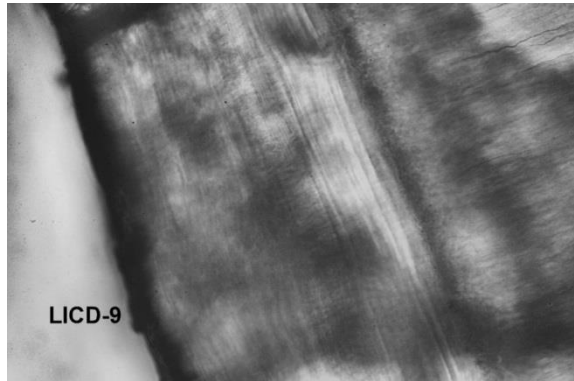
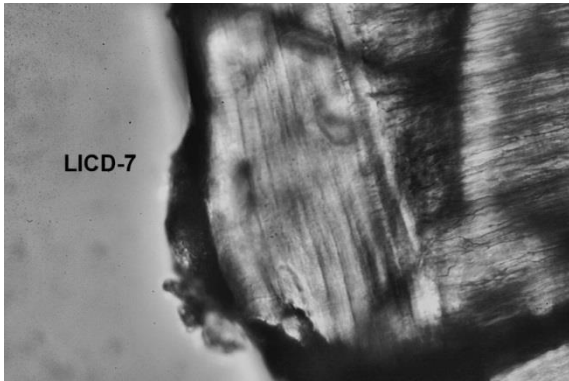
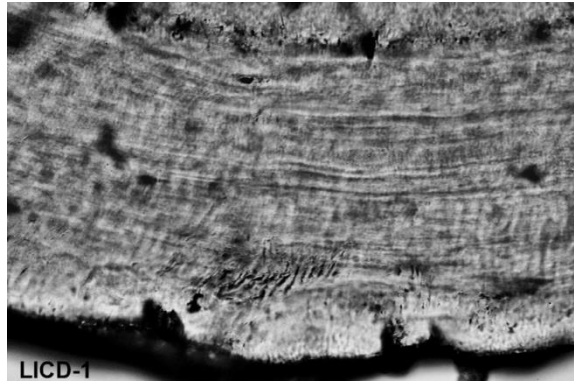
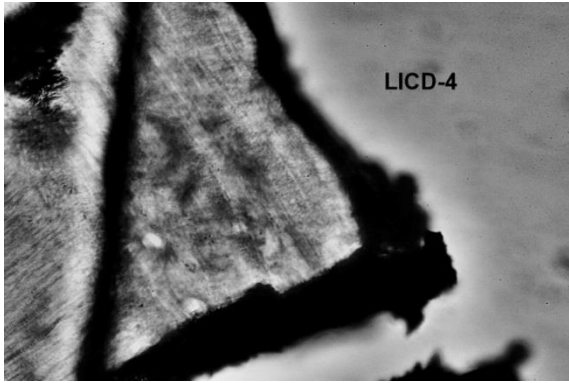
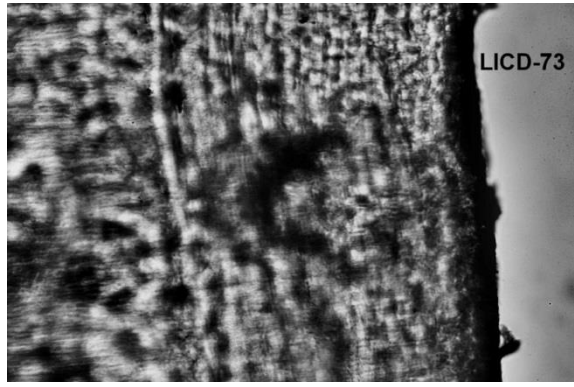
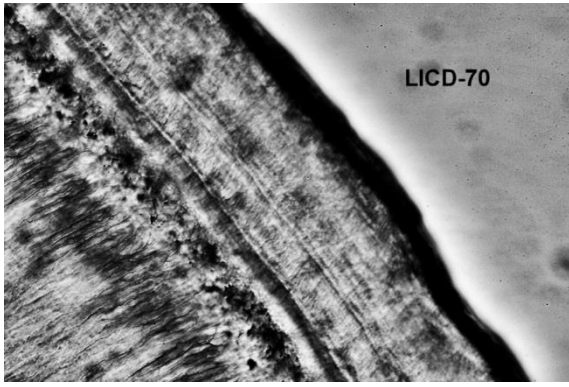
Imágenes de las LICD

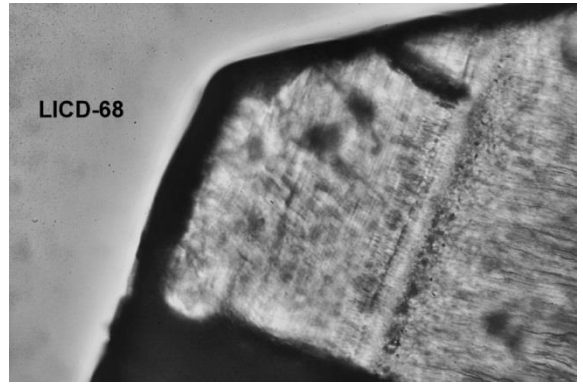
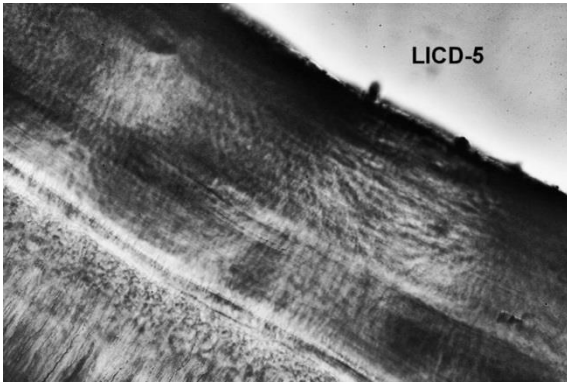
Población contemporánea con edad cronológica conocida



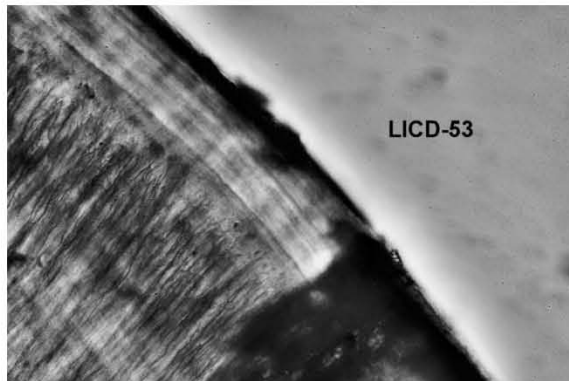
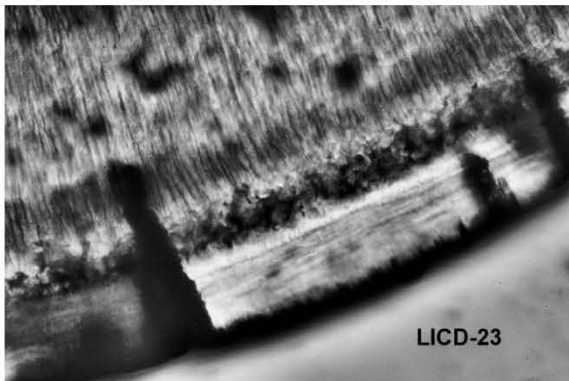
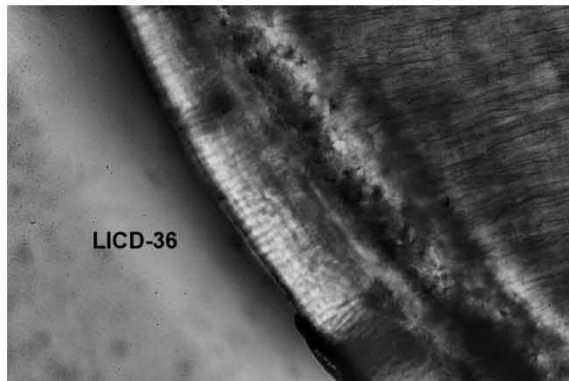
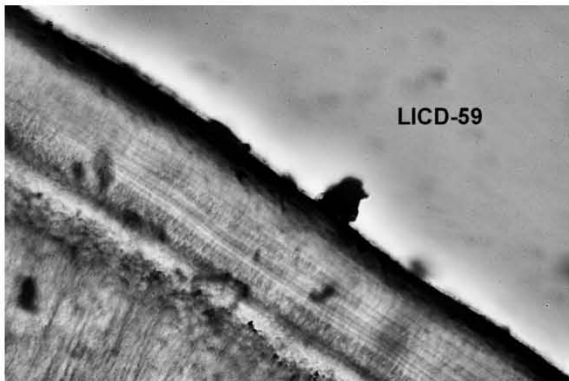
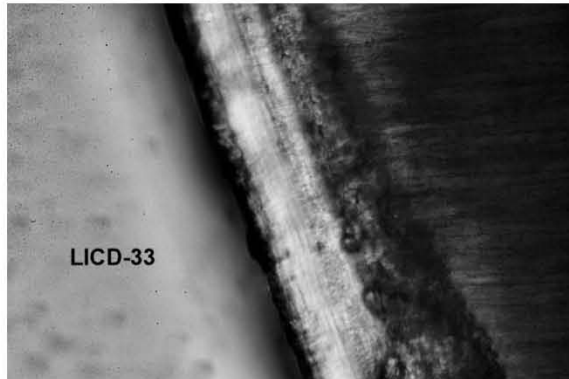
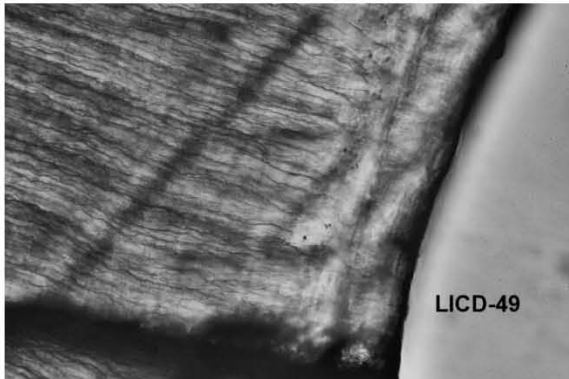


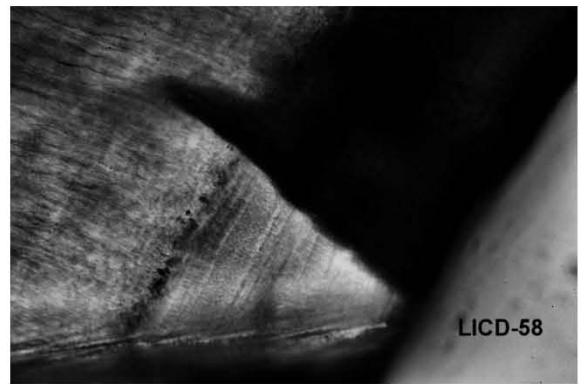
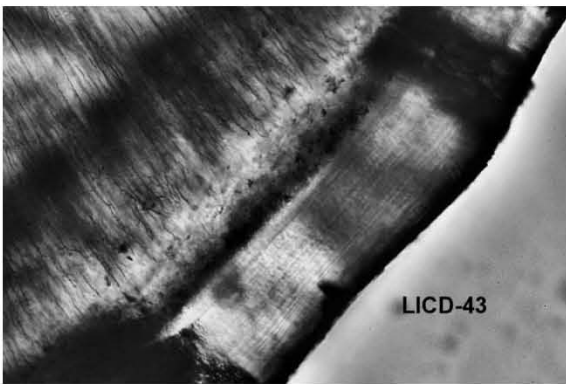
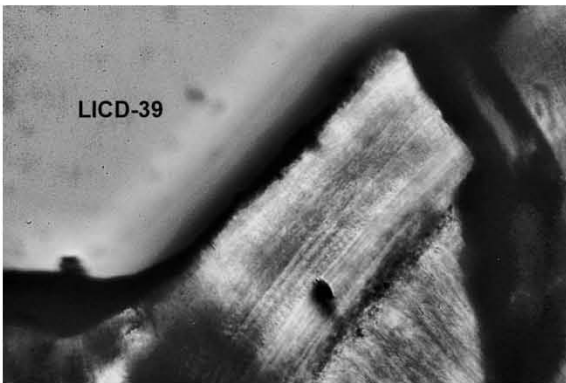
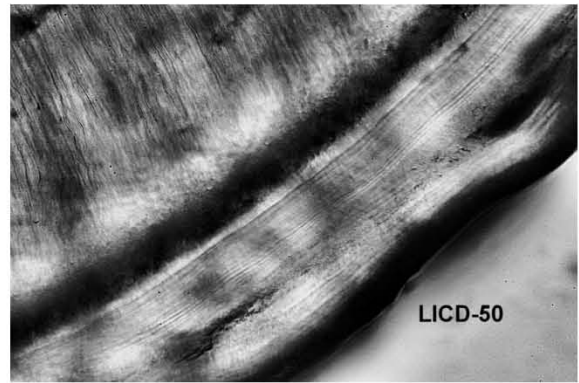
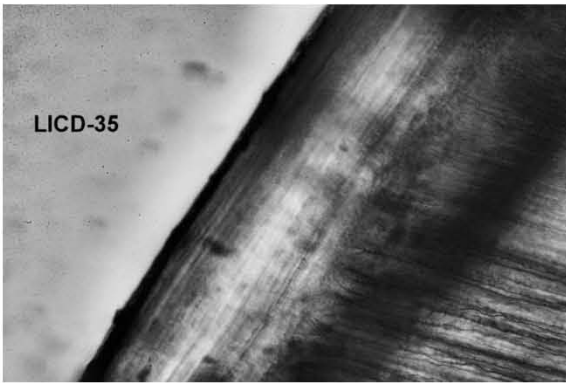


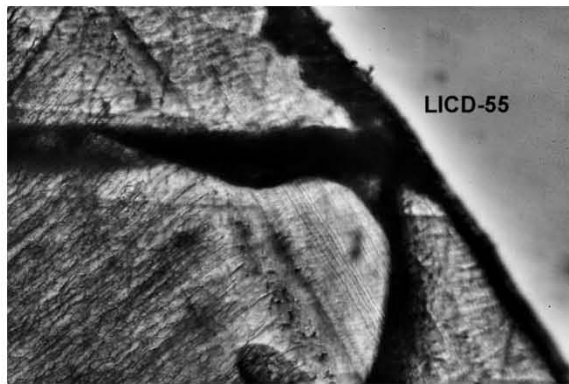
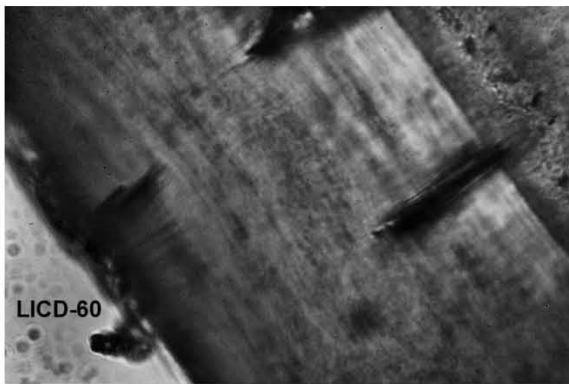
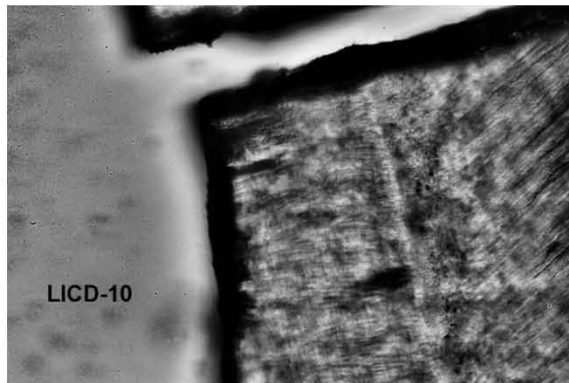
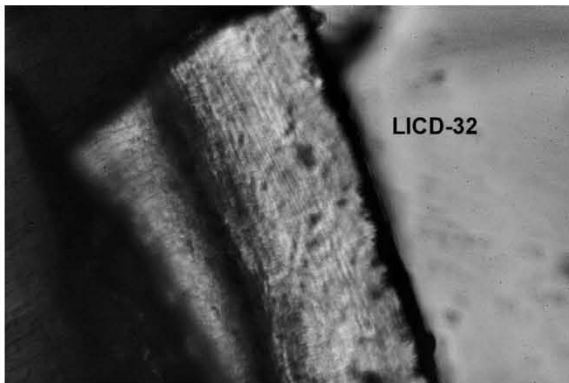
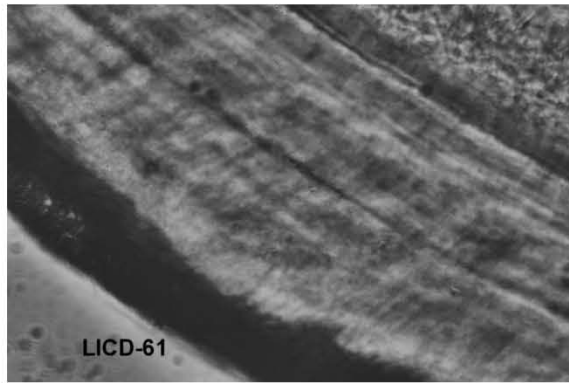
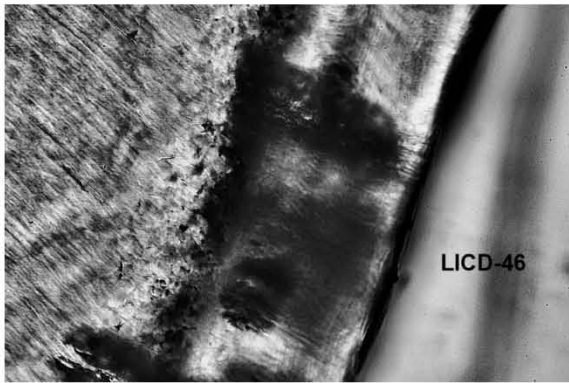
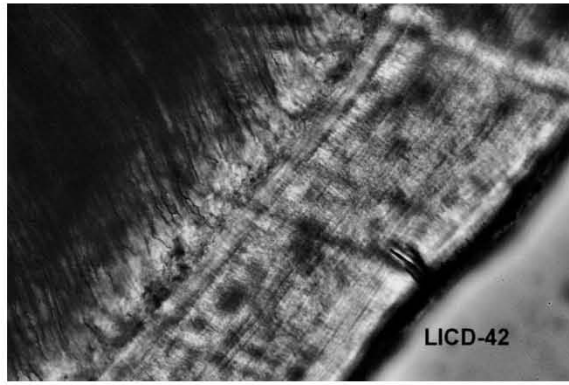
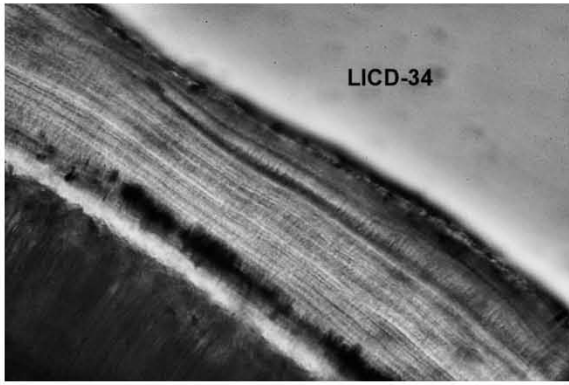


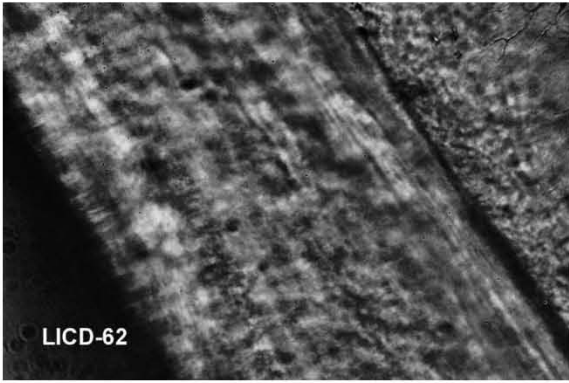
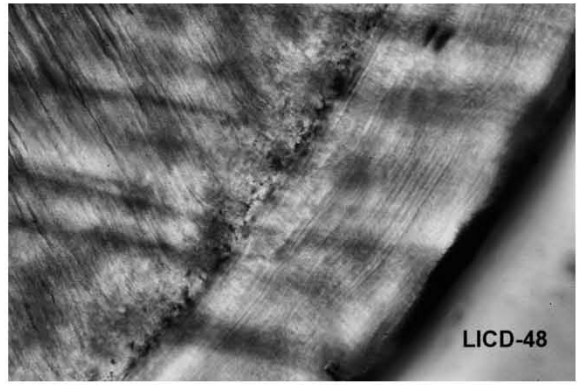


Población contemporánea sin edad cronológica conocida









Población prehispánica sin edad cronológica conocida

