

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

01461
5

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ESTUDIO DE LA ULTRAESTRUCTURA DE LA DENTINA
HUMANA POR MICROSCOPIA ÓPTICA Y ELECTRÓNICA

TESIS
QUE PRESENTA

C.D. DORA LAURA TORRES CONTRERAS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN ODONTOLOGÍA

DIRECTORA:
DRA. MARÍA MARICELA GARCÉS ORTÍZ

ASESOR: DR. JOSÉ REYES GASGA

MÉXICO, D.F.
2001



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.

ESTUDIO DE LA ULTRAESTRUCTURA DE LA DENTINA HUMANA POR MICROSCOPIA ÓPTICA Y ELECTRÓNICA

APROBADO POR

Dr, Maricela Garces Ortíz
Directora de Tesis

Dr. José Reyes Gasga
Asesor

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más sincera gratitud a la Dra. Maricela Garces Ortíz tutora en este trabajo por su inestimable colaboración con gran profesionalismo, dedicación y mucha paciencia lo ha enriquecido con numerosas y apropiadas sugerencias.

Mi reconocimiento también al Dr. José Reyes Gasga y a su excelente equipo de trabajo por su ayuda indispensable con gran precisión y esfuerzo han trabajado en las diversas etapas de esta tesis.

Gracias también a la Dr. Constantino Ledesma por sus muchas y buenas sugerencias.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres: Leopoldo y Eva por el amor y cuidados que siempre me han brindado.

A mis hermanos y sobre todo amigos: Raúl, Leopoldo y Rosalinda su esposa, con infinita gratitud.

A mis sobrinos: Eréndira, Fabiola, Leopoldo, Rosalinda, Cristina y Ricardo, con todo mi cariño

A mis primos y compadres: Eréndira y Guillermo. Gracias siempre.

INDICE

Contenido	Página
Resumen.....	2
Abstract.....	3
Introducción.....	4
Antecedentes	
Dentinogénesis.....	6
Formación de la dentina coronaria	
Diferenciación de los odontoblastos.....	14
Matriz orgánica de la dentina.....	16
Dentina del manto.....	24
Dentina primaria	
Dentina circumpulpar.....	26
Dentina secundaria.....	28
Líneas de crecimiento.....	30
Dentina terciaria.....	33
Inervación de la dentina.....	35
Inervación de la pulpa.....	37
Irrigación de la pulpa.....	39
Cambios pulpaes con el envejecimiento.....	41
Depósitos minerales.....	43
Permeabilidad dentinaria.....	45
Cristalografía de la dentina humana.....	49
Planteamiento del problema.....	52

Justificación.....	53
Hipótesis.....	54
Objetivos.....	55
Capítulo I	
Microscopía	
I. Microscopía Óptica.....	56
II. Microscopía Electrónica de Transmisión.....	58
III. Microscopía Electrónica de Barrido.....	61
Capítulo II	
Metodología	
I. Preparación de especímenes para Microscopía	
Óptica.....	63
II. Preparación de muestra para Microscopía	
Electrónica de Barrido.....	64
III. Preparación de muestras para Microanálisis por	
Espectrómetro de Dipersión de Energía.....	69
IV. Preparación de muestras para Microscopía	
Electrónica de Transmisión.....	72
Capítulo III	
Resultados	
I. Microscopía Óptica.....	79
II. Microscopía Electrónica de Barrido.....	85
Microanálisis por EDS.....	106

III. Microscopía Electrónica de Transmisión.....	108
Discusión.....	110
Conclusiones.....	114
Referencias.....	116

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue determinar las principales características de la dentina humana y su relación con el tejido pulpar usando Microscopía Óptica y Electrónica. Se analizaron 30 premolares humanos sanos, extraídos por razones ortodóncicas. Se fijaron en formalina buffer y se procesaron para obtener cortes seriados a 5 micras para ser analizados. Las imágenes muestran que los odontoblastos inmersos en el tejido pulpar se ordenan en empalizada, de forma ovalada y con numerosas ramificaciones que los mantiene unidos entre sí, sus prolongaciones citoplasmáticas están incluidas en los túbulos dentinarios de la predentina. La unión pulpa-dentina se observa como una línea curvada continua que mantiene ambos tejidos estrechamente unidos. En la predentina, la forma y tamaño de los túbulos es muy variable. Hacia la parte media de la predentina, se observan estructuras redondeadas, algunas adheridas a los procesos odontoblásticos, otras desprendidas y otras más asociadas a la pared del túbulo. Aparentemente dichas estructuras se van mineralizando e integrando a la dentina peritubular (calcosferitas). En la dentina mineralizada, el recorrido de los túbulos es ondulado desde la unión pulpa-dentinaria hacia la unión dentino-esmalte, siendo completamente verticales por arriba de los cuernos pulpares. En esta área se observan plexos intracanaliculares de fibras, que parecen ser parte del aparato de sostén de los procesos odontoblásticos. El patrón de difracción electrónica de la dentina nos muestra su carácter policristalino, se trata de una hidroxiapatita menos mineralizada que la del esmalte dental.

ABSTRACT

The aim of this investigation was to determine the main features of human dentin at Scanning (SEM) and Transmission (TEM) Electron Microscope and its relationship with pulpal tissue. 30 healthy human premolars extracted for ortodontic purpose were studied. They were processed to be analyzed by SEM and TEM. Results: Odontoblastic layer were found in the border zone of pulpal tissue, ordered in palisade way, with an oval shape and many lateral branches which keep them joined, their cytoplasmic process are included into the dentinal tubules in pre-dentin. Pulpo-dentinal junction is observed as a continue line curve and both tissues are strongly joined. In pre-dentine, form and shape of tubules is very variable. To the middle part of pre-dentin, spherical structures were observed, some of them are adhered to the odontoblastic process, other are free and another seems to be associated with the tubules walls. This structures continues its mineralization and then goes integrating to the peritubular dentin. In the mineralized dentin running of tubules is on ondulatory form, from pulpo-dentinal junction to amelo-dentinal junction, they shows completely vertical above of pulpal horns. In this area intracanal plexus of fibres are observed, they seems to be part of the odontoblastic processes' holding apparatus. Dentin electron diffraction pattern indicates its polycrystalline character, it is a hydroxyapatite less mineralized than dental enamel.

INTRODUCCIÓN

La pulpa dental es un tejido conjuntivo similar a cualquier otro tejido conjuntivo del organismo y está constituido por células, sustancia fundamental y aferencias nerviosas y vasculares. Se caracteriza especialmente por encontrarse encerrado en el interior de un tejido duro y rígido.¹

Anatómicamente la pulpa está dividida en una pulpa coronaria y una pulpa radicular que corresponden a la corona y la raíz dental. La corona anatómica es la parte del diente cubierta por esmalte.²

La dentina y la pulpa constituyen la mayor parte del diente (Fig. 1). El tejido blando o pulpa dentaria, de localización central, está rodeado por la dentina, excepto a nivel del orificio apical, por el que aquella se comunica con los tejidos periodontales. La dentina es un tejido conjuntivo mineralizado y avascular. La dentina coronal está cubierta por el esmalte y la raíz por cemento.

La dentina y la pulpa no sólo se hayan estrechamente relacionadas entre si en términos de vecindad, sino que hay una íntima relación entre ambas desde los puntos de vista del desarrollo y funcional. Por consiguiente, existen importantes razones para considerar a éstos dos tejidos como una sola entidad u órgano. No obstante, las importantes diferencias en la composición y en la estructura de la dentina y de la

pulpa, obligan a considerar diversos aspectos del complejo pulpo-dentinario.³

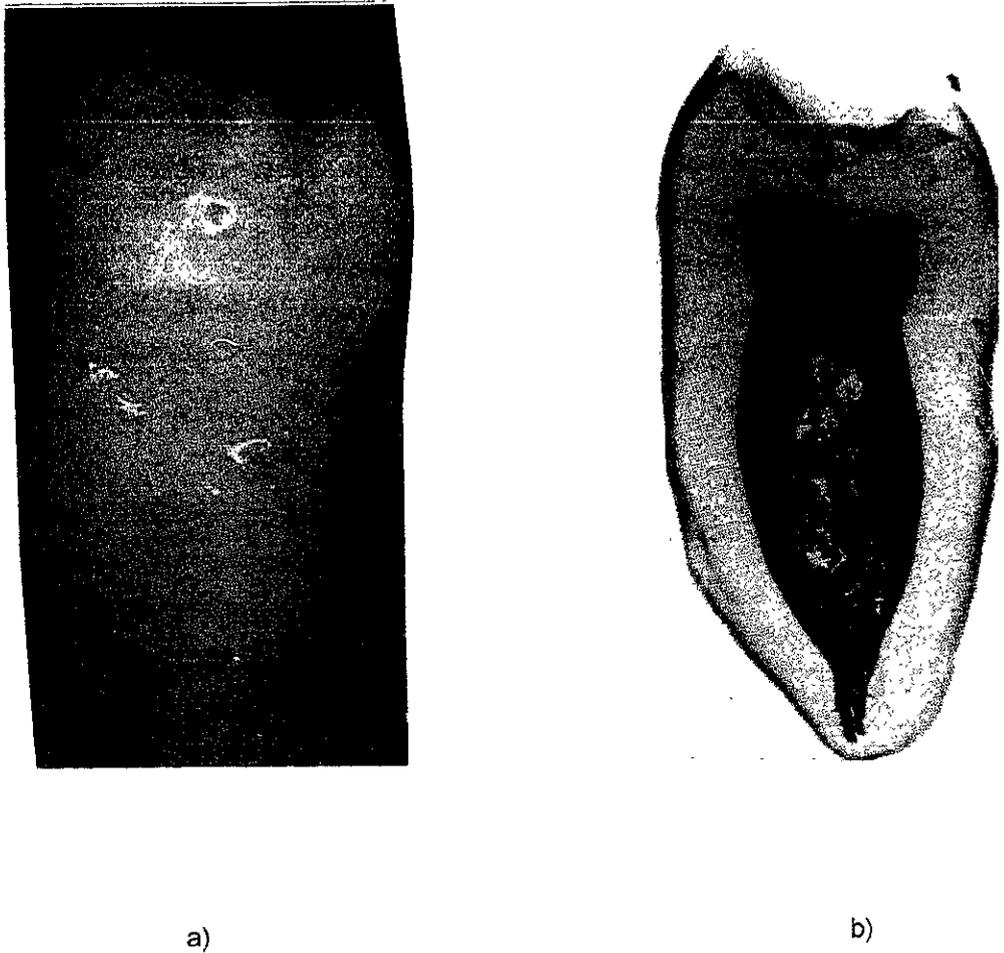


Fig. 1

Imágenes de microscopía óptica del diente.

- a) Diente completo
- b) Técnica de transparentación dental que permite observar la dentina y el tejido pulpar, teñido con tinta china.

ANTECEDENTES

DENTINOGENESIS

La dentina se origina de las células ectomesenquimatosas de forma estrellada de la papila dental, bajo la influencia organizadora del epitelio dental. De esta manera, la papila dental es el órgano formador de la dentina.

La papila dental también forma el tejido pulpar del diente, pero el tiempo durante el cual se registra esta actividad depende en gran parte de los criterios utilizados para definir la pulpa dental. Si se considera al tejido pulpar como el responsable de la formación de la dentina, entonces la papila dental es la pulpa dental desde el momento en que comienza la formación de la dentina. Se define a la pulpa dental como el tejido que ocupa la cámara pulpar del diente; la transición de papila en pulpa ocurre solo después de que se ha depositado suficiente dentina como para encerrar la cámara pulpar.

Sin importar cuándo la papila dental se convierte en pulpa, la formación de dentina comienza en el estadio de campana del desarrollo, en el tejido papilar adyacente al plegamiento extremo del epitelio dental interno. Este sitio, que no representa estrictamente el futuro extremo cuspídeo, indica donde comenzará el desarrollo de la cúspide.⁴



Fig. 2

Imagen de microscopía óptica del desarrollo del tejido pulpar. Etapa tardía de campana.

- A = Órgano del esmalte
- B = Desarrollo de la dentina
- C = Papila dental
- D = Capa odontoblástica

El primer tejido duro de la corona que se forma durante la odontogénesis, empieza en las cúspides, se caracteriza por la síntesis y secreción de una matriz orgánica extracelular compuesta principalmente de colágena tipo I (con pequeñas cantidades de colágena tipo III) y diversas proteínas específicas diferentes de la colágena, como proteoglucanos y fosfoproteínas. (Fig. 2)

Todos los componentes de esta matriz son sintetizados y secretados por los odontoblastos. A medida que se deposita la dentina, los odontoblastos retroceden hacia el centro de la papila dental. Siempre hay una capa de matriz no calcificada entre los odontoblastos y el frente de la calcificación, esta zona se conoce como predentina o dentinoide y es análoga a la precursora osteoide del hueso. A medida que emigran los odontoblastos se forma una prolongación celular alargada: el proceso odontoblástico; al continuar la migración los procesos odontoblásticos se alargan y se introducen en conductos ahuecados conocidos como túbulos dentinarios.⁵ (Fig. 3, 4 y 5)

La dentina radicular se forma en un estadio ligeramente posterior de desarrollo después de que una vaina de células epiteliales (vaina epitelial radicular o de Hertwig) haya proliferado desde el borde cervical del órgano dental alrededor de la papila dental en crecimiento para iniciar la diferenciación de los odontoblastos de la raíz.



Fig. 3

Imagen de microscopía óptica que muestra en corte longitudinal de premolar, la diferencia tintorial entre predentina (A) y dentina mineralizada (B). C, tejido pulpar. Tinción Hematoxilina y Eosina contraste de fases (20X)

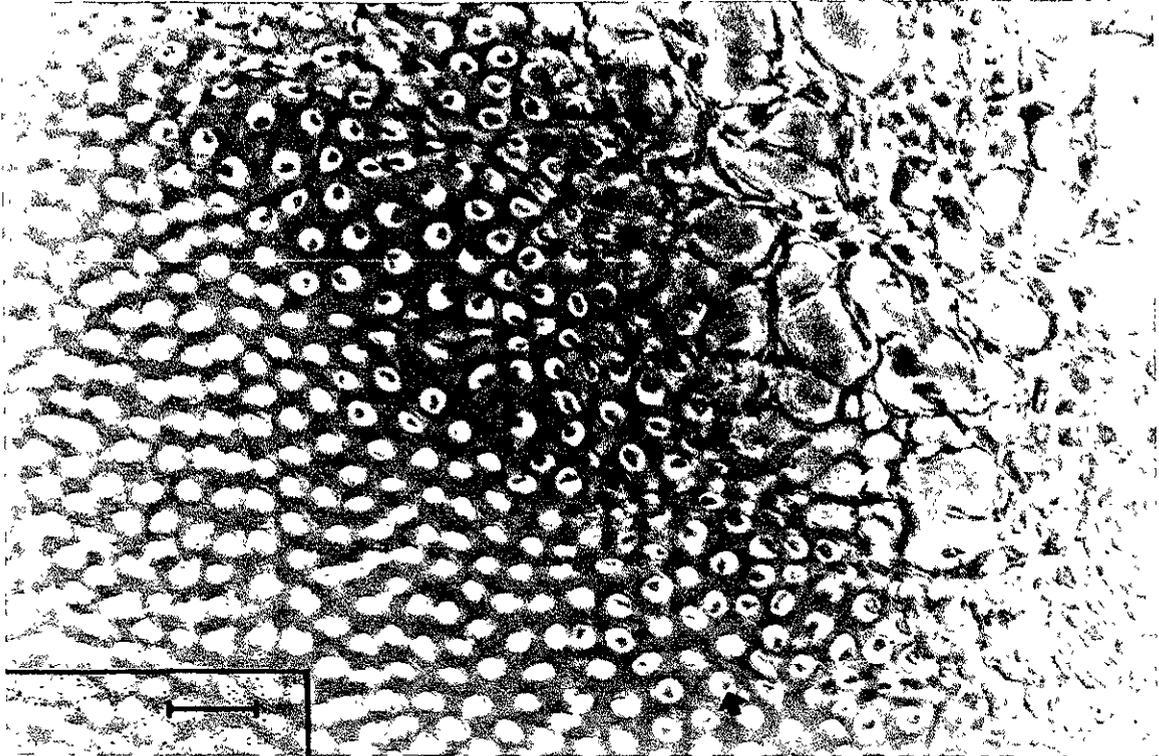


Fig. 4

Imagen de microscopía óptica del corte longitudinal de corona de diente humano, que muestra la luz de los túbulos dentinarios en corte transversal y en su interior las prolongaciones odontoblasticas (flechas). Tinción de Brown y Brenn con contraste de fases (40X) Barra = 25 μ

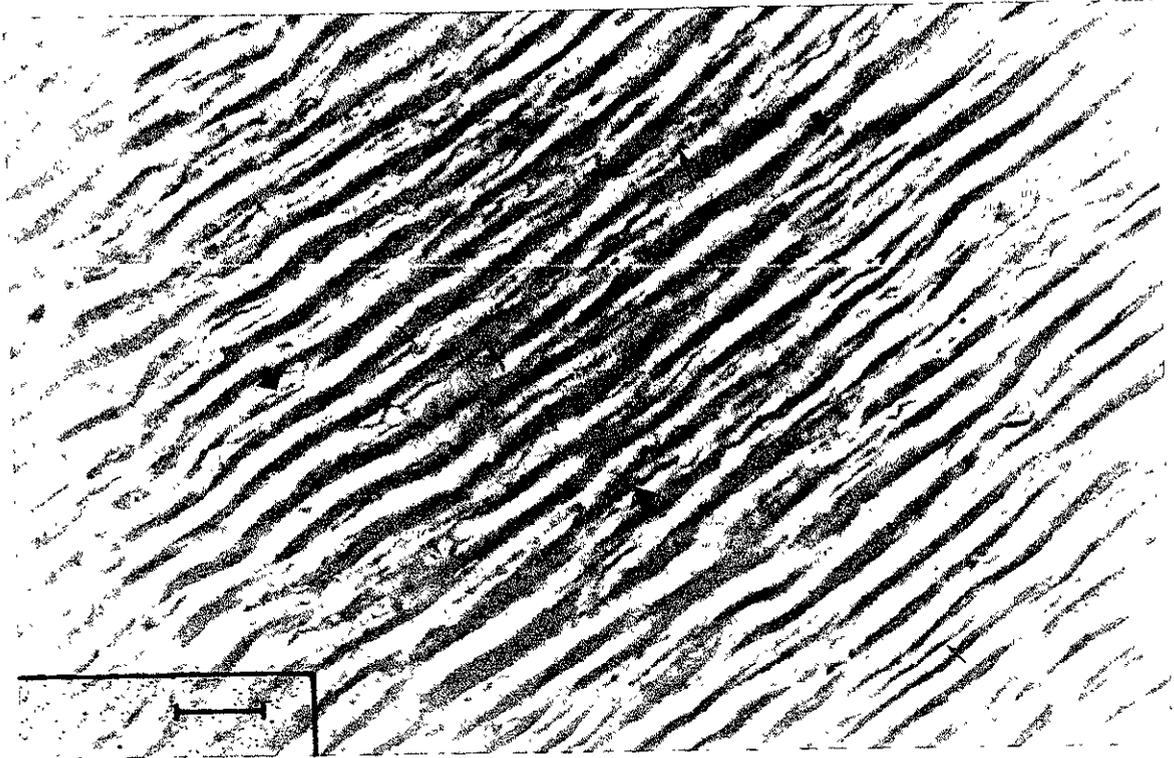


Fig. 5

Imagen de microscopía óptica mostrando el recorrido de los túbulos dentinarios coronales. Notese en el interior de ellos las prolongaciones odontoblásticas (indicadas por las fechas). Tinción de Brown y Brenn con contrastes de fases (40X). Barra = 25 μ

Al completarse la formación de la raíz, la vaina radicular de Hertwig se dobla finalmente hacia adentro, en cada lado, para formar el diagrama epitelial. Esta estructura marca el límite más inferior de la raíz y envuelve el agujero apical primario, que es la abertura por la que entran y salen nervios y vasos sanguíneos de la cámara pulpar. A partir de este momento se conoce a la papila dental como pulpa dental. (Fig. 6)

El tejido condensado que aún rodea al diente en desarrollo persiste como ectomesénquima del folículo dental. En la formación de un diente con una sola raíz, la migración apical de la vaina radicular epitelial de Hertwig a ambos lados del diente en desarrollo dará origen a una sola raíz que presenta un agujero apical.⁵

La dentina está compuesta, aproximadamente por un 70% de material inorgánico y 30% de material orgánico y agua. Debido a la mineralización normal progresiva de la dentina después de que el diente se haya formado lentamente, la composición, variará según la edad de éste.⁶

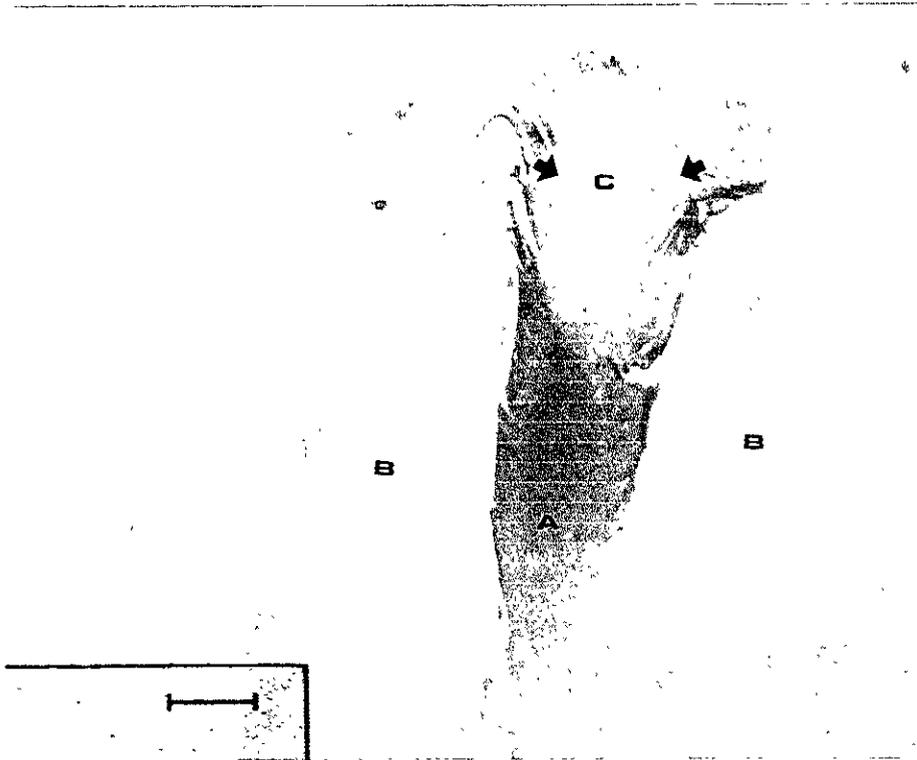


Fig. 6

Imagen de microscopía óptica de un premolar humano sano que muestra un ápice radicular indicado por las flechas, (agujero apical). Tinción H y E (2X). Barra = 400 μ

- A = Tejido conectivo pulpar
- B = Dentina
- C = Agujero apical

FORMACIÓN DE DENTINA CORONARIA

DIFERENCIACIÓN DE LOS ODONTOBLASTOS.

La primera evidencia histológica de la formación de dentina coronaria clásicamente se verifica en las células del epitelio dental interno. Antes de que comience la dentinogénesis, las células del epitelio dental interno, de forma corta y cilíndrica, se dividen rápidamente para acomodarse al crecimiento del germen dentario; estando apoyadas en una membrana basal que separa el epitelio de la papila dental.⁷

Las células de la papila dental se hayan en este momento separadas del epitelio dental interno por una zona acelular. Son células del ectomesénquima, pequeñas e indiferenciadas, con un núcleo central y escaso citoplasma; contienen pocos organoides citoplásmicos. Están ubicadas en una sustancia que sólo contiene unas pocas y delgadas fibrillas colágenas.⁷

La dentinogénesis se inicia sucesivamente en los sitios donde se formarán las cúspides. Está precedida por el cese de la división celular de las células del epitelio dental interno, seguida de un cambio de forma. de cortas y cilíndricas a altas y cilíndricas, por la migración de sus núcleos hacia el polo de la célula que está alejado de la papila dental. Este cambio de posición del núcleo revierte la polaridad de la célula casi inmediatamente después de que ocurren estos cambios dentro del epitelio dental interno. También se verifican cambios en la

papila dental adyacente, las células ectomesenquimatosas que se hayan cercanas a la zona acelular se agrandan rápidamente a medida que su citoplasma aumenta de volumen para poder contener cantidades crecientes de retículo endoplásmico rugoso y complejos de Golgi.⁷

Estas células ectomesenquimatosas recientemente diferenciadas se llaman **odontoblastos**. Se caracterizan posteriormente por estar altamente polarizadas con sus núcleos localizados en el polo opuesto del epitelio dental interno, la zona acelular entre la papila dental y el epitelio dental interno desaparece gradualmente; a medida que los odontoblastos se diferencian aumentan de tamaño y ocupan esta zona; la densidad celular también aumenta en la papila dental adyacente, donde una capa diferenciada de odontoblastos puede distinguirse fácilmente.⁷

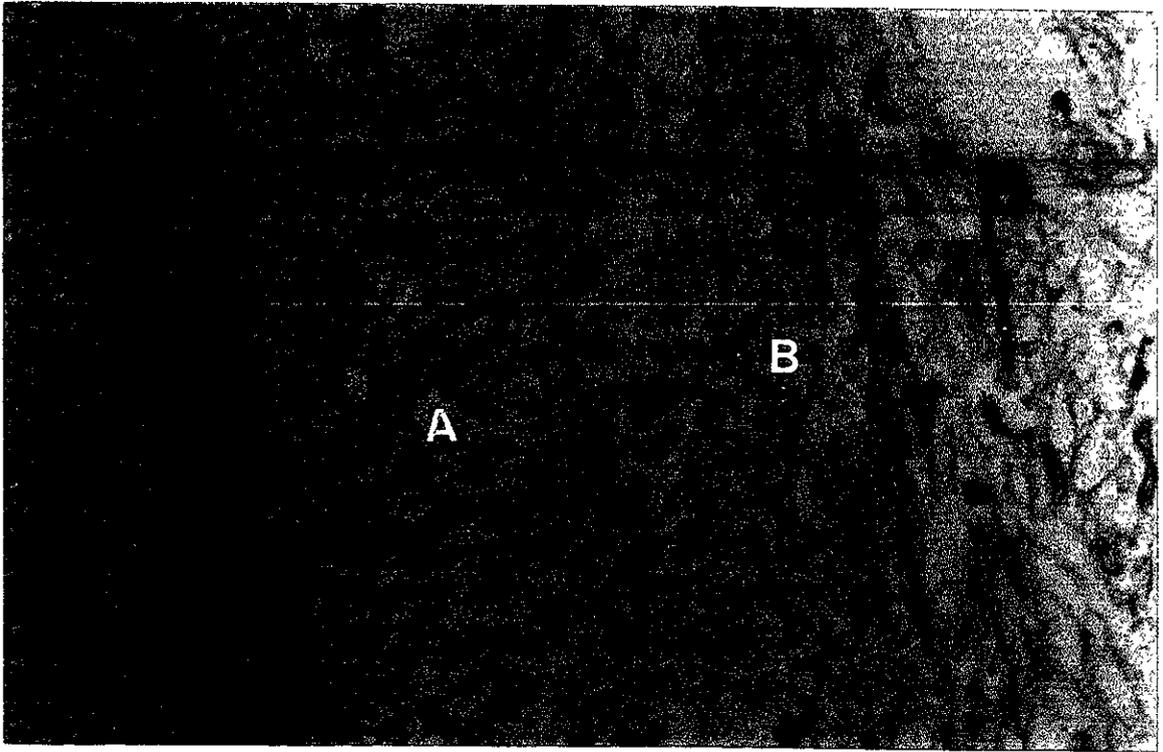
El **odontoblasto** es la célula productora de dentina; forman una empalizada a nivel de la periferia pulpar, aunque puede existir solo una hilera de odontoblastos alrededor de la pulpa, a veces se observa una capa pseudoestratificada compuesta de hasta 6 a 8 hileras, especialmente a nivel de los cuernos pulpares, ésto se debe generalmente al apiñamiento de las células en la luz que se estrecha progresivamente. También pueden encontrarse zonas microscópicas de espesor variable, de tal forma que las células adyacentes parecen formar una hilera adicional. La variación en el tamaño, y la forma de estas células depende igualmente de su localización; pueden ser

columnares y altas en la cámara pulpar, bajas y cuboides en la zona cervical o hueso radicular y aplanadas en el ápice. Los espacios intercelulares entre los odontoblastos pueden oscilar entre 200 y 300 Å. (Fig. 7 y 8)

Los odontoblastos columnares tienen forma prismática o poligonal, su longitud oscila entre 8 y 25 ó más μm y su diámetro entre 3 y 8 μm . El tamaño depende de la actividad funcional, las células más activas suelen ser más altas. Los odontoblastos no sólo mantienen un contacto físico muy estrecho entre ellos, sino que además se comunican por medio de numerosos complejos de unión, de manera que si un odontoblasto resulta dañado otros se ven afectados inmediatamente. No entran en mitosis, por lo que pueden ser considerados células posmitóticas o terminales.⁷

MATRIZ ORGÁNICA DE LA DENTINA.

Después de la diferenciación de los odontoblastos a partir de las células ectomesenquimatosas indiferenciadas de la papila, el próximo paso en la formación de dentina es la producción de su matriz orgánica.



A

B

Fig. 7

Imagen de microscopía óptica de un corte longitudinal de corona de premolar humano que muestra la capa odontoblástica (A), dentro del tejido pulpar (B). Tinción H y E. Técnica contraste diferencial de interferencia. (20X)

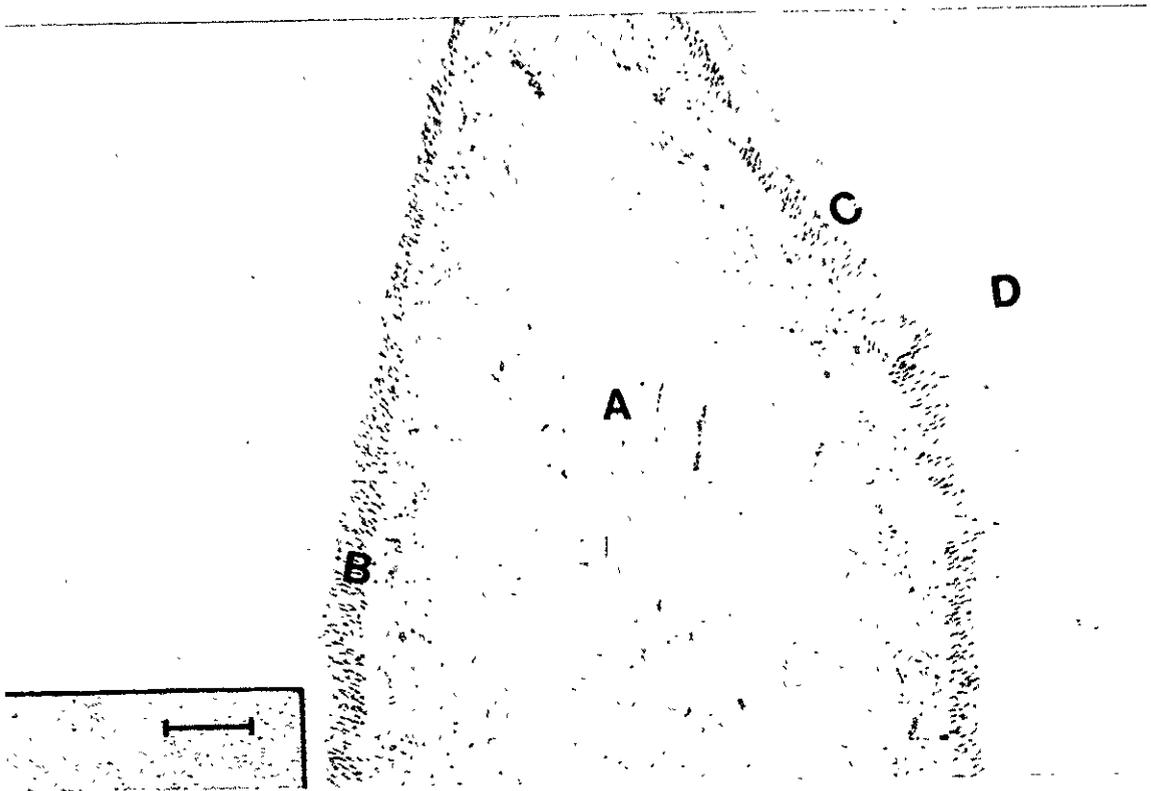


Fig. 8

Imagen de microscopía óptica de cúspide de un premolar humano. Se observa tejido pulpar al centro (A), rodeado por la capa odontoblástica organizada (B), una zona delgada de predentina (C) y dentina mineralizada (D). Tinción H y E. (10X). Barra = 100 μ

Se ha demostrado que la formación de la colágena comienza en los ribosomas relacionados con las cisternas de retículo endoplásmico rugoso. Las moléculas de procolágeno pasan por medio de vesículas de transporte, al complejo de Golgi, donde son glucosiladas y a su vez pasadas al polo secretor de la célula en otras vesículas de transporte que pueden ser identificadas por presentar un delicado bandeo filamentoso. Una vez segregado el procolágeno forma agregaciones de colágeno extracelulares que presenta bandas, la sustancia fundamental sigue una vía sintética similar dentro del odontoblasto.

El colágeno aparece extracelularmente en forma de fibrillas diferenciables de gran diámetro que se agregan a la sustancia fundamental amorfa inmediatamente por debajo de la membrana basal en la que se apoya el epitelio dental interno.

En el frente de mineralización, las estructuras puntiformes minerales han sido encontradas dentro de las fibrillas colagenosas de dentina y de hueso.⁸ (Figs. 9 y 10)

Las fibrillas colagenosas se disponen en ángulos rectos respecto a la membrana basal y se entremezclan con las fibrillas periódicas que salen de ellas. Estas gruesas fibrillas colágenas, junto con la sustancia fundamental a la cual se agregan constituyen la matriz orgánica de la primera dentina que se forma, o **dentina del manto**.⁴

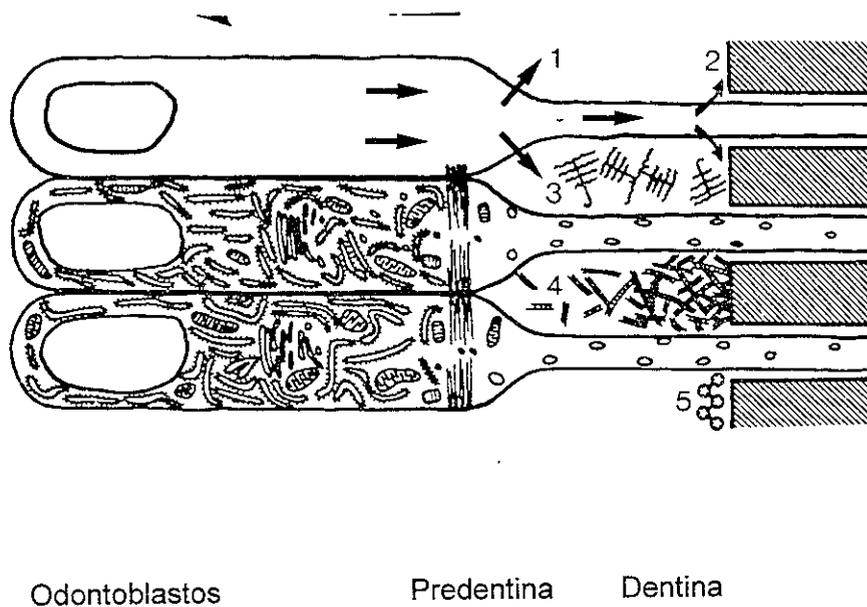


Fig. 9

Esquema que muestra la actividad odontoblástica.

1. La colágena se secreta en la parte proximal del odontoblasto.
 2. y 3. Justo antes del frente de mineralización los proteoglicanos y otros componentes no colágenos son secretados y encontrados en preentina.
 4. La densidad de las fibras colágenas aumenta a lo largo de la preentina.
 5. Secreción de otros componentes no colágenos altamente fosforilados como fosfoproteínas.
- Tomado de LINDE A. Dentin and dentinogenesis. CRC Press. Boca raton Vol. II 1984: 59.

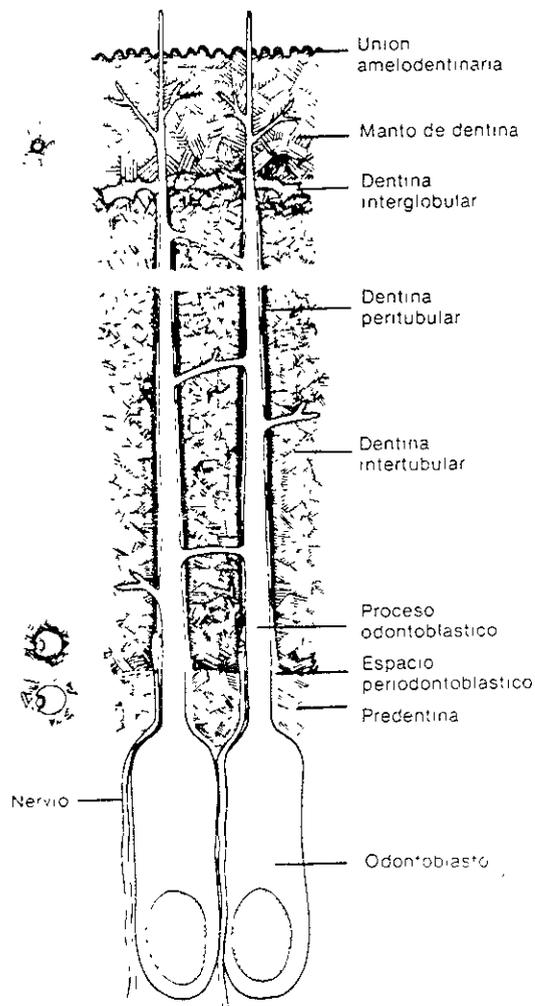


Fig. 10

Diagrama de un odontoblasto y sus prolongaciones en el túbulo dental. Obsérvese la relación de la prolongación con el espacio periodontoblastico y la dentina peritubular.

La matriz peritubular que no contiene fibrillas colágenas tiene una mayor densidad y está más mineralizada que la intertubular.⁹

En general los estudios han demostrado que el fósforo está unido fuertemente a la superficie de las fibras colágenas; una afinidad relativamente grande existe entre fósforo y colágena. Por lo tanto, el fósforo es un candidato importante en la nucleación de apatita y en el control del crecimiento de cristales en la superficie de colágena en la dentina.¹⁰

Los odontoblastos a medida que segregan colágeno, aumentan aún más de tamaño obliterando el espacio extracelular que existe entre ellos, haciendo que los odontoblastos adyacentes se pongan en contacto, formándose una empalizada. Se desarrollan extensos complejos de unión; en este momento los odontoblastos también efectúan actividad de fosfatasa alcalina a lo largo de sus membranas plasmáticas; una actividad probablemente asociada con el transporte de iones inorgánicos dentro de la célula. (Fig. 11)

Mientras se deposita el primer colágeno de la matriz dentinaria, las membranas plasmáticas de los odontoblastos, adyacentes al epitelio dental interno, emiten varias prolongaciones gruesas y cortas. A veces una de estas prolongaciones penetra en la membrana basal y se interpone entre las células del epitelio dental interno para formar lo que más tarde será un uso adamantino.

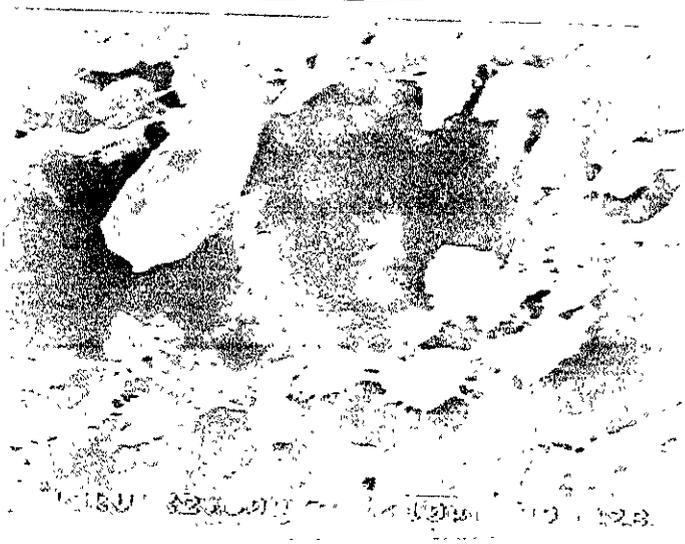
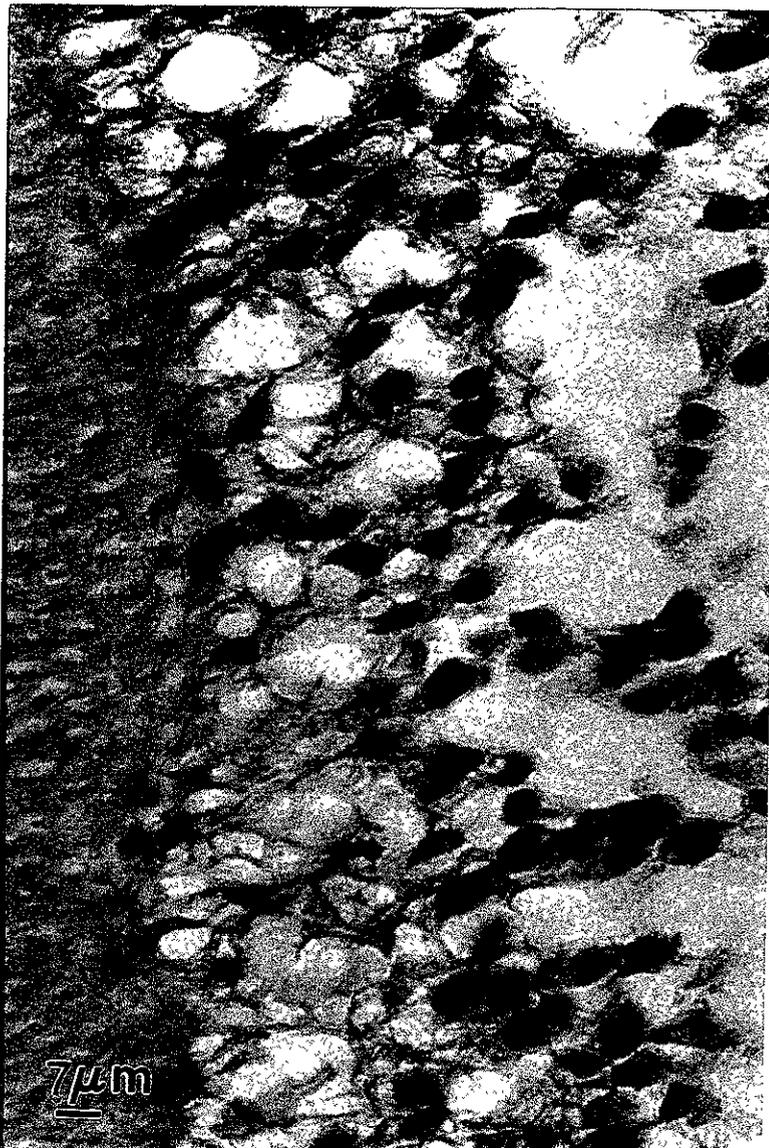


Fig. 11

A) Imagen de MEB donde se muestra los odontoblastos en empalizada.



B) Imagen de microscopía óptica de la Corona de premolar donde se observa la empalizada odontoblástica. Tinción H y E (40X)

El odontoblasto a la vez que forma estas prolongaciones también emite una serie de vesículas pequeñas que brotan de la membrana plasmática, conocidas como vesículas matriciales, las que se ubican entre las fibrillas colágenas de mayor diámetro.

Es dentro de este medio que se depositan los cristales de apatita. Primero aparecen dentro de la vesícula de la matriz como cristales únicos, que crecen rápidamente y que se rompen a partir de los bordes de la vesícula para esparcirse como un racimo de cristalitos.

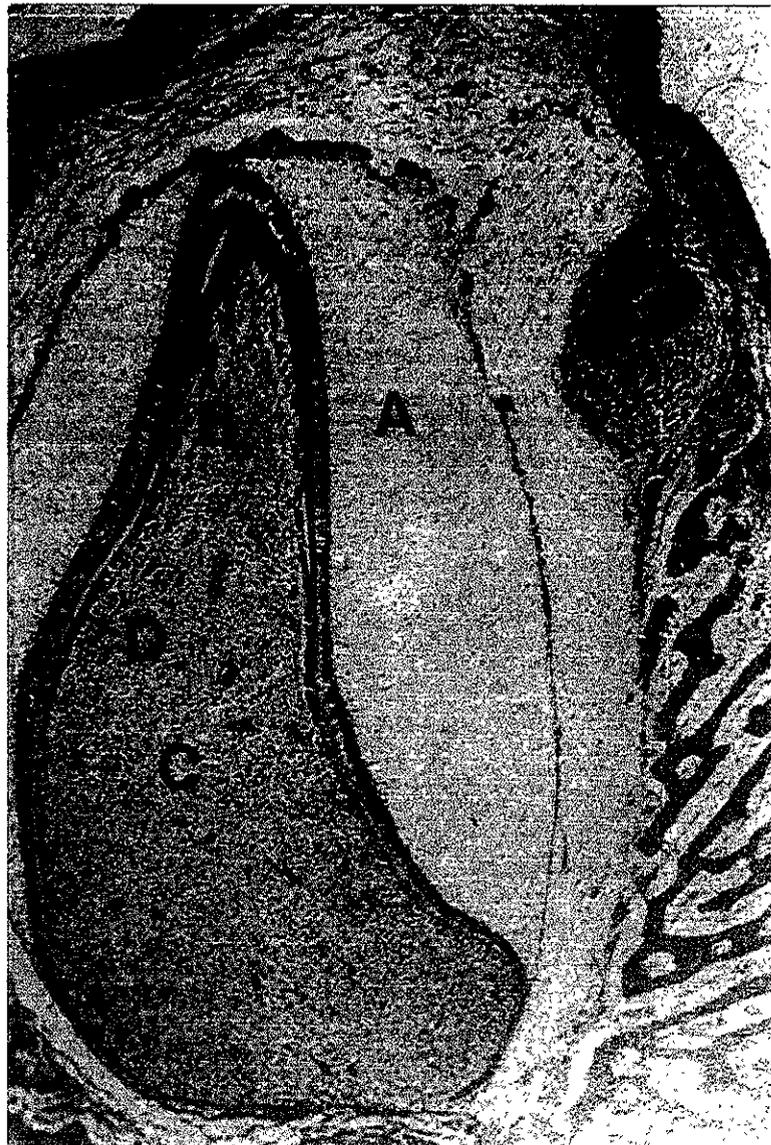
Los iones primarios de calcio y fosfato se acumulan en los grupos funcionales cargados de estas macromoléculas de la matriz y forman racimos. Después de exceder el radio crítico un núcleo de cristales se desarrolla en los sitios de nucleación y crecen para formar cristales de hidroxiapatita estables con un diámetro de 1-2 nm hasta que se unen con racimos adyacentes para formar la matriz ya mineralizada por completo.¹⁰

DENTINA DEL MANTO

A medida que se depositan los cristales de apatita, enmascaran las fibrillas colágenas de la matriz, de esta manera se forma la dentina del manto coronal. **Dentina del manto** es un término que se emplea para describir la dentina que se forma en un principio⁶; esta yace adyacente a la unión amelodentinaria o a la unión dentino-cementaria y se

extiende como una capa de espesor variable hasta la dentina circumpulpar.¹¹ (Fig. 12)

Las vesículas de la matriz en predentina del manto aparecen como cuerpos esféricos o redondeados con diámetro entre 50-200 μm están limitadas por una membrana unitaria trilaminar y contienen una matriz granular.⁸



- A = Organo del esmalte
- B = Dentina del manto
- C = Papila
- D = Capa odontoblástica

Fig. 12

DENTINA PRIMARIA

DENTINA CIRCUMPULPAR

Después que se ha formado la dentina del manto, se deposita el resto de la dentina primaria o dentina circumpulpar. Esta dentina forma el grueso de la pieza dentaria; su formación es similar a la dentina del manto, con tres excepciones notables:

Primero, las características de las fibrillas colágenas que forman la matriz son diferentes; las fibras aquí son mucho más pequeñas en diámetro, más estrechamente empaquetadas y entremezcladas las unas con las otras y alineadas generalmente en ángulo recto respecto de los túbulos. Segundo, la sustancia fundamental es un producto exclusivo del odontoblasto. La matriz orgánica de la dentina del manto incorpora parte de sustancia fundamental preexistente de la zona acelular, pero, debido al estrecho empaquetamiento de la capa odontoblástica, toda sustancia fundamental de la dentina circumpulpar debe originarse en esas células y no en la sustancia fundamental de la papila dental. Tercero, el patrón de mineralización es ligeramente diferente. No hay vesículas matriciales presentes a medida que se forma la dentina circumpulpar, la mineralización implica nucleación heterogénea, nucleación secundaria y crecimiento cristalino.⁴

Plate¹² y Höhling¹³ encontraron que el espesor de la dentina circumpulpar oscila entre 3.6-6.5 μm . Se encontró que las distancias

centro a centro entre las bandas cruzadas de colágena yacen principalmente en el mismo rango y concluyen que estas regiones pilares en la colágena son los sitios primarios para la nucleación de cristales. La formación de la **dentina primaria** es continua hasta que la forma externa del diente ha sido completada.

Aunque la colágena forma el enrejado por deposición de calcio y fosfato para la formación de carbonato de apatita, las proteínas no colagenosas se ha pensado que controlan la iniciación y crecimiento de los cristales. A pesar de esa similitud la dentina contiene tres proteínas únicas aparentemente ausentes en el hueso y otros tejidos: fosfoforin dentina, proteína I de la matriz dentinaria y sialoproteína dentinaria. Las dos primeras son fosfoproteínas ácidas probablemente involucradas en el control de los procesos de mineralización. La fosfoforin dentina puede localizarse en las regiones de vacíos de colágena e iniciar la formación de cristales uniendo grandes cantidades de calcio en una conformación que promueve este proceso.¹⁴

A pesar de las diferencias entre la formación de la dentina circumpulpar y la dentina del manto, el resultado es la producción de una matriz orgánica calcificada con cristales de apatita a través de la cual corren prolongaciones citoplásmicas de los odontoblastos que ocupan los túbulos dentinarios. Se debe formar siempre una matriz orgánica antes de que se puedan depositar sales minerales dentro de ella; por lo tanto siempre hay una banda de dentina no mineralizada

llamada predentina, entre los odontoblastos y la dentina mineralizada.⁴
(Fig. 13)

DENTINA SECUNDARIA.

La formación dentinaria no cesa después de que la anatomía del diente se ha establecido, sino que prosigue aunque a una velocidad mucho más lenta. Esta dentina se conoce como **dentina secundaria** y dá por resultado la reducción progresiva del tamaño de la cámara pulpar.⁴

La dentina secundaria es una banda estrecha de dentina limitando la pulpa y representa la dentina que se forma después de completada la raíz. Generalmente los túbulos están doblados donde se encuentran las dentinas del manto o primaria y secundaria. La dentina secundaria no se forma uniformemente y se encuentra en mayor cantidad en el techo y piso de la cámara pulpar.

La dentina se sigue formando durante toda la vida de un diente, de diferentes formas y con una velocidad de aposición variables.⁷

La dentina secundaria puede subdividirse en dentina regular (Fisiológica) e irregular (Patológica, reparativa o terciaria).¹⁵

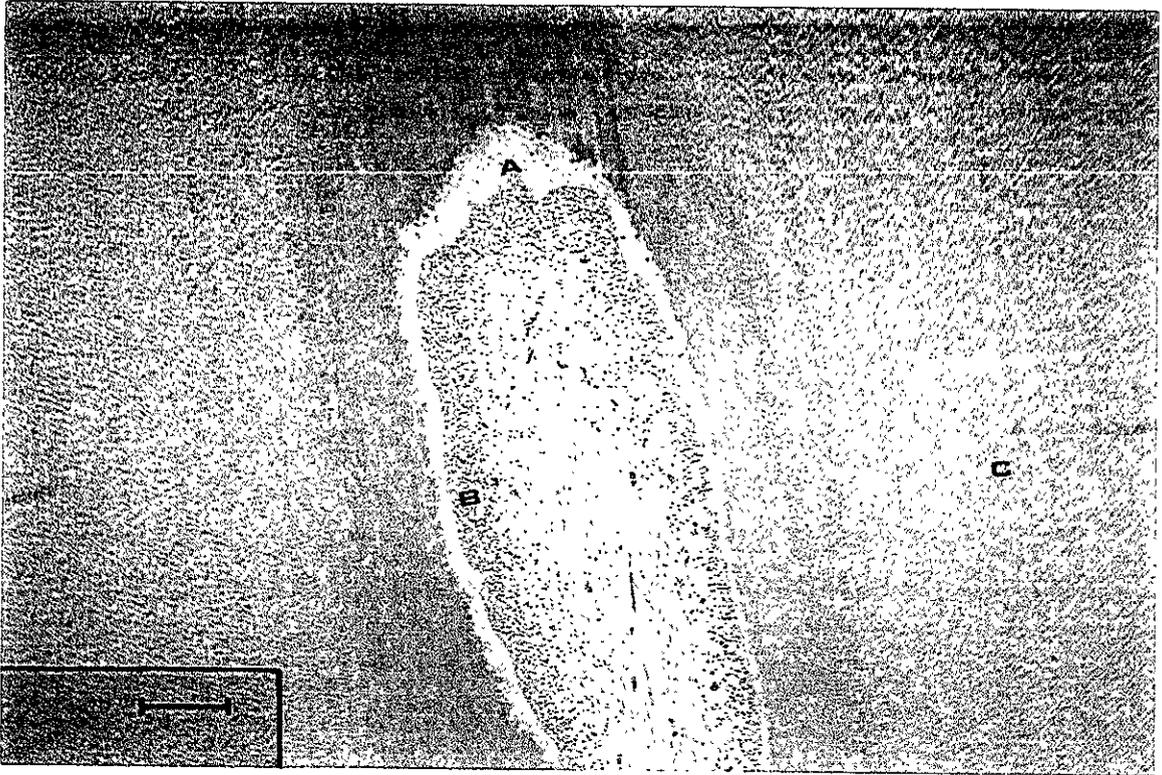


Fig. 13

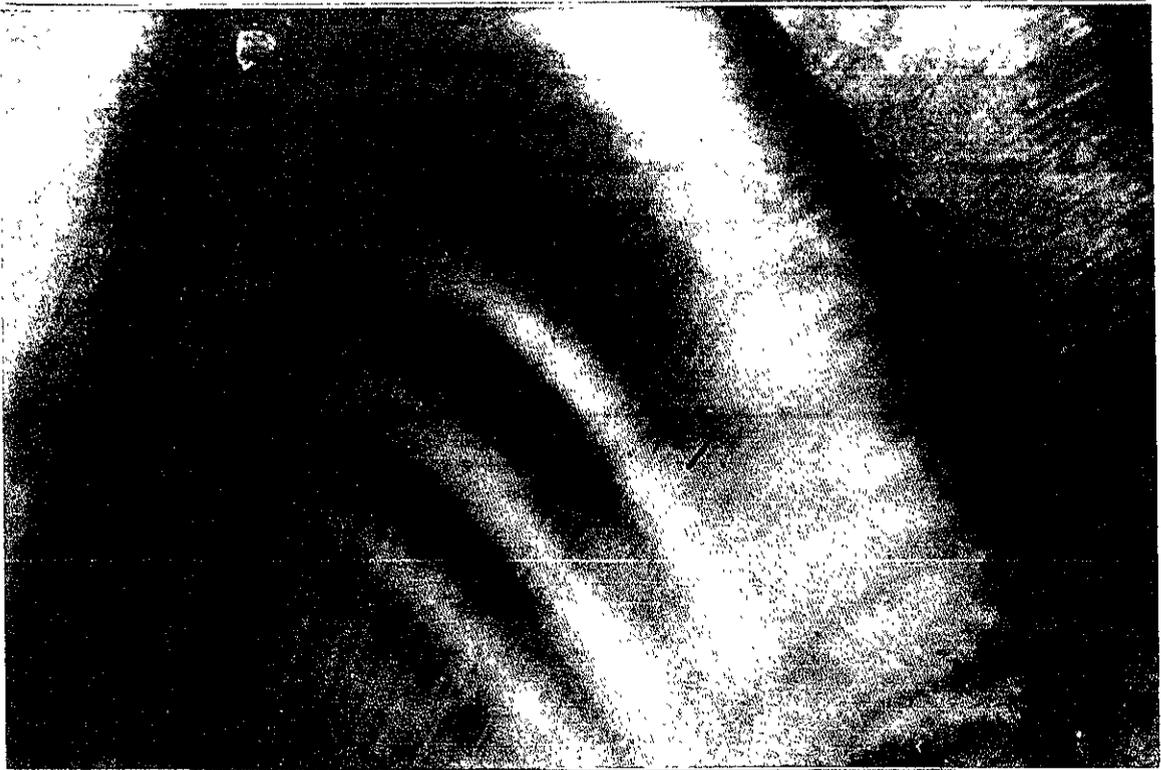
Imagen de microscopía óptica de un corte longitudinal de premolar humano que muestra la porción cameral. Nótese la banda de predentina (A) adyacente a los odontoblastos (B) y la dentina mineralizada (C). Tinción H y E (10X) Barra = 100 μ

LÍNEAS DE CRECIMIENTO.

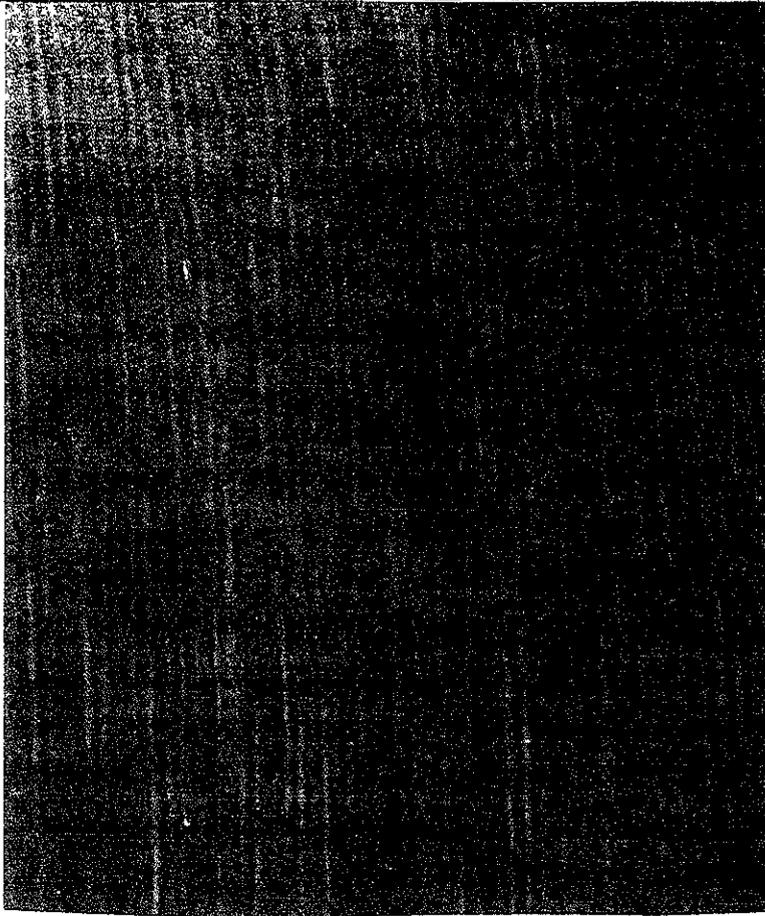
Las líneas incrementales (Von Ebner) o líneas de imbricación se aprecian como líneas finas. Éstas líneas reflejan el depósito recurrente y rítmico de la matriz de la dentina. La distancia entre las líneas es mayor en la corona que en la raíz. El incremento diario decrece después que el diente alcanza la oclusión funcional. El curso de las líneas indica el patrón de crecimiento de la dentina. Ocasionalmente algunas de las líneas de crecimiento están acentuadas debido a alteraciones en la matriz y el proceso de mineralización. Dichas líneas, se demuestran fácilmente en cortes por desgaste y son conocidas como líneas de contorno de "Owen".⁷ (Fig. 14)

Dentina Interglobular.

Algunas veces la mineralización de la dentina comienza en pequeñas áreas globulares que fracasan en unirse en una masa homogénea. Esto resulta en zonas de hipomineralización entre los glóbulos. Estas zonas se conocen como dentina globular o espacios interglobulares. Esta dentina se forma en la corona del diente, justo debajo de la dentina del manto. (Fig. 15)



A



B

Fig. 14

Imágenes de microscopía óptica de A) Líneas de OWEN. Tinción H y E Técnica contraste de fases (20X) y B) Líneas incrementales de Von Ebner Tinción H y E (10X)

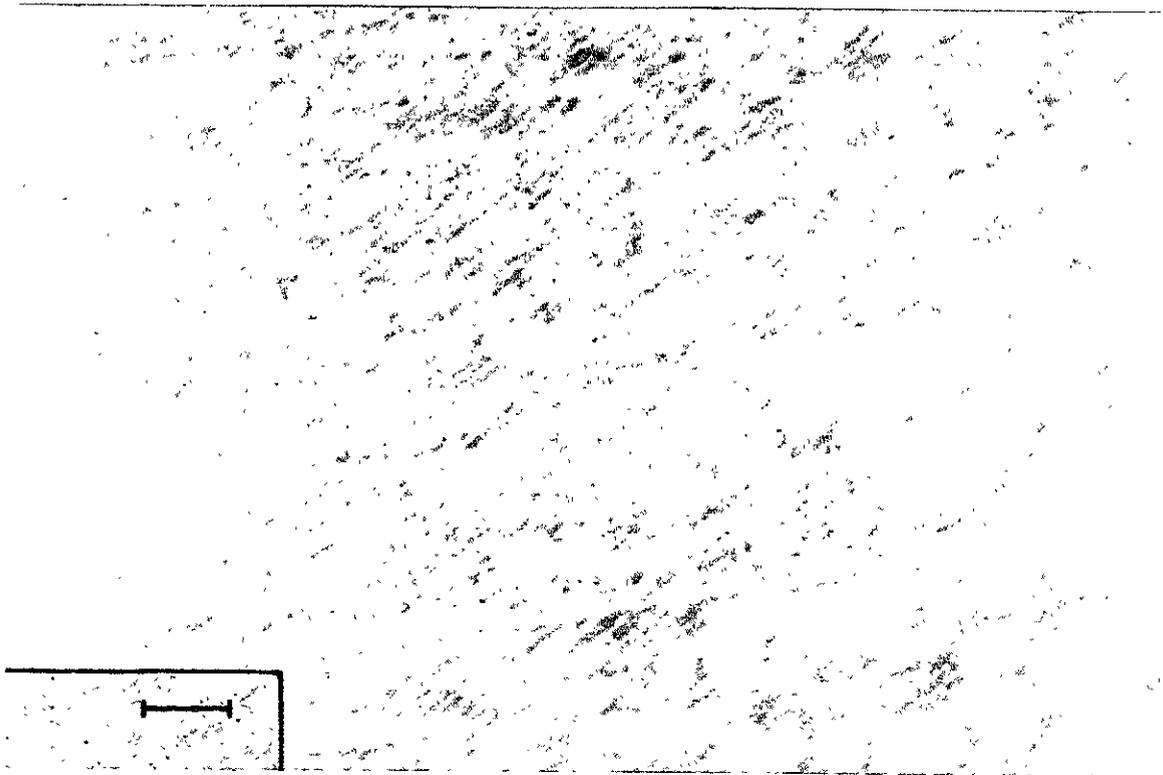


Fig. 15

Dentina interglobular vista en corte desmineralizado de diente humano.
Tinción Tricrómica de Masson (10X) Barra = 100 μ

Capa Granular

Cuando las preparaciones por desgaste, de la dentina radicular son observadas con luz transmitida, hay una zona adyacente al cemento que aparece granular; es lo que se conoce por capa granular de Tomes. Esta zona aumenta en cantidad de la unión cemento-adamantina al ápice de la raíz y se cree, que sea causado por la unión y la curvatura de las porciones terminales de los túbulos dentinarios.

DENTINA TERCIARIA.

La dentina terciaria es una dentina atubular depositada después de la dentina secundaria en respuesta a diferentes estímulos nocivos. Difiere de la dentina secundaria en su estructura y formación. También ha sido llamada dentina secundaria irregular, dentina terciaria, reparativa o de irritación. Presenta inclusiones celulares y no se considera tan permeable como la secundaria. D'Souza et al. mencionan que las células que la forman no son verdaderos odontoblastos ya que solo sintetizan colágena tipo I.¹⁶⁻¹⁹ (Fig. 16)



Fig. 16

Imagen de microscopía óptica de la dentina terciaria, obliterando la cámara pulpar (indicada por las flechas). Nótese la falta de tubulos dentinarios. Tinción H y E. (20X) Barra = 50 μ

INERVACIÓN DE LA DENTINA

Las fibras nerviosas han sido identificadas histológicamente como mielínicas ó fibras A y amielínicas o fibras C. Se cree que las fibras A son las responsables de la sensibilidad dentinaria.²⁰

Nervios intratubulares. Los túbulos dentinarios contienen numerosas terminaciones nerviosas en la predentina y la dentina interna. La mayoría de estas pequeñas terminaciones vesiculadas se localizan en túbulos en la zona de la corona específicamente en los cuernos pulpaes. Los nervios y sus terminaciones se encuentran en estrecha relación con los procesos odontoblásticos dentro del túbulo. Se cree que la mayoría de estas son prolongaciones terminales de las fibras nerviosas mielinizadas de la pulpa dental.

La extensión de las fibras nerviosas amielínicas dentro de los túbulos dentinarios con frecuencia está limitada a pocos micrómetros, pero algunas, pueden penetrar hasta 150 ó 200 micrómetros. Las fibras nerviosas intratubulares son más numerosas en la zona de los cuernos pulpaes, las fibras simpáticas forman plexo alrededor de las arteriolas pulpaes, pero también se han encontrado libres en el estroma pulpar sin proximidad aparente a los vasos.²¹

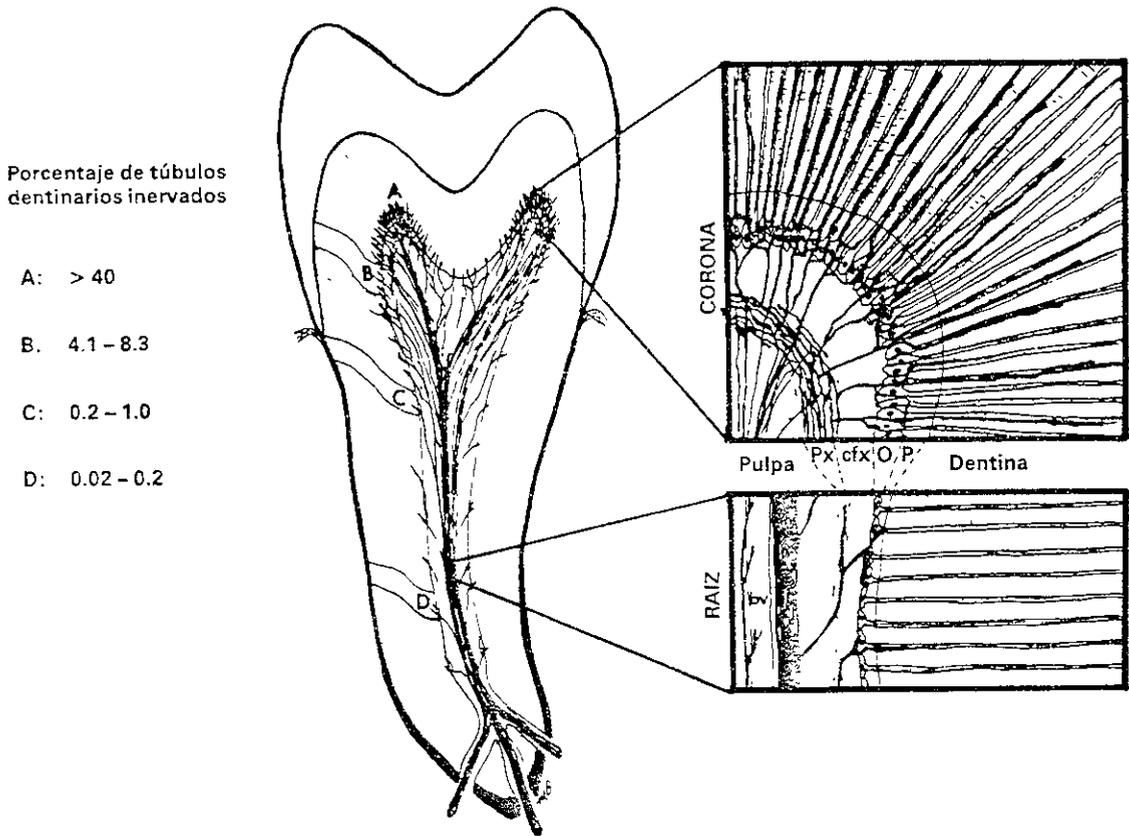


Fig. 17

Dibujo esquemático que muestra la ubicación de los nervios sensoriales en la pulpa y la dentina. Se señala el porcentaje de túbulos inervados en las regiones A a D (izquierda). Plexo de Raschkow (Px), zona libre de células (cfz), odontoblastos (O) y predentina (p). Tomado de Byers, M.: *Int. Rev. Neurobiol.*, 25:39, 1984

Las fibras mielinizadas A son más largas y gruesas, teniendo un diámetro de entre 1-6nm, mientras que el diámetro de fibras C es de 0.3-0.6nm.²² En algunos casos, un solo axón puede inervar una gran zona en el límite pulpa dentina y más de un ciento de túbulos dentinarios. Esto forma las bases morfológicas y fisiológicas de la extrema sensibilidad de la pulpa y la dentina.²³ (Fig. 17)

INERVACIÓN DE LA PULPA.

La supervivencia de cualquier organismo vivo depende de su capacidad para reconocer, responder y/o adaptarse a los cambios nocivos en su entorno. Esta función básica nerviosa y defensiva es aplicable a la pulpa dental. La identificación consiente de las circunstancias que irritan un diente permite al paciente corregir el problema antes de que puedan producir efectos irreversibles. Esta identificación es posible gracias a que los receptores dolorosos del complejo pulpo-dentinario están conectados con el Sistema Nervioso Central (SNC) por una vía aferente. El dolor tiene un carácter multidimensional y está influido por factores cognitivos, emocionales y de motivación.³ (Fig. 18)

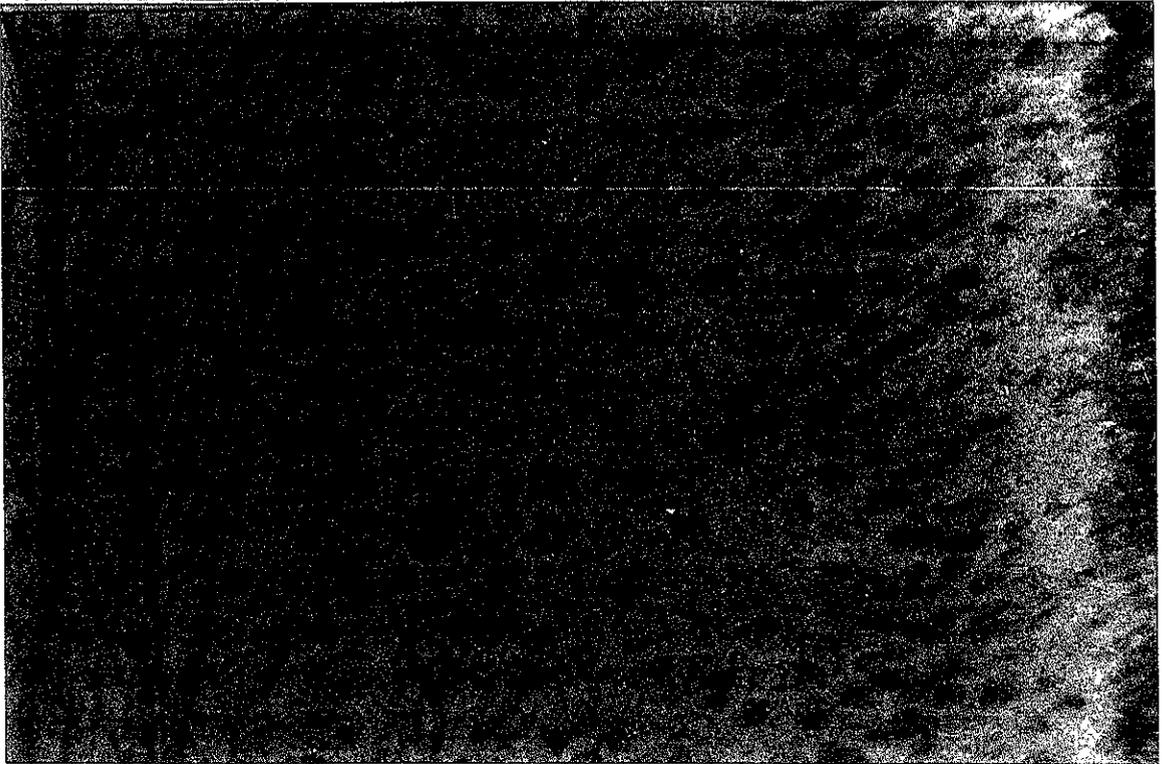


Fig. 18

Imagen de microscopía óptica que muestra la abundante inervación del tejido pulpar (flechas).
Tinción de plata 100X.

IRRIGACIÓN DEL TEJIDO PULPAR

La pulpa dispone de un sistema vascular exclusivo que le permite superar los problemas derivados de estar encerrada en una caja rígida. Arteriolas procedentes de las arterias dentales penetran por el agujero apical y discurren por el centro de la pulpa, dando ramas laterales que a su vez se subdividen en capilares. Por los conductos laterales pueden entrar vasos de menor calibre, pero es poco probable que proporcionen suficiente circulación colateral. Al estrato odontoblástico llegan vasos más pequeños, que se dividen ampliamente formando un plexo por debajo y por el interior del estrato odontoblástico. El retorno venoso es recogido por una red de capilares que se unen formando vénulas que descienden por la zona central de la pulpa. Esta disposición presenta una característica única: una derivación arteriovenosa que impide que se acumule una presión intolerable en ese entorno tan rígido. No se ha podido confirmar la existencia de vasos linfáticos. En general, el aporte sanguíneo va disminuyendo con la edad y el sistema de irrigación se va simplificando. Al disminuir el aporte sanguíneo la pulpa puede volverse más propensa a daños irreversibles. (Fig. 19)

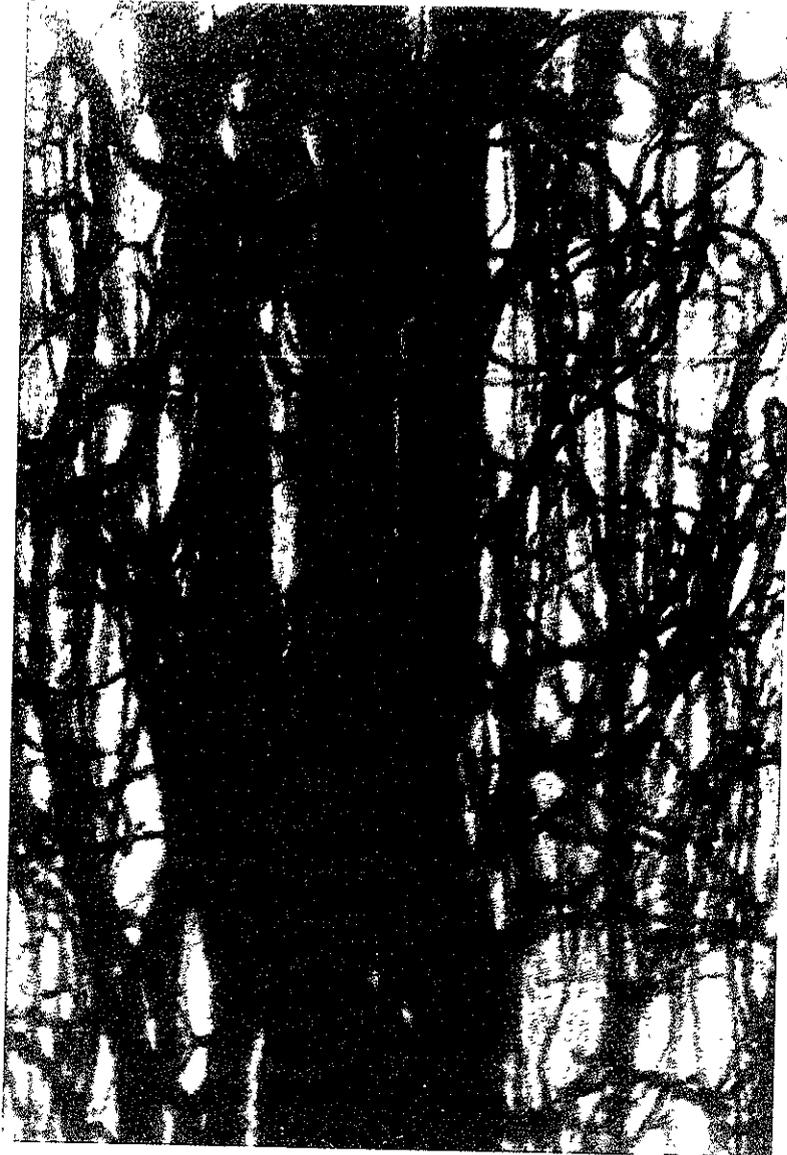


Fig. 19

Imagen de microscopía óptica del pexo capilar del tejido pulpar adyacente a la dentina. Inyección de tinta china 20X.

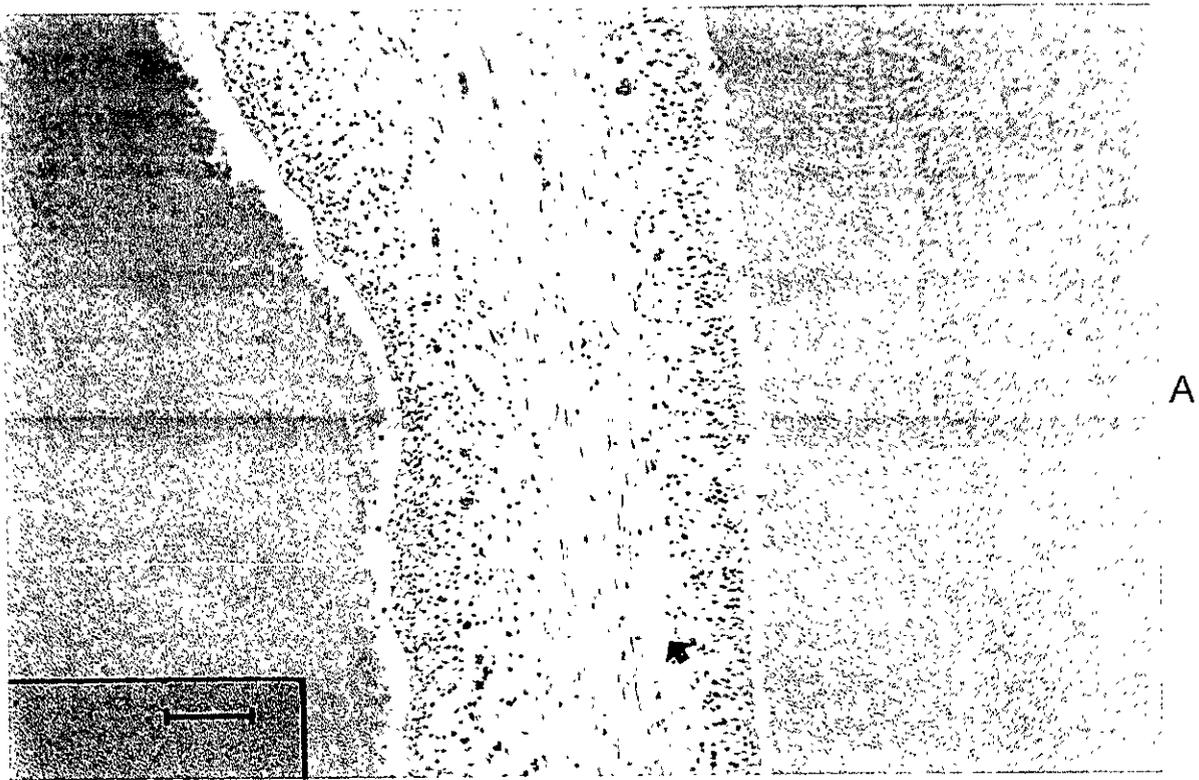
CAMBIOS PULPARES CON EL ENVEJECIMIENTO

Dimensionales

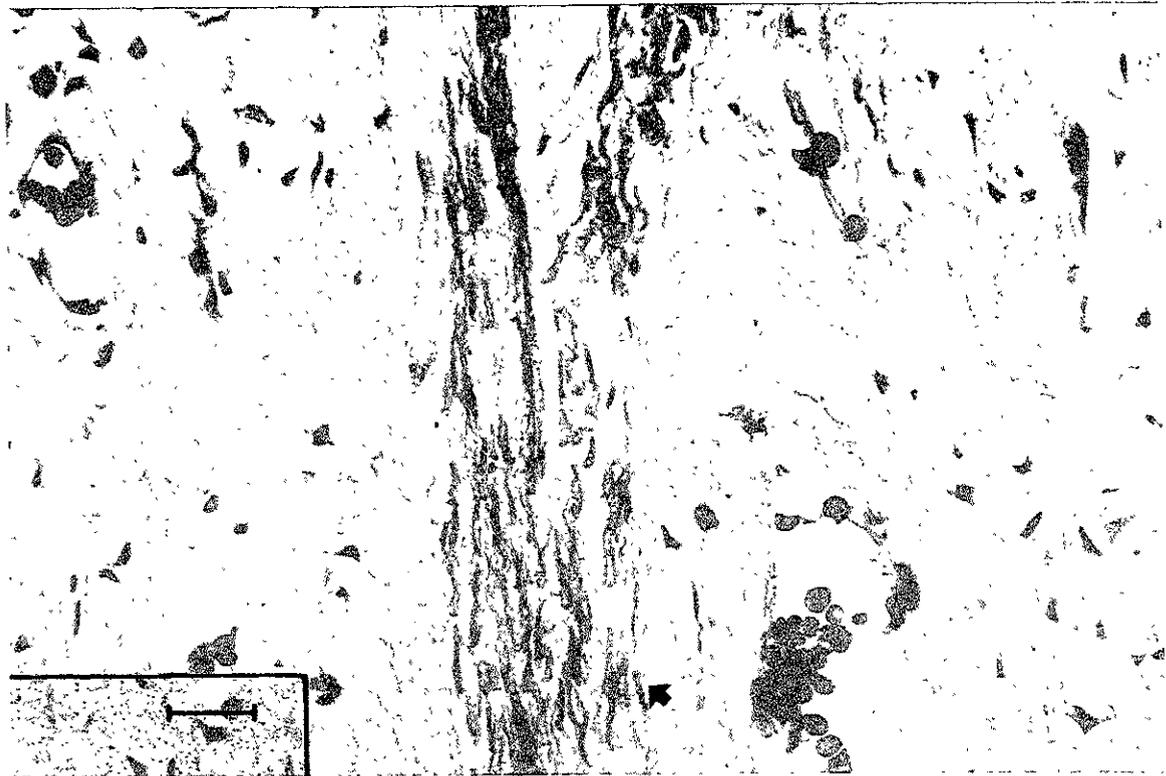
El volumen pulpar disminuye por el efecto del tiempo, las lesiones ó ambos factores al formarse tejidos calcificados adicionales sobre las paredes. La formación de dentina irritacional también modifica la anatomía interna.

Estructurales

Aunque no se han publicado estudios cuantitativos exactos, hay acuerdo en que el número de células disminuye y el componente fibroso aumenta con el envejecimiento de la pulpa. El aumento de la fibrosis con el paso del tiempo no se debe a la formación continua de colágeno, sino tal vez a la persistencia de las vainas del tejido conectivo en un espacio cada vez más estrecho. También existe una disminución en el número de vasos sanguíneos y nervios que penetran en la pulpa envejecida, así mismo muchas de las arterias presenta cambios arteroescleróticos similares a los observados en otros tejidos. No sólo disminuye el número de células sobre todo fibroblastos y odontoblastos sino que las células restantes parecen estar casi inactivas. Estas células ordinariamente activas revelan un menor número de organelos, relacionados con la síntesis y la secreción.⁴ (Fig. 20)



A



B

Fig. 20

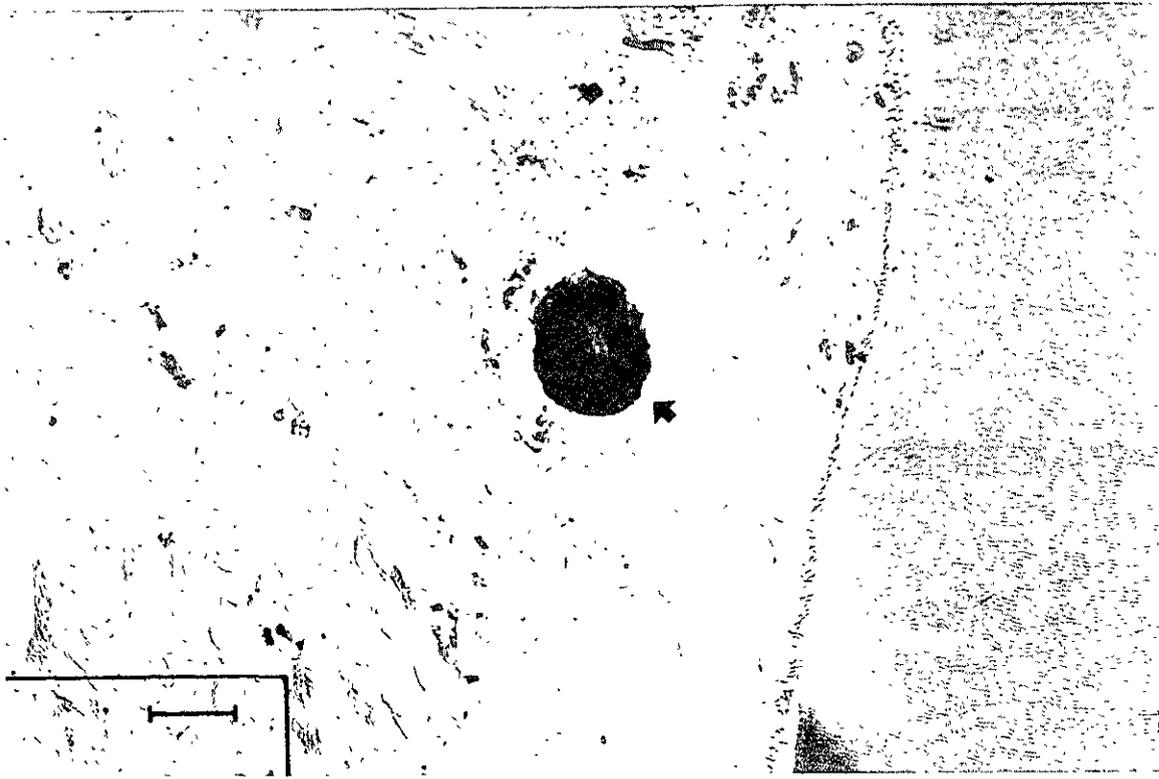
Imágenes de microscopía óptica de la fibrosis del tejido pulpar indicado por las flechas.

Tinción H y E A = 10X Barra = 50 μ
B = 20X Barra = 100 μ

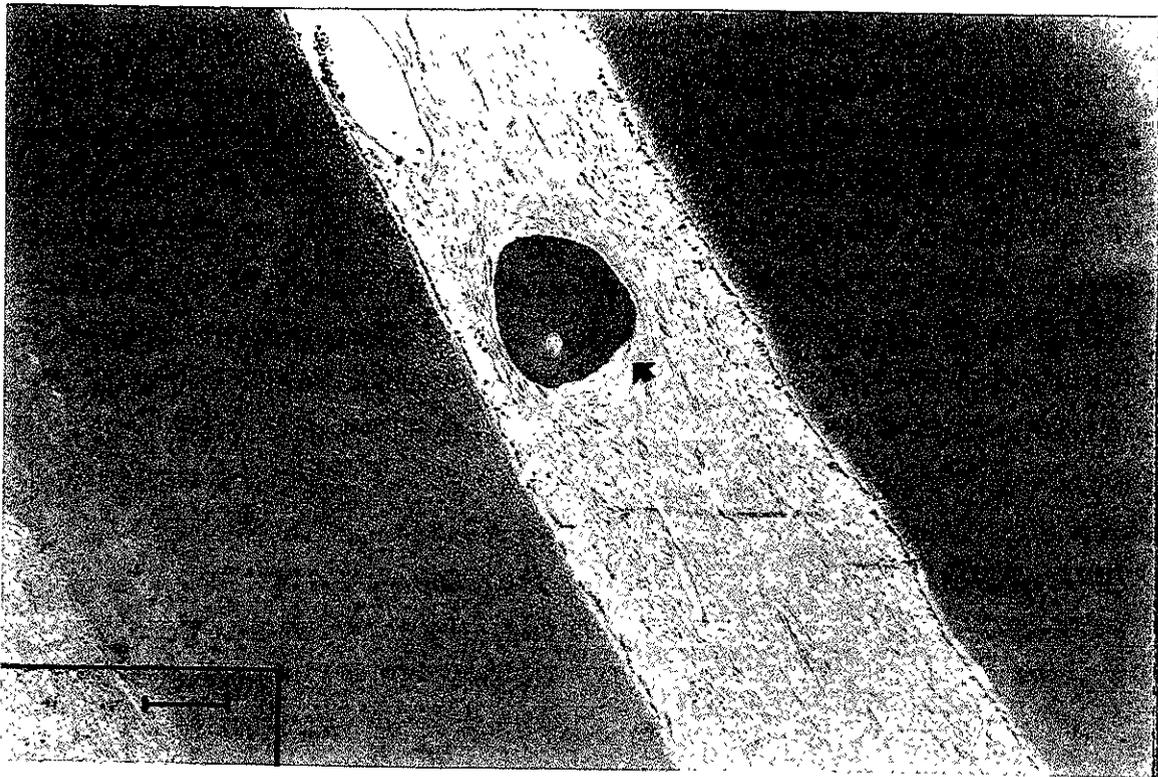
DEPÓSITOS MINERALES

Un hallazgo frecuente en la pulpa es la presencia de depósitos o cálculos minerales, generalmente en dientes con alteraciones pulpares pero también en dientes que no han erupcionado. Se ignora la causa de la calcificación. La calcificación puede ser de dos tipos: a) calcificaciones lisas y redondeadas que se forman por acumulación de láminas concéntricas y que se localizan en la pulpa coronal y b) calcificaciones irregulares sin laminaciones, más frecuentes en la pulpa radicular. Los cálculos laminados crecen por la adición de fibrillas de colágeno a su superficie, y los irregulares por calcificación de haces de fibras colagenosas preexistentes. Las calcificaciones pueden representar un cambio distrófico, pero no siempre se acompañan de cambios degenerativos. La principal consecuencia clínica de la calcificación consiste en los problemas que puede causar durante el tratamiento endodóncico. Algunas veces la calcificación puede casi obliterar el espacio pulpar, lo que puede dificultar la localización y el avance a través de los conductos. Por otra parte, los cálculos desprendidos pueden desplazarse apicalmente produciendo un bloqueo. La calcificación irregular del conducto puede también albergar bacterias y dificultar aún más su eliminación.¹ (Fig. 21)

Pese a inflamaciones crónicas o a reducciones de tamaño de la cámara pulpar por aposición de dentina en personas mayores, los



A



B

Fig. 21

Imágenes de microscopía óptica que muestra la presencia de zonas mineralizadas (cálculos) en el interior del tejido pulpar cameral (A) y radiuclar (B)

Tinción H y E (10X) Barra = 100 μ

nervios pueden mostrarse morfológicamente inalterados. En presencia de bacterias y necrosis de la pulpa coronaria, se presenta grave inflamación de la pulpa radicular, periodontitis apical crónica, pueden persistir los nervios del tercio apical del conducto. Los haces nerviosos conservan su vitalidad y funciones en dientes de personas ancianas.⁵

PERMEABILIDAD DENTINARIA

La dentina provee el mayor volumen y la forma general del diente y se caracteriza por ser un tejido duro con conductillos que atraviesan su espesor es decir desde la unión amelodentinaria hasta la pulpa, y aumentan en tamaño desde la periferia hacia la pulpa. Como resultado de su presencia, la dentina permeable y los tejidos pulpaes pueden estar en continuidad con la boca o con un material de restauración, originando muchos fenómenos clínicos, como la sensibilidad dentinaria o sensibilidad postoperatoria. La dentina humana contiene entre 19000 y 45000 túbulos por milímetro cuadrado.²⁶

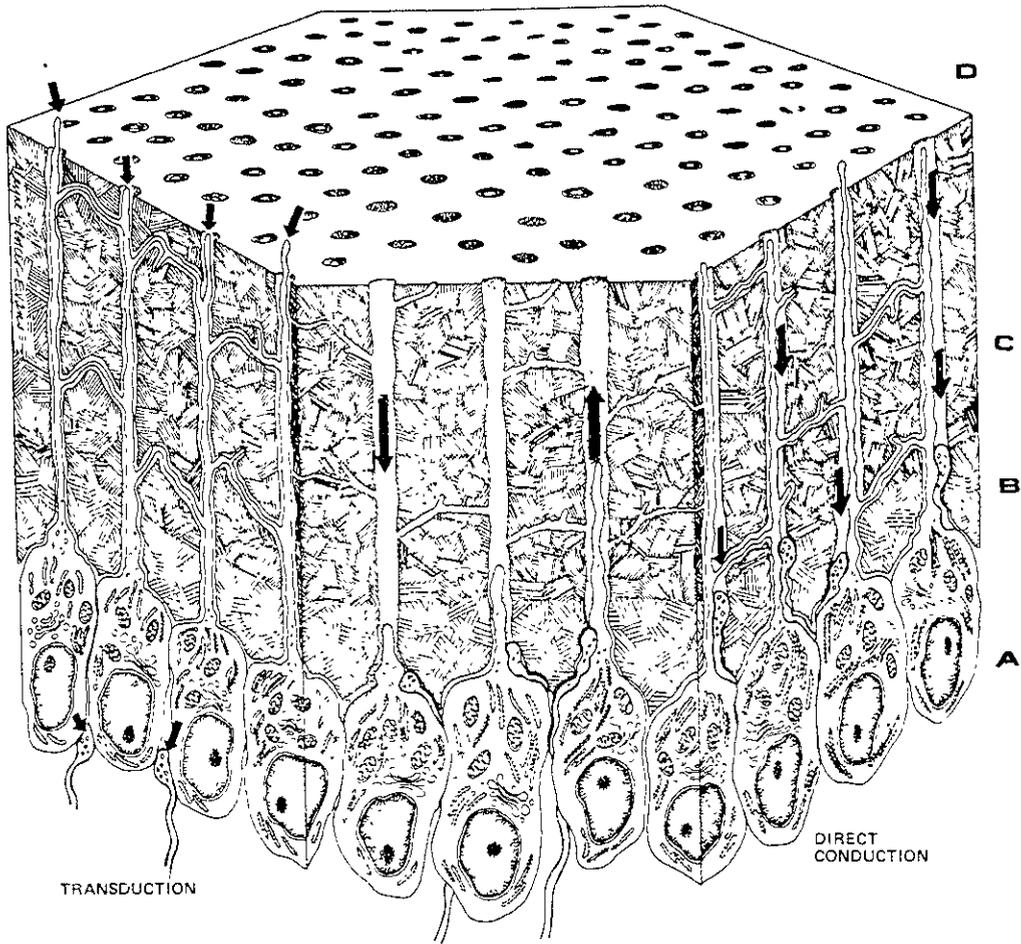
La principal característica morfológica de la dentina es su estructura tubular llena de fluidos que conectan la pulpa con la unión amelodentinaria. Este movimiento de fluidos dentro de los túbulos dentinarios ha sido llamado permeabilidad transdentinaria y es responsable de la sensibilidad dentinaria de la dentina expuesta y de

ciertos tipos de sensibilidad de dentina restaurada. La permeabilidad transdentinaria también es responsable de la constante humedad de las superficies de dentina expuesta debido al movimiento al exterior de los fluidos desde la pulpa.²² (Fig. 22)

En términos biológicos la estructura tubular de la dentina la hace permeable solo después de que pierde la cubierta periférica del diente (esmalte). El diámetro de los túbulos dentinarios humanos varía desde $0.9 \mu\text{m}$ cerca de la unión amelodentinaria hasta $2.5 \mu\text{m}$ en la predentina.²⁴

Existe una íntima relación entre el esmalte y la dentina en donde la dentina apoya o soporta al esmalte duro pero quebradizo disipando las fuerzas de la masticación a través de su matriz más resiliente, mientras que la mayor resistencia al desgaste del esmalte ayuda a proteger a la dentina más blanda del desgaste excesivo.²⁷

La hipersensibilidad se ha creído que resulta de la exposición de la dentina subyacente al medio oral. La dentina está normalmente cubierta por esmalte en la corona y por cemento en la superficie radicular y donde estos dos tejidos están ausentes la dentina está cubierta por una capa de barrillo dentinario; este barrillo puede ser de composición mineral y orgánica y se ha demostrado que ocluye los túbulos dentinarios. Ha sido una observación común que la dentina



Transducción

Hidrodinámica

Conducción Directa

Fig. 22

Esquema de la relación de la permeabilidad y sensibilidad dentinaria. A) Odontoblastos, B) Predentina, C) Dentina y D) Túbulos dentinarios permeables.

A la izquierda se muestra la teoría de la transducción: la transformación de un tipo de energía en otra. En este caso hacia las fibras nerviosas en la cual la membrana del proceso odontoblástico conduce un impulso hacia las terminaciones nerviosas, a la predentina, capa odontoblástica y finalmente a tejido pulpar.

En el centro se representa la teoría hidrodinámica con movimiento de fluidos en ambos sentidos dentro de los túbulos, el cual causa movimiento de la capa odontoblástica y estimula las terminaciones nerviosas.

A la derecha se muestra la teoría de la conducción directa, en la cual se estimulan directamente las terminaciones nerviosas. Tomado de AVERY JK et al. En: Linde A. Dentin and dentinogenesis. CRC Press. Boca Raton Vol. I. 1984:35

cervical hipersensible está desprovista de barrillo dentinario y la evidencia indica que en dientes hipersensibles los túbulos dentinarios pueden estar abiertos en la superficie dental y exponen de cierta forma la pulpa.²⁸⁻²⁹

La sensibilidad cervical dentinaria puede definirse como el dolor que se origina por dentina expuesta. Actualmente el mecanismo más aceptado de activación nerviosa intradental asociado con sensibilidad dentinaria parece ser de naturaleza hidrodinámica.³⁰ Pashley confirmó que la obturación de los túbulos dentinarios reduce la permeabilidad dentinaria y provoca disminución en la sensibilidad.²⁴ Otros autores mencionan que en dientes con anomalías hay reducción en el número y variación de tamaño de los tubulos dentinarios y concluyen que si están obstruidos, disminuyen la sensibilidad.³¹

Cristalografía de la dentina humana.

El objetivo de este segmento es difundir algunos aspectos teóricos del ordenamiento atómico, esenciales para entender como se comporta la materia de los compuesto que, en este caso, es la dentina humana.

Cada molécula o grupo atómico es un patrón repetido de celdas formadas por átomos, y la cristalografía trata de explicarlos. Se le denomina cristal al ordenamiento de los átomos en una red que se repite.³²

De acuerdo al orden interno de los átomos, los sólidos se clasifican en: cristalinos, amorfos y cuasicristales.

Las sustancias amorfas no tienen un orden establecido y los cuasicristales representan una fase intermedia entre los cristales y los amorfos.³³

Houllé y col. reportan que en el esmalte, hueso y dentina existen pequeños cristales de hidroxiapatita (HA); ellos observaron partículas nanométricas en los tres tejidos y su orientación no siempre se relaciona con la de los cristales vecinos, esto parece indicar que el éctomesenquima juega algún papel controlando el inicio del proceso de nucleación de la mineralización y en la orientación de la formación de cristales.³⁴

Las primeras formaciones de cristales en los tejidos duros ricos en colágena como la dentina, son laminillas delgadas de aproximadamente 2nm, pero mucho mayores en longitud y anchura. Están compuestas por cadenas de fosfato de calcio y hebras nanométricas de apatita, que se desarrollan a lo largo de las macromoléculas de la matriz de colágena. Estas cadenas coalescen en dirección bilateral para formar listones de cristalitos.^{10, 35}

Por medio del análisis de difracción con microscopía electrónica de transmisión se ha encontrado que las distancias centro a centro entre las partículas nanométricas de apatita, dentro de las cadenas primarias apatíticas, pueden reflejar las distancias en los sitios de nucleación.³⁵

El tamaño de los cristales de apatita en la dentina es mucho menor que en el esmalte. En 1989 se propuso que la formación de cristales de HA puede estar precedida por la formación transitoria de precursores como el fosfato octacálcico (OCP). Esta posibilidad trata de explicar la ausencia de cristales de HA con simetría hexagonal en los estadios iniciales de la mineralización. El OCP interviene tanto en la mineralización como en la desmineralización. Se sabe que el carbonato es el componente más abundante de los cristales, su incorporación a estos limita el crecimiento a lo largo pero lo promueve a lo ancho.

Las marcadas diferencias en el tamaño de los cristales de apatita entre esmalte, hueso y dentina se atribuyen a las diferencias en la

naturaleza y composición de sus matrices orgánicas; el gel tixotrópico de la matriz orgánica del esmalte se supone que permite el crecimiento de grandes cristales de apatita, mientras que la matriz de hueso y dentina es más rígida y colagenosa por lo que se piensa que restringe el crecimiento de los cristales.³⁶

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La revisión exhaustiva de la literatura mundial, nos indica que a través de las últimas décadas se han realizado diversos estudios enfocados al análisis de la histología tanto de la dentina humana como del tejido pulpar por separado. Pocos, por no mencionar ninguno, han abordado la ultraestructura del complejo pulpo-dentinario; hasta el momento no encontramos información que describa como interactúan las fibras de la dentina con las de la pulpa dental; así como los cambios de los túbulos dentinarios post-maduración, o bien la estructura interna de los túbulos dentinarios, o como es la forma de la unión pulpo-dentinaria. Por lo tanto, es importante realizar investigaciones que profundicen en dichos conocimientos para el mejor entendimiento de la histofisiología, de este complicado sistema.

En este trabajo de tesis nos hemos dado a la tarea de estudiar la dentina y la unión pulpa-dentina por diferentes técnicas de microscopía como son: microscopía de luz o fotónica, microscopía electrónica, tanto en su modo de barrido (MEB) como de transmisión (MET).

JUSTIFICACIÓN

Adelantar un estudio científico que permita la caracterización de la forma y estructura interna del complejo pulpo-dentinario, que describa la forma de interacción de las fibras, tanto de dentina como de pulpa y la estructura de los tejidos dentinarios entre otros aspectos, permitirá, en primera instancia, profundizar en los conocimientos de las bases histológicas y morfológicas del complejo pulpo-dentinario, sustentada sobre el conocimiento actual del comportamiento biológico de los tejidos y confrontar estos hallazgos con el conocimiento ya establecido que tradicionalmente se ha venido aceptando. Además el presente trabajo permitirá continuar esta línea de investigación en estudios posteriores que sirvan para determinar si este hecho se comporta con el mismo perfil.

HIPÓTESIS

H₁ La pulpa dental y la dentina humana, aunque son tejidos diferentes, se unen en un punto determinado y muestran características similares.

H₂ La mayoría de las prolongaciones odontoblásticas quedan inmersas dentro de los túbulos dentinarios en la preentina.

H₃ Las características estructurales de los tejidos pulpar y dentinario son semejantes en la unión de estos dos tejidos.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la estructura interna y composición química del complejo pulpo-dentinario en premolares jóvenes, por medio de Microscopía óptica (MO), Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y Microscopía Electrónica de Transmisión (MET).

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Determinar la forma y estructura interna del complejo pulpo-dentinario en premolares jóvenes.
2. Determinar las características morfológicas que conforman la dentina humana y su relación con el tejido pulpar por Microscopía Electrónica de Barrido (MEB).
3. Determinar la ultraestructura de la dentina humana mediante Microscopía Electrónica de Transmisión (MET).
4. Determinar la forma de interacción de las fibras del tejido pulpar con las de la dentina.
5. Microanalizar químicamente la dentina humana por espectrometría de dispersión de energía de rayos X (EDS).

CAPITULO I

MICROSCOPIA

I. Microscopía Óptica

El deseo de ver las partes que conforman los objetos es inherente a la curiosidad humana. Esto incluye el querer analizarlos a escala microscópica: cada uno de nosotros siempre ha mostrado fascinación cuando observa la naturaleza a través de una lupa, un microscopio óptico, o cualquier instrumento que permita observar cada vez con mayor detalle los objetos pequeños. Esta curiosidad fue precisamente la que condujo al holandés Zacharias Janssen a concebir el microscopio "óptico" compuesto en 1590, ejemplo entre miles de los que podemos mencionar, ya que desde tiempo inmemorial el hombre ha tratado de construir instrumentos que le ayuden a entender la naturaleza que lo rodea. En 1878 Ernst Abbe anunció que el microscopio óptico había ya alcanzado un límite de resolución y que éste no podía incrementarse mediante el perfeccionamiento técnico de las lentes. El microscopio óptico, ha sido una fuente productora de conocimientos casi inagotable y se ha convertido en una herramienta fundamental de la física moderna, la ciencia de los materiales y la biología.³⁷

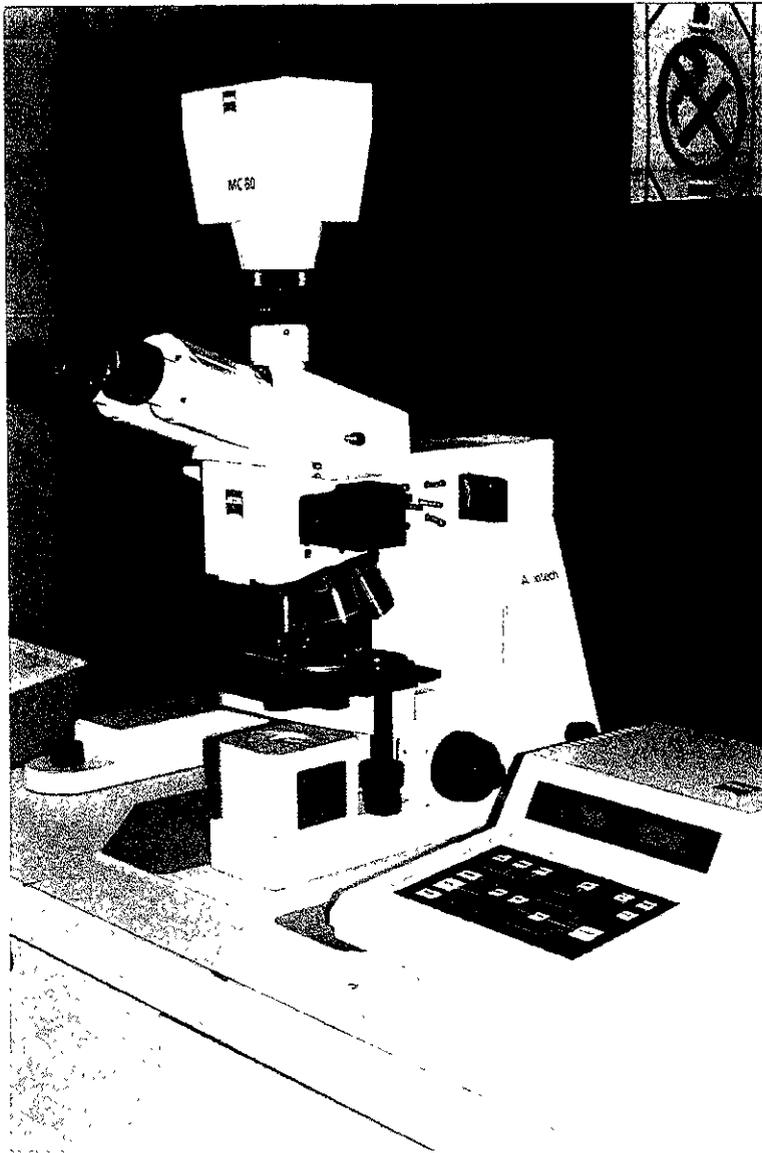


Fig. 1.1

Microscopio Optico Zeiss modelo Axiotech utilizado en este trabajo de tesis.

II. Microscopía Electrónica de Transmisión.

El microscopio electrónico de transmisión (MET) consiste fundamentalmente de un cañón de electrones (su fuente de iluminación), lentes condensadoras, lente objetiva, lentes intermedias y lente proyectora. El cañón electrónico es la única lente electrostática que tiene el microscopio electrónico; las demás son lentes electromagnéticas. (Fig. 1.2)

Cuando el haz de electrones interacciona con la muestra se producen varios tipos de señales, las cuales nos permiten hacer la caracterización estructural y química de ésta. Estas señales son: electrones retrodispersados, secundarios, absorbidos, Auger, transmitidos y rayos X característicos. Los electrones retrodispersados y secundarios nos dan información sobre la superficie de la muestra, permitiéndonos de este modo obtener una imagen topográfica de ella.

Los electrones absorbidos nos dan información sobre la resistibilidad de la muestra. Los electrones Auger y los rayos X característicos

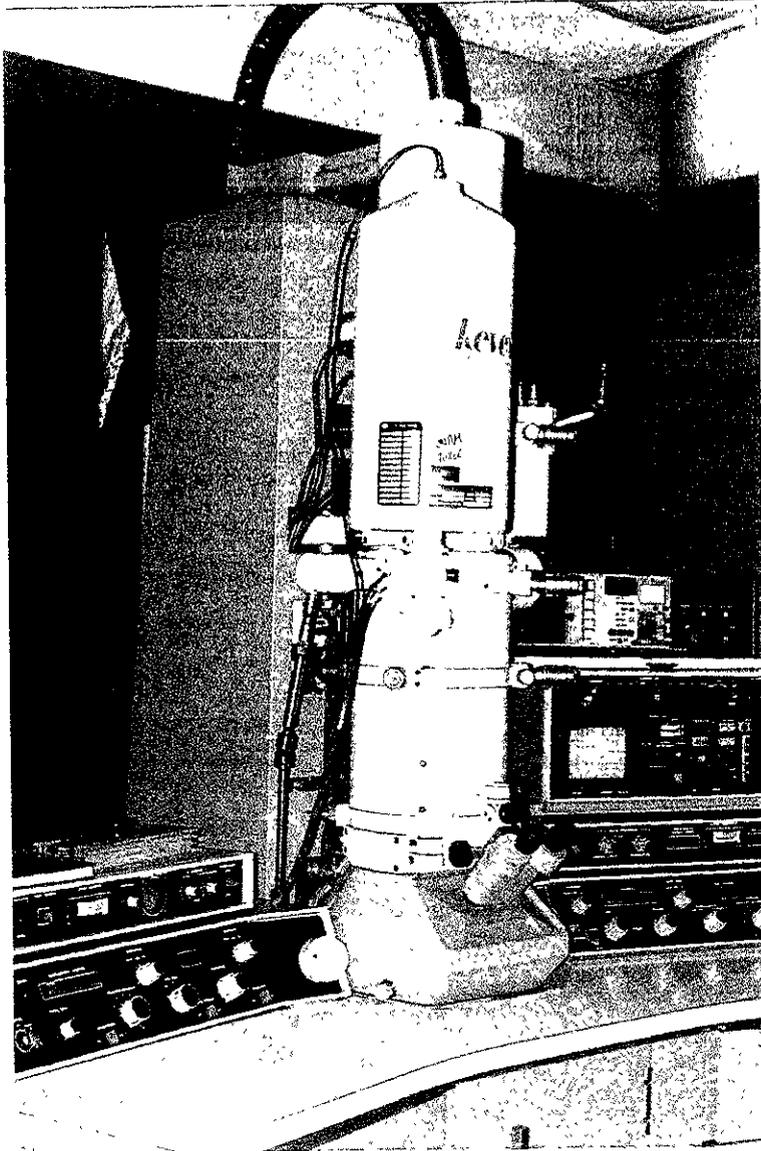


Fig. 1.2

Fotografía del Microscopio Electrónico de Transmisión Jeol 100cx del Instituto de Física de la UNAM utilizado en este trabajo de tesis.

dependen de la composición química de la muestra, permitiendonos hacer, por lo tanto, un análisis químico de ella. Los electrones que atraviesan la muestra los podemos clasificar en dos tipos: transmitidos, es decir aquellos que pasan la muestra sin ser desviados de su dirección incidente; y difractados, que son aquellos que si son desviados de su dirección de incidencia. Los haces transmitidos y difractados son los que usa la lente objetiva para formar la imagen de la muestra en un microscopio electrónico de transmisión. Cuando ellos pasan a través de la muestra, aportan información sobre las características estructurales de ésta. Si en lugar de enfocar plano-imagen de la lente objetiva para observar la imagen de la muestra, enfocamos el plano focal de ésta, lo que se observa es un arreglo de puntos luminosos que recibe el nombre de patrón de difracción el cual presenta un punto muy intenso (el haz transmitido) rodeado por varios puntos (los haces difractados), presentando un arreglo geométrico el cual es característico de la muestra. Por lo tanto, el análisis del patrón de difracción nos permitirá hacer el estudio de la estructura atómica de la muestra. De hecho, los patrones de difracción son la huella digital de ésta.

Como se puede observar de lo anterior el análisis de cada una de las señales producidas durante la interacción haz-muestra nos permite hacer una caracterización completa, lo cual convierte al microscopio electrónico en un poderoso instrumento de análisis.³²

III. Microscopía Electrónica de Barrido

El primer microscopio electrónico de barrido fue construido por el físico Alemán Manfred von Ardenne en 1938 y se distribuyó comercialmente en 1965 por la compañía Británica Cambridge Instruments.

En este microscopio se utilizan fundamentalmente electrones retrodispersados y secundarios los cuales dan información precisa de la superficie de la muestra permitiéndonos de este modo obtener una imagen topográfica de ella.

Estos electrones nos dan una imagen real y tridimensional de la muestra a analizar para determinar sus características morfológicas y topográficas.

A este tipo de aparatos se les pueden adaptar otras técnicas analíticas como un detector de rayos X característicos lo que permite hacer un análisis químico de la muestra.³² (Fig. 1.3)

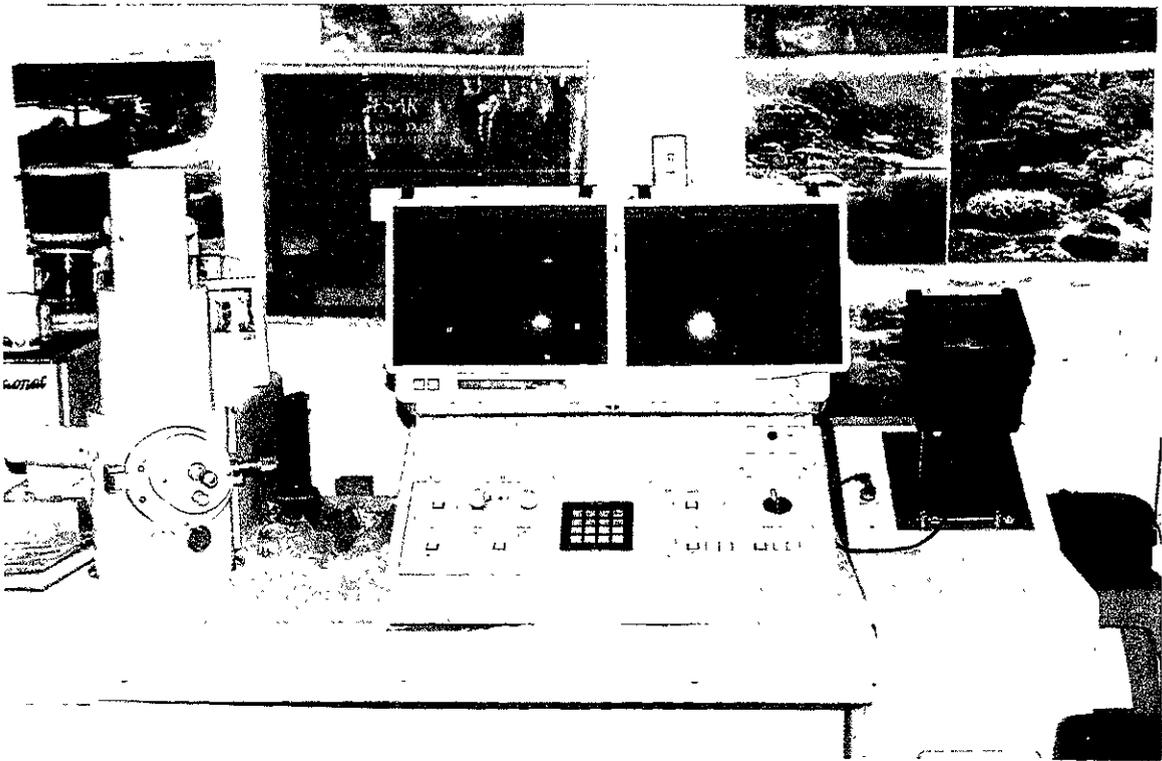


Fig. 1.3

Fotografía del Microscopio de Barrido Jeol JMS5200 del Instituto de Física de la UNAM utilizado en este trabajo de tesis.

CAPITULO II

METODOLOGIA

Se analizaron 30 premolares sanos de pacientes de ambos sexos, cuyas edades fluctuaron entre los 15 y 21 años, remitidos de la Clínica de Ortodoncia para su extracción.

Los pacientes fueron anestesiados localmente con xilocaína con epinefrina al 2%, se procedió a hacer la extracción de los premolares. Se fijaron en formalina buffer al 10% (solución neutra amortiguada de formalina) por un tiempo mínimo de 72 horas.

I. Preparación de especímenes para Microscopía Óptica

Los especímenes fueron procesados en el Laboratorio de Histopatología. Se desmineralizaron en ácido nítrico al 5%, se procesaron en el Histokinete y posteriormente se incluyeron en parafina de alta fusión para realizar cortes seriados de 5 micras, para lo cual se utilizó un microtomo con hojas de acero inoxidable marca Hitz.

Para el montaje de las muestras se utilizaron porta-objetos de corte diamantado de 26 x 76 mm, a los cuales se les agregó albúmina y

agua bidestilada para adherir los cortes, luego se dejaron en una estufa eléctrica a 50°C, durante 12 hrs. para lograr su adherencia óptima. Las laminillas fueron seleccionadas para tinción con hematoxilina y eosina (cada 5 laminillas), para ser analizadas detalladamente en un microscopio óptico Axiophot (ZEISS).

II. Preparación de muestras para Microscopía Electrónica de Barrido (MEB).

En MEB se pueden observar muestras volumétricas y solamente se requiere que las muestras estén limpias, libres de agua, solventes u otros materiales que vaporicen y puedan causar problemas en el sistema de vacío.

a) Se prepararon muestras de premolares humanos sanos los cuales fueron seccionados longitudinalmente; acto seguido se lavaron en una tina de lavado ultrasónico, luego fueron montados firmemente en un portamuestras para MEB con pintura de plata. Más tarde se colocaron en una evaporadora y posteriormente se procedió a recubrirlos en algunos casos con una película de carbón y en otros casos con oro de 20nm de espesor. (Fig. II. 1, 2 y 3)

b) De las laminillas preparadas para microscopía óptica se tomaron los cortes más representativos de cada espécimen, fueron montados

en portamuestras de aluminio y procesados de la manera antes descrita para ser analizados al MEB.^{32, 38}

Las muestras fueron analizadas en un MEB Jeol JMS 5200 y al mismo tiempo se tomaron fotografías de las zonas estudiadas.

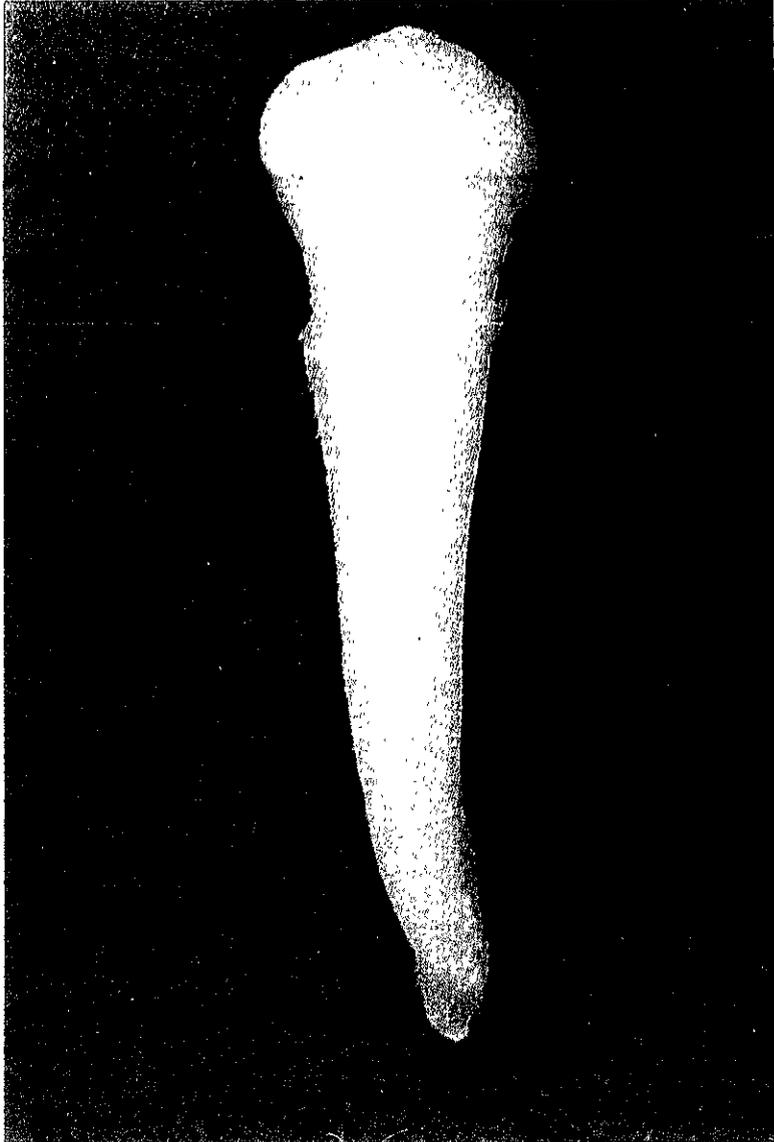


Fig. II.1

Premolar humano sano procesado para MEB.

III. Preparación de muestras para Microanálisis por Espectrómetro de Dispersión de Energía (EDS)

Realizar microanálisis de los materiales es fundamental para conocer el tipo de elementos con que cuenta el material; dónde y cómo se encuentran éstos organizados.

Existen cuatro técnicas principales para efectuar microanálisis, tanto cualitativa como cuantitativamente. La primera es la microsonda electrónica, que usa dos tipos de espectrómetros: el de dispersión de energía (EDS) y el de dispersión de onda (WSD). El EDS que utilizamos usa un detector para muestras sólidas, que al interactuar con los rayos X (radiaciones electromagnéticas entre 0.05 y 125 KeV) produce un pulso eléctrico proporcional a la energía de los rayos X. Si se conoce el número de pulsos y su intensidad, puede medirse la energía de los rayos X y la composición química de la muestra, ya sea en forma de polvo o de pastilla; detecta desde el Na con peso atómico de 11 hasta elementos muy pesados. Para algunos microanálisis cualitativos o semicuantitativos, la preparación de la superficie de la muestra no es crucial y pueden seguirse las rutinas de la preparación de muestras metalográficas, que consisten en pulir a espejo la muestra y luego aplicar un pequeño ataque preferencial. Sin embargo, para un buen análisis cuantitativo, la preparación de la muestra es muy importante y es esencial producir una superficie representativa de

ésta. Existen dos restricciones que se deben tener en mente cuando se prepara una muestra.

i) La rugosidad de la superficie debe ser tal, que permita al instrumento operar con una alta eficiencia y precisión; es decir, la superficie debe tener buenas propiedades ópticas. Si la superficie es rugosa, el origen de un rayo X característico será desplazado siempre que la muestra sea movida, deteriorando la aparente eficiencia del espectrómetro. Por otro lado, algunos de los bordes de la protuberancias de la superficie pueden interceptar y absorber alguna señal de rayos X.

ii) La superficie debe ser representativa del material volumétrico. Esto no es fácil de obtener, puesto que varios cambios pueden ser producidos, principalmente cuando la muestra se compone de más de una fase, durante el pulido mecánico, deposiciones durante el ataque químico, producción de películas de óxido, contaminación (principalmente carbón) producida por el haz electrónico dentro del microscopio, segregación superficial, etc. La contaminación producida por el haz electrónico puede ser reducida utilizando la trampa de nitrógeno líquido (“el dedo frío”).

Como una regla general, la rugosidad de la superficie afectará la precisión del microanálisis si la diferencia en elevación de la superficie de la muestra es mayor que el diámetro del haz electrónico

(aproximadamente $1 \mu\text{m}$). Un pulido metalográfico a espejo, o con abrasivos con tamaño de partícula de $0.5 \mu\text{m}$ es suficiente.

En el caso de muestras no conductoras, éstas deben de ser cubiertas con una película delgada conductora (principalmente carbón), para evitar que ésta se cargue y defleccione al haz electrónico.³²

En la presente investigación se usaron las coronas de premolares humanos sanos, cortados longitudinalmente y procesados para su análisis al MEB.

Para este microanálisis se utilizó el MEB del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares Marca Philipps, Modelo XL30 que cuenta con un detector de EDS Edax Modelo VX-4.

IV. Preparación de muestras para el Microscopio Electrónico de Transmisión.

Este tipo de muestras deben ser lo suficientemente “transparentes” a los electrones. Esto se logra dándoles un espesor entre 50 y 100 nm, sin modificar o destruir su estructura.

Se obtuvieron cortes de dentina coronal humana sana de 3mm x 3mm x 0.7mm para lo cual usamos una cortadora con disco de diamante (Fig. II.4a); posteriormente se usó una pulidora mecánica para pulir a punto de espejo las muestras (Fig. II.4b). Acto seguido, las muestras pasaron al pulidor mecánico de precisión, Dimpler: es un aparato que contiene dos discos de aproximadamente 1 cm. de diámetro; tiene ejes de giro en plano horizontal y vertical. En éste la muestra se monta en el portamuestras y se aloja en la platina horizontal, le agregamos pasta de diamante que se usa como un abrasivo fino para ir haciendo la concavidad. La velocidad de giro de los discos y el avance vertical de la muestra están controlados por un microprocesador, lo que permite lograr una concavidad con espesor del orden de $5\mu\text{m}$ en el centro de las muestras, haciendo un pulido a punto de espejo al final (Fig. II.5). Para manejar la muestra se colocó en una rejilla de cobre de 3mm, con un orificio en el centro, de tal manera de que el orificio funcione como una ventana en la zona más delgada de la muestra. El adelgazamiento final se obtiene por medio

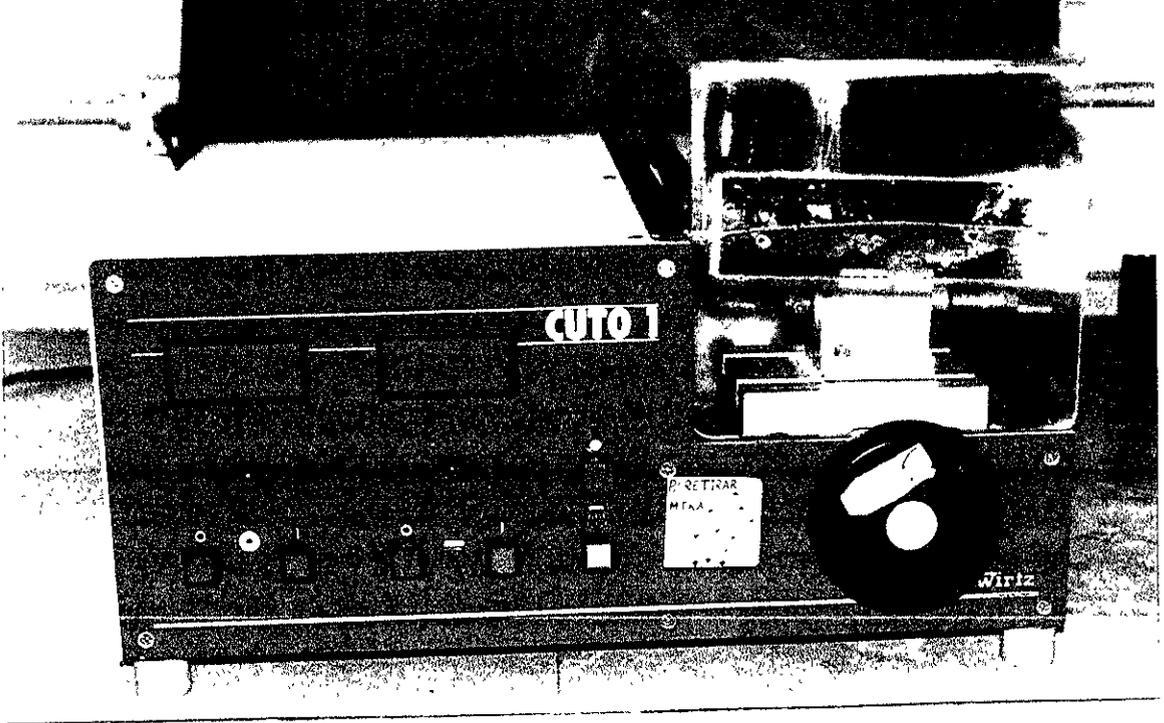


Fig. II.4a.

Cortadora con disco de diamante del Instituto de Física de la UNAM de la marca Wirtz, modelo CUTO 1 utilizado en este trabajo.



Fig. II.4b

Pulidora del Instituto de Física de la UNAM de la marca Minimet modelo FUSE que se utilizó para la preparación de muestras para el MET.

de pulido iónico para lo cual se procesan en Ion Mill. Este método involucra el desprendimiento de los átomos de la superficie por el bombardeo de iones de alta energía. Se realiza en vacío y los iones que generalmente se usan son Argon (Ar^+) con energías de 5 a 10 KeV. En este proceso el haz iónico es enfocado al área de ataque y la velocidad de movimiento varía de una sustancia a otra. Este procedimiento puede tardar más de 48 horas de trabajo.^{33, 38} (Fig. II.6)

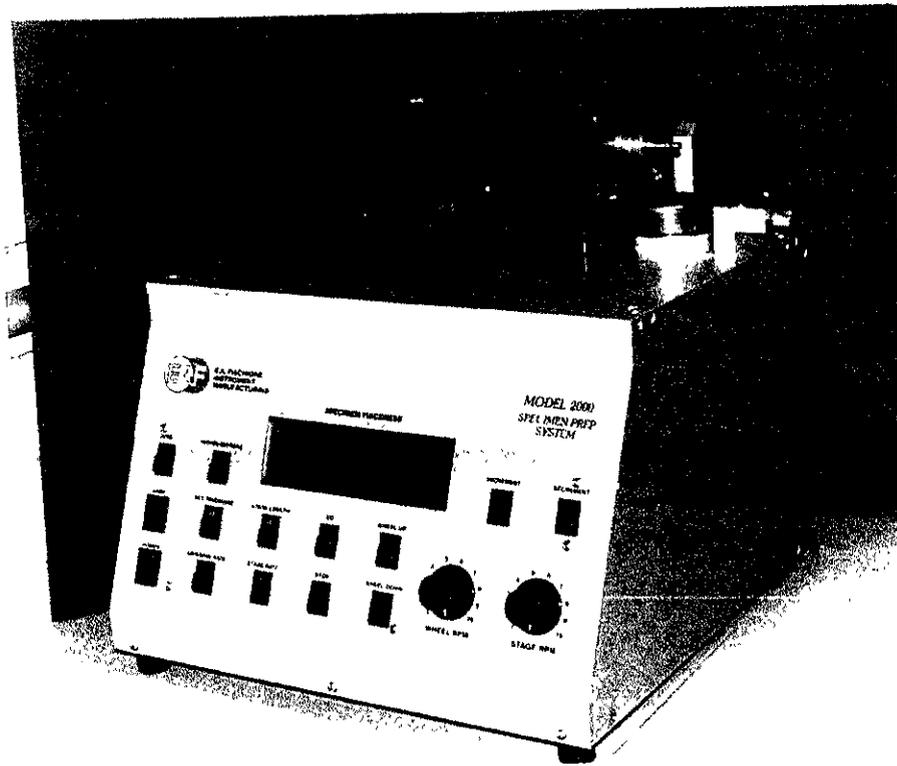


Fig. II.5

A) Dimpler del Instituto de Física de la UNAM de la marca Fishione, modelo 2000 que se utilizó para la preparación de muestras para el MET.

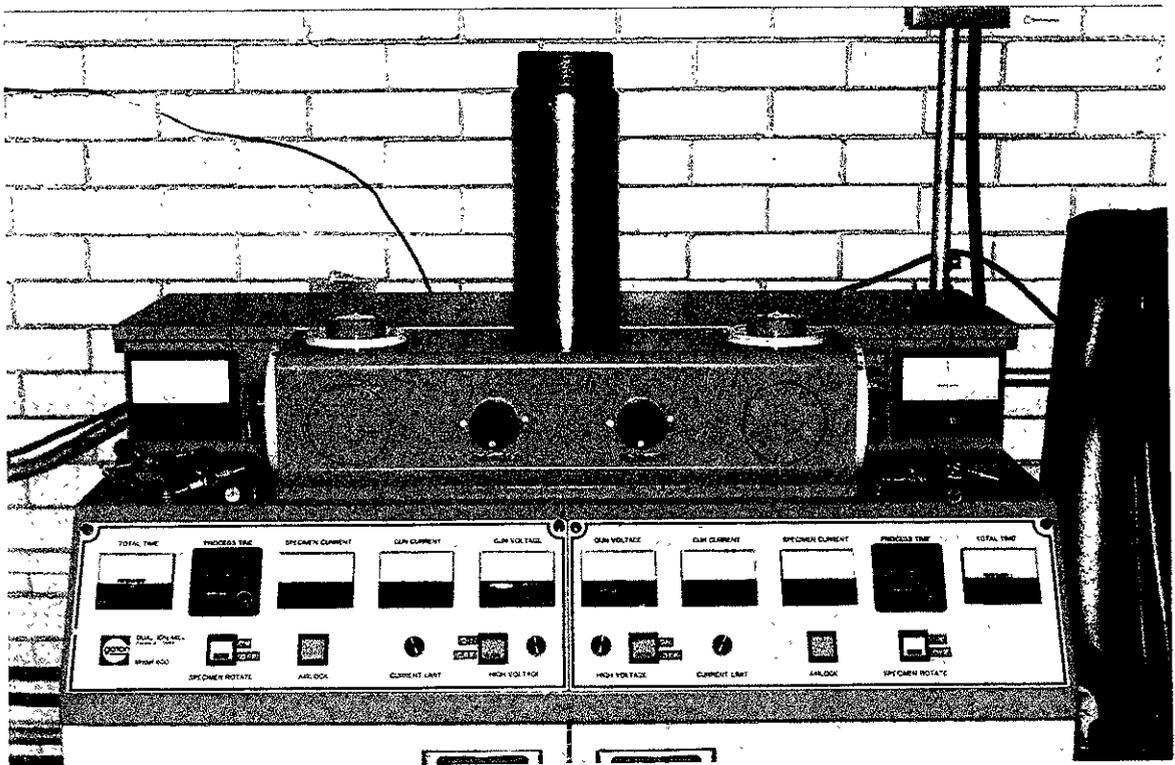


Fig. II.6

Equipo de pulido iónico de la marca GATAN, modelo 600, que se utilizó para la preparación de muestras para el MET.

CAPITULO III

RESULTADOS

I. *Microscopía Óptica*

Las laminillas analizadas al microscopio óptico mostraron tejido pulpar sano, constituido por tejido conectivo laxo con alto contenido celular, principalmente fibroblastos, en un estroma fino de fibras colágenas. Se observa bien irrigado, con abundantes capilares, dentro de los cuales se encuentran los eritrocitos agrupados en pila de monedas. (Fig. III.1 A)

Unida a la predentina y hacia la periferia se aprecia la capa odontoblástica, ordenada en forma de empalizada. También se puede apreciar una capa de predentina de espesor variable. En la unión de la predentina con la dentina se observan abundantes calcosferitas. (Fig. III.1 B)

En la dentina se distingue la luz de los túbulos dentinarios; dentro de ellos existen numerosas prolongaciones odontoblásticas.

La dentina del tercio medio muestra el recorrido de los túbulos dentinarios en forma de canales, muchos de los cuales contienen las prolongaciones odontoblásticas. (Fig. III.2 A)

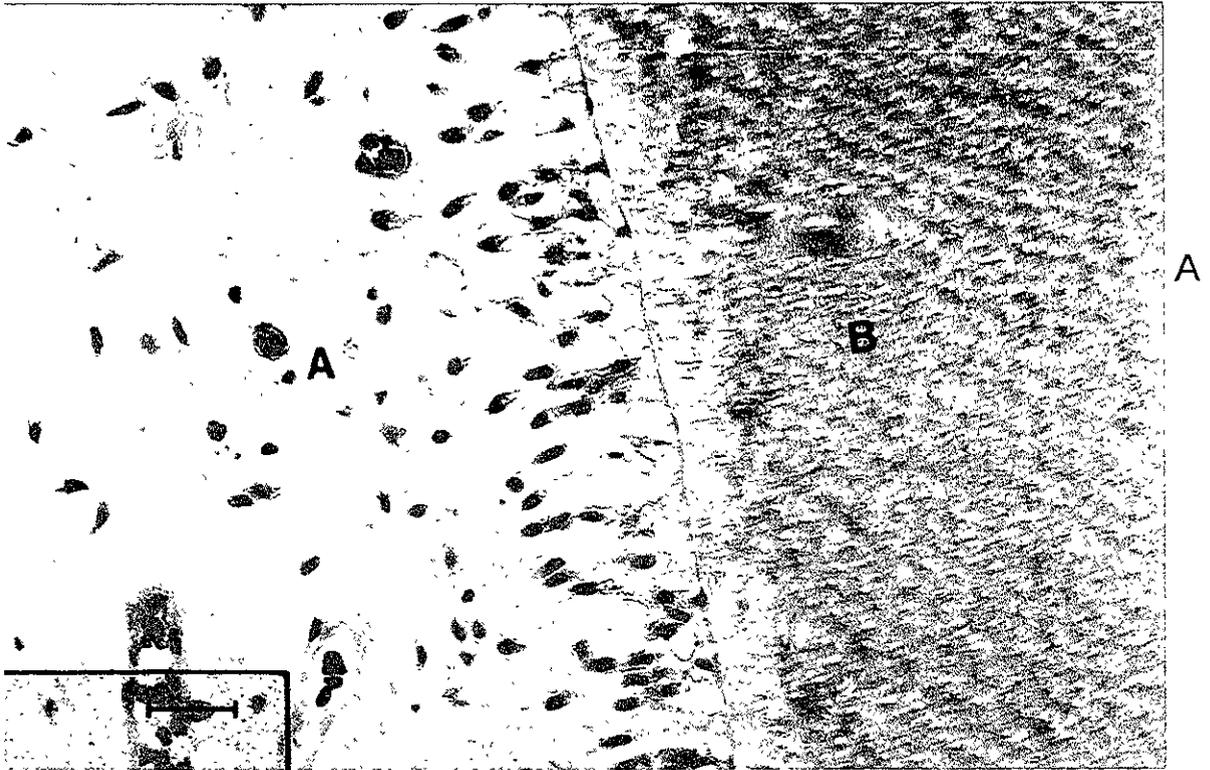


Fig. III.1

Imagen de Microscopía Óptica de los cortes de premolar humano, que muestra tejido pulpar sano (A) y dentina (B). Tinción H y E (20X) Barra = 50 micra

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

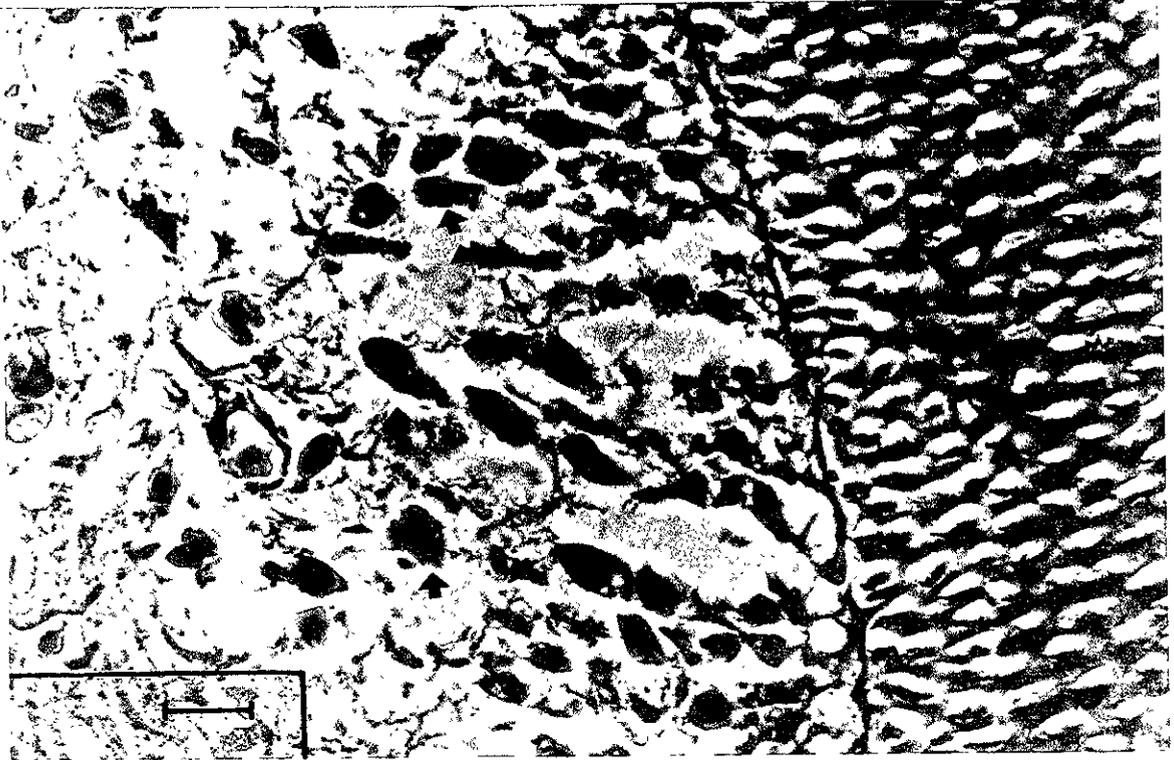


Fig. III.3

Imagen de MO que muestra los odontoblastos de forma oval, con núcleo polarizado hacia el interior del tejido pulpar. Se aprecia su organización en empalizada y claramente se ve la línea de demarcación entre el tejido pulpar y la zona de predentina, la cual contiene prolongaciones odontoblásticas. Tinción H y E. Técnica diferencial de interferencias (100X) Barra = 10 μ

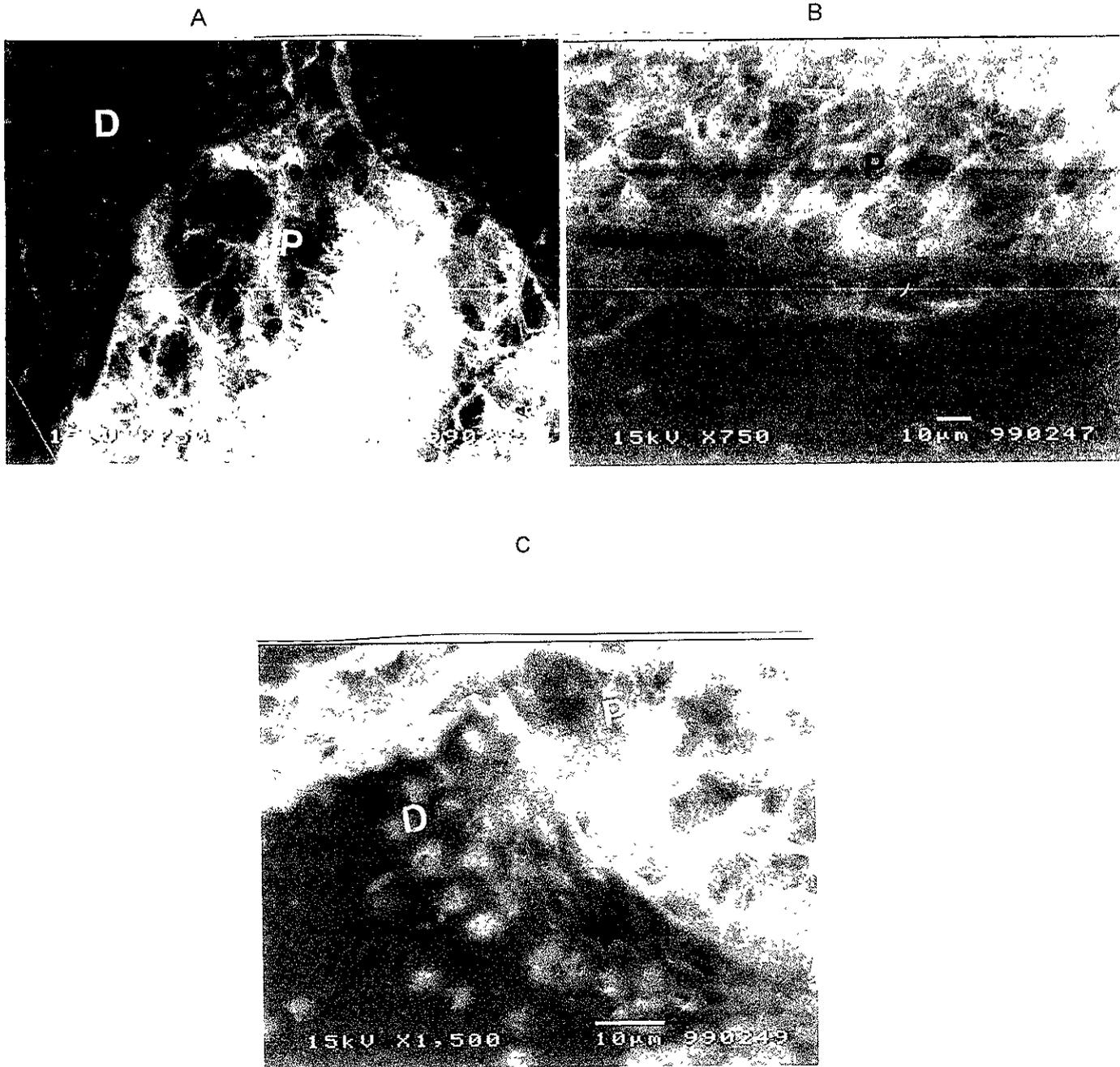


Fig. III.4

Imágenes de MEB de premolar humano sin desmineralizar que muestran el tejido pulpar (A y B). En zona de predentina se aprecian los túbulos dentinarios, rodeados por un halo electrodenso (C).
P=Pulpa D=Dentina

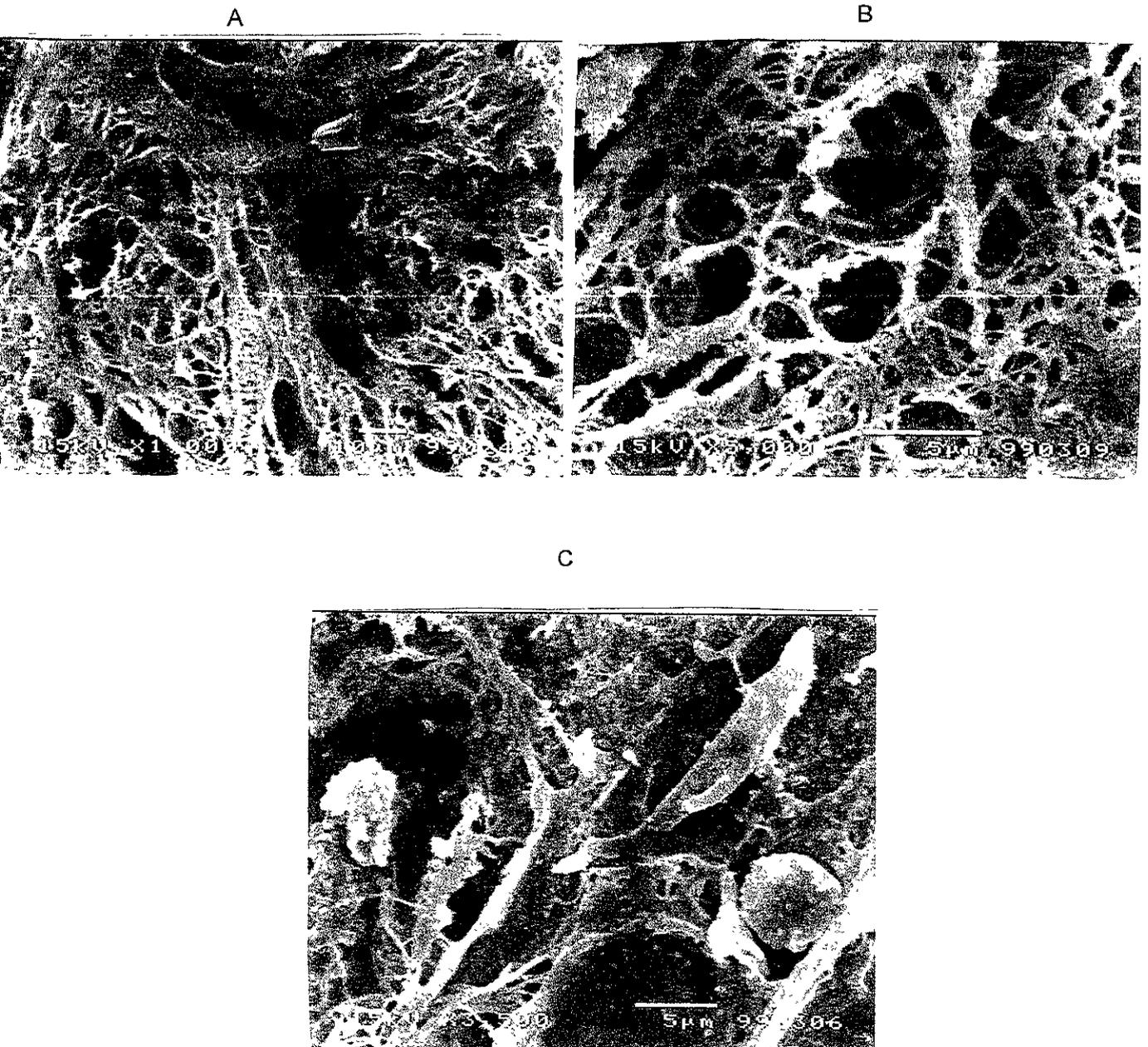


Fig. III.5

Imágenes de MEB de los cortes de diente desmineralizado (5 micras), donde se observan fibras (A y B) y elementos celulares (C) del tejido pulpar.

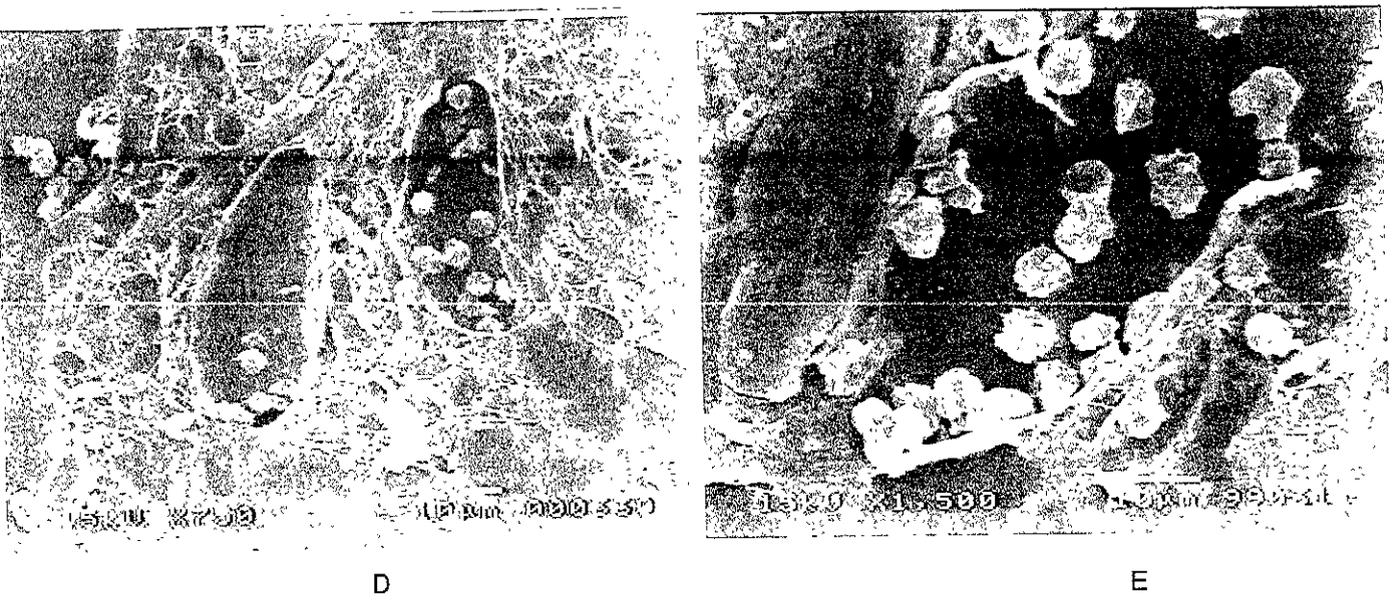


Fig. III.5

Imágenes de MEB de los cortes de diente desmineralizado donde se muestran vasos sanguíneos del tejido pulpar.

Contenidos dentro del tejido pulpar y unidos a la predentina, se encuentran los odontoblastos, de cuerpo más redondeado que oval cuando son jóvenes y productivos; en nuestros especímenes se observan más redondeados en su parte proximal; el rango del tamaño de los odontoblastos que analizamos varió entre 5.5 y 8.5 micrones, con un diámetro promedio de 5 micrones. (Fig. III.6 A y B). Donde inicia la prolongación citoplasmática, la base de la misma mide 0.14 micrones, en aquellas células que tienen apariencia juvenil y 0.08 micrones en las que son de aspecto fusiformes e inactivas. El cuerpo de éstas últimas cambia de aspecto y su longitud también varía, pudiendo medir hasta 12.1 micrones. (Fig. III.6 C)

Estas células muestran un intrincado sistema de unión entre ellas, a través de finas ramificaciones, que los mantiene fuertemente unidos. También se unen firmemente al estroma pulpar.

En nuestros especímenes, los odontoblastos se encuentran alineados horizontalmente en número de 3 ó 4, formando el grosor o profundidad de la capa odontoblástica. (Fig. III.6 A y B)

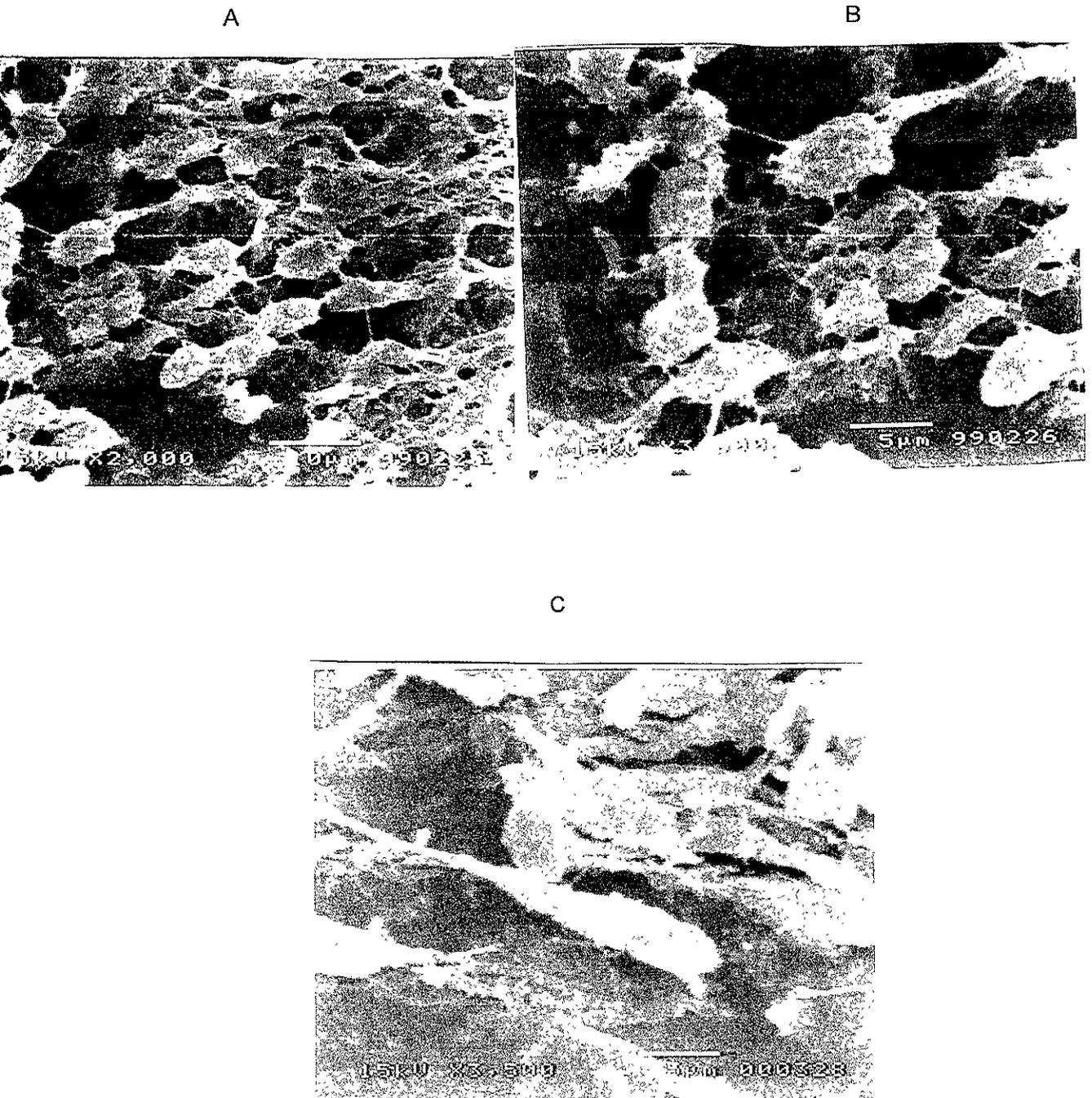


Fig. III.6 A, B y C

Imágenes de MEB que muestran la profundidad de la capa odontoblástica (A), la forma del cuerpo odontoblástico en células jóvenes (B) y en aquellas que han dejado de producir (C).

Unión Pulpo-Dentinaria

En dientes sin desmineralizar se observa que tanto en la corona como en la raíz la unión del tejido pulpar con la dentina tiene una forma ondulada irregular, no sigue un patrón específico, observándose nítidamente la línea de demarcación entre los dos tejidos. (Fig. III.7)

En cortes de diente desmineralizado a 5μ , se detecta que la unión entre estos tejidos es estrecha, puede observarse que los haces pulpaes de colagena parecen tener continuidad con la colagena que forma parte de las paredes de los túbulos dentinarios. (Fig III.8)

Asimismo se observa en la predentina que los túbulos dentinarios contienen además del proceso odontoblástico, un sistema de ramificaciones internas por medio de las cuales se unen y comunican entre sí. (Fig. III.8 B y C)

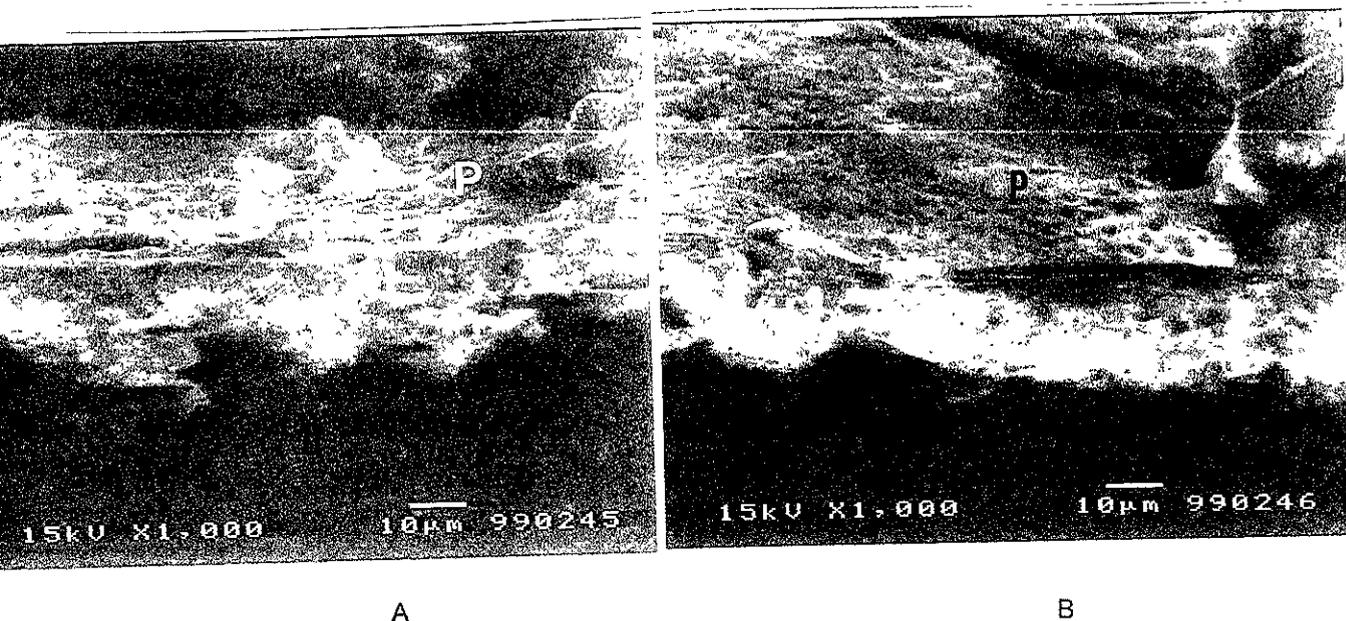


Fig. III.7

Imágenes de MEB de diente sin desmineralizar, donde se observa que la unión del tejido pulpar con la dentina es de forma irregular (A y B). La parte superior muestra tejido pulpar (P) y la sección inferior (oscura) muestra la dentina (D).

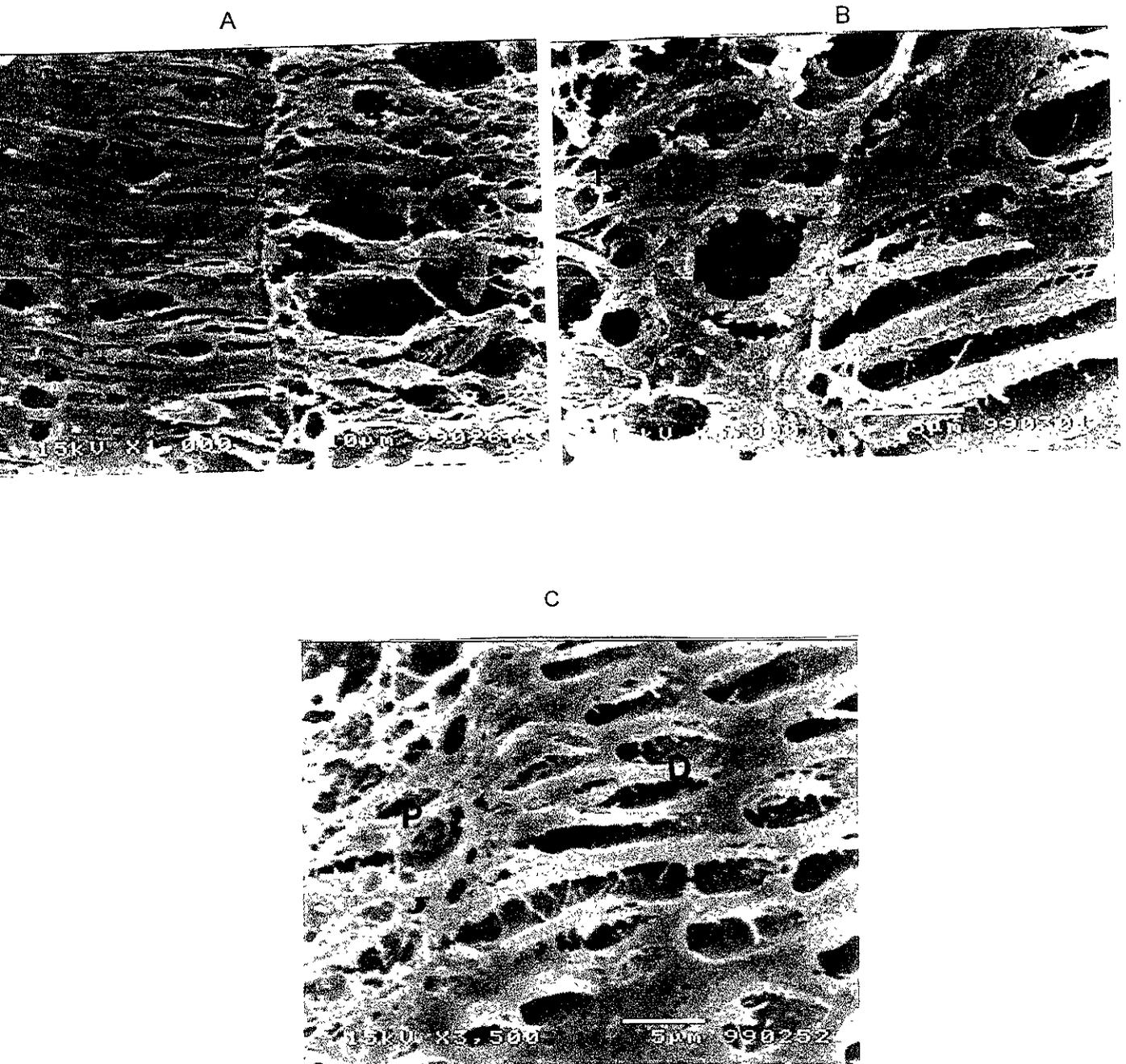


Fig. III.8

Imágenes de MEB de premolar desmineralizado en cortes a 5 micrones que muestran la unión del tejido pulpar con la predentina a nivel coronal (A y B), así como el interior de los túbulos dentinarios que contienen un sistema de ramificaciones internas (C). Pulpa (P) y Dentina (D).

Los resultados obtenidos muestran que en un mismo espécimen la zona de predentina es variable, generalmente es más ancha por encima del cuerno pulpar donde alcanza hasta 70 micrones y se va adelgazando conforme baja hacia el cuello del diente, esto es en la corona; aquí sus valores oscilan entre 14 y 35 micrones. (ver fig. 13 y 40 A)

También observamos que el tamaño y forma de los túbulos dentinarios es muy variable; mientras algunos se muestran redondeados, otros tienen forma de media luna y algunos más parecen ser dobles. En general son mucho más grandes en las primeras 20 micras de predentina alcanzando diámetros entre 5 a 5.7 micrones y van reduciéndose conforme avanzan a dentina calcificada.

En la presente investigación el número aproximado de túbulos dentinarios que se observaron por milímetro cuadrado fue de 48,108. (Fig. III.9 A y B)

A mayor aumento observamos que la dentina peritubular aparece como un halo electrodenso que rodea la luz de los túbulos dentinarios. (Fig. III.10 A y B)

En las primeras 20 micras de predentina se encuentra el mayor número de procesos odontoblásticos contenidos en los túbulos dentinarios.

Dichos procesos son de longitud y forma variable

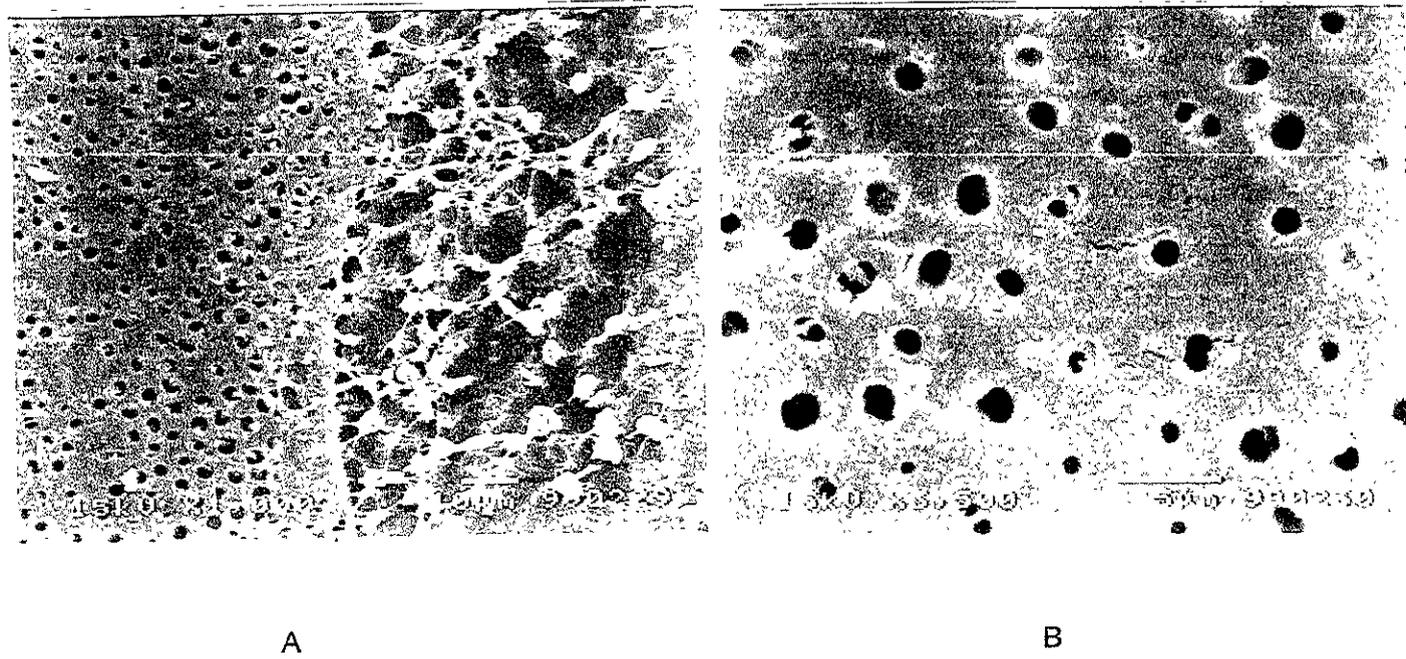
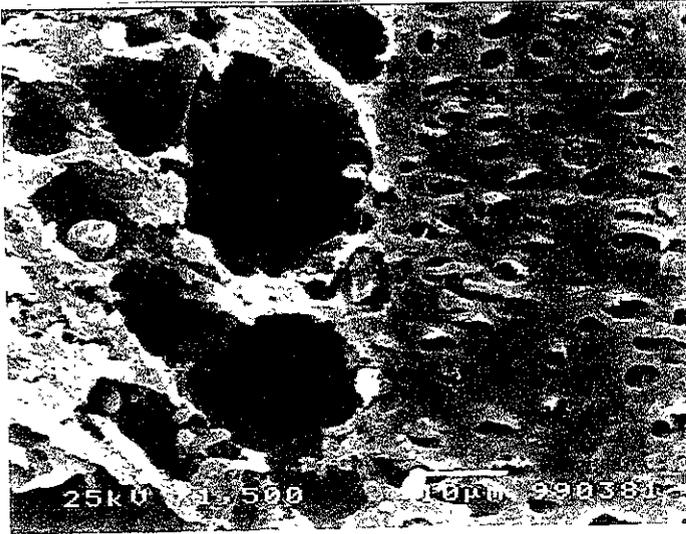
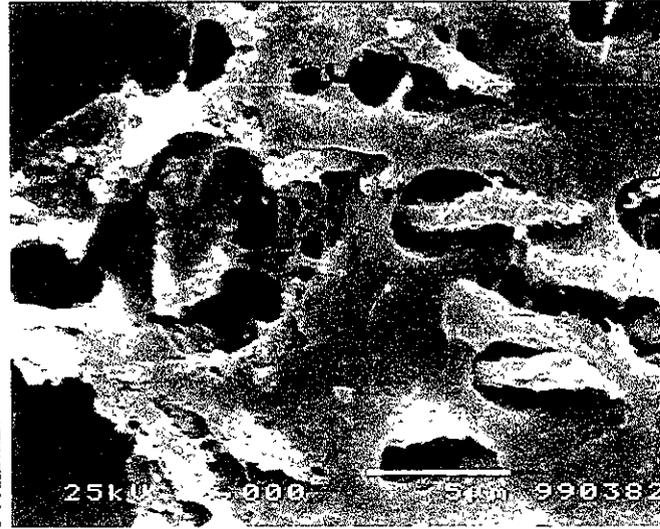


Fig. III.9 A y B

Imágenes de MEB de premolar desmineralizado que muestran las diferentes formas y tamaños de los túbulos dentinarios en la unión Pulpo-dentinaria (A) así como en la dentina más mineralizada (B). Pulpa (P), Dentina (D).



A



B

Fig. III.10

Imágenes de MEB donde se muestran los procesos odontoblásticos alojados en los túbulos dentinarios, en zona de predentina. A) amplificación de 1500X, B) amplificación de 5000X de la zona mostrada en A.

Hacia la parte interna de la predentina coronal, en los tercios medio e incisal, se observó que las prolongaciones odontoblásticas están asociadas a pequeñas formaciones saculares de forma ovalada o esferoidal (calcosferitas) cuyo tamaño oscila entre 0.2 y 0.8 micrones. Se aprecian de superficie lisa y base amplia. En ocasiones se encuentran aisladas pero generalmente forman grupos de tamaño y forma variable, llegando a formar cadenas.

También es posible encontrarlas sobre la superficie de los túbulos dentinarios, donde se integran tanto a las paredes como al estroma dentinario exterior. Al parecer estas estructuras se desprenden por gemación. (Fig. III.11)

La superficie luminal del túbulo dentinario demostró ser irregular y ondulada; en el área donde se observan dichas vesículas, la superficie es granular.

En otras áreas de la dentina coronal, se detecto ausencia de procesos odontoblásticos, pero la estructura interna de los túbulos muestra una red compleja de haces gruesos intratubulares que corren adheridos a las paredes y también libres a través del lumen.

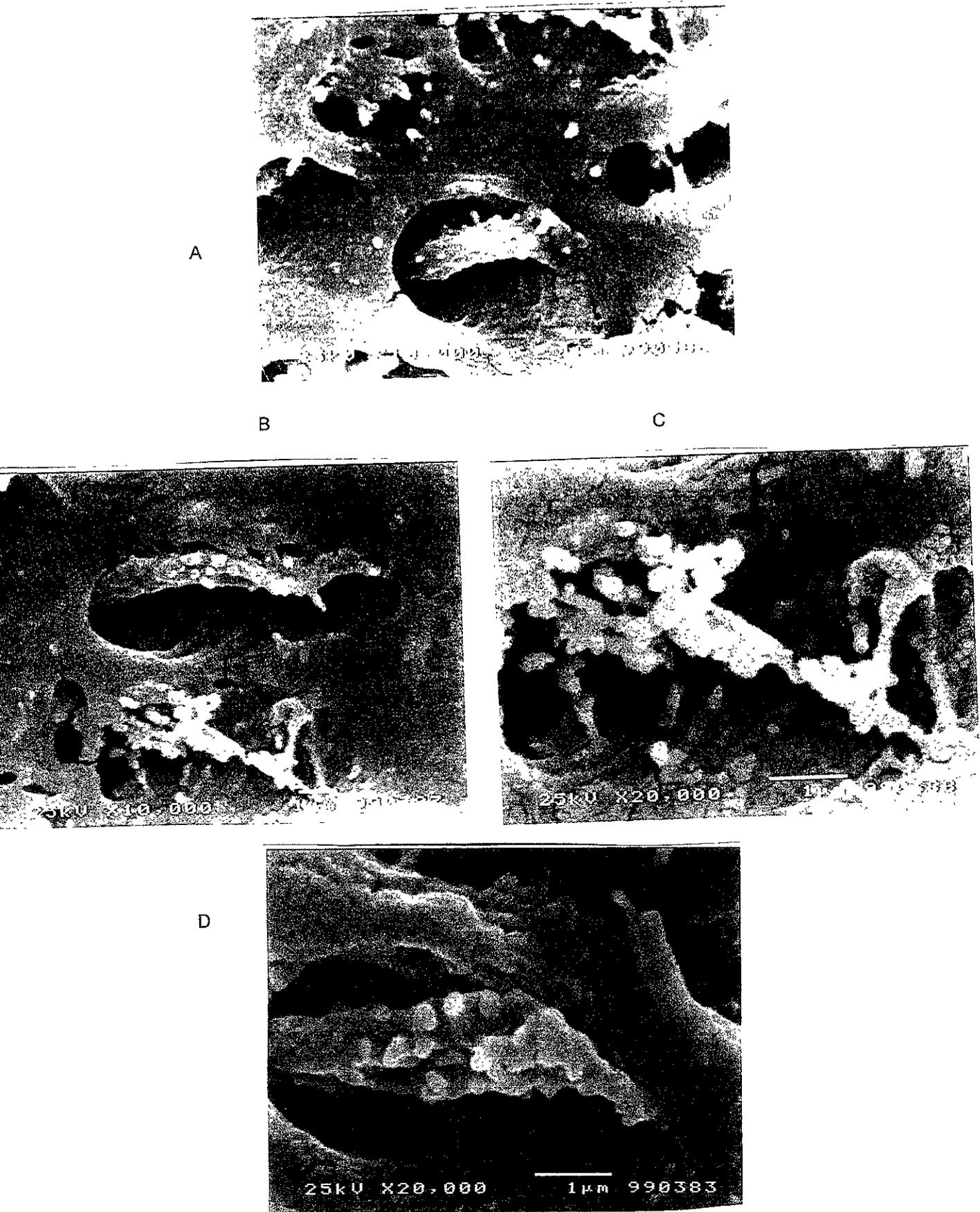
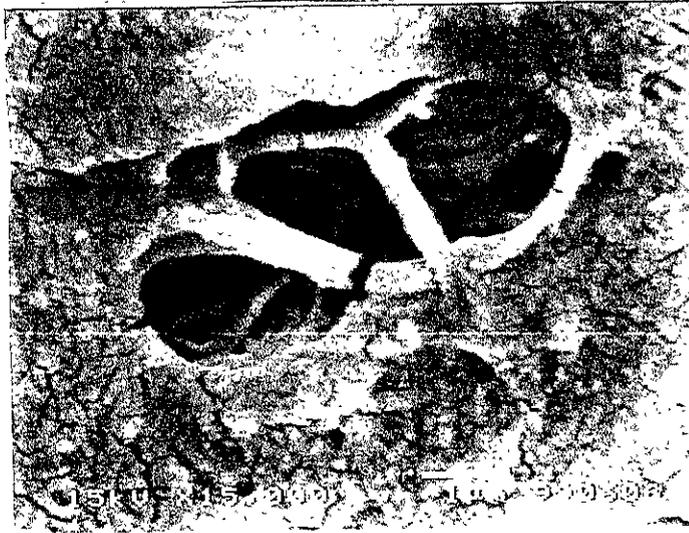


Fig. III.11

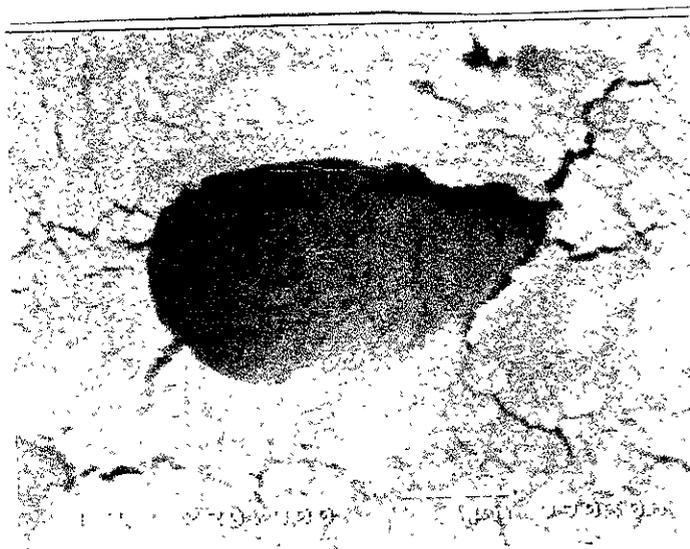
Imágenes de MEB que muestran la formación de calcosferitas asociadas a los procesos odontoblásticos.

Estas estructuras son de forma circular y diámetro variable que oscilan entre 0.5 y 0.2 micrones. Dichos haces parecen originarse en una de las paredes y del lado contrario se muestran inmersas ellas. Las más superficiales parecen estar asociadas a las calcosferitas. La superficie dentinaria peritubular, se observa constituida por numerosas calcosferitas, inmersas en la matriz mineralizada de la dentina, que en ocasiones sobresalen a la superficie. (Fig. III.12 A)

En otras ocasiones los túbulos se observaron vacíos pero la dentina peritubular muestra las características antes descritas. (Fig. III.12 B)



A



B

Fig. III.12

A.- estructura interna de los túbulos dentinarios coronales.

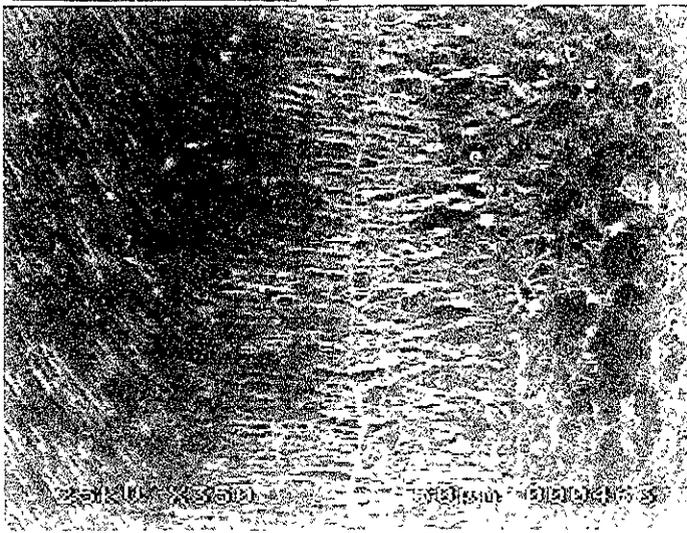
B.- Dentina peritubular que muestra la adhesión de numerosas calcosferitas. Indicado por flechas.

Túbulos Dentinarios

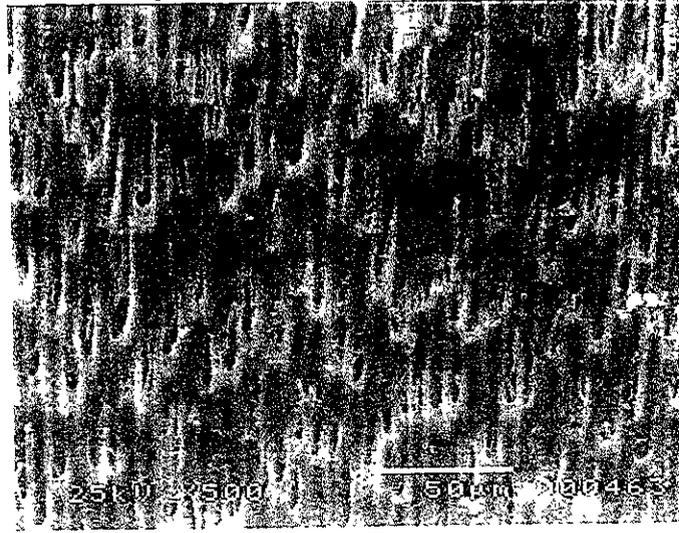
El recorrido de los túbulos dentinarios a nivel coronal es caprichoso. En los tercios medio y oclusal se observan horizontales adyacentes de tejido pulpar, pero aproximadamente 80 micras adentro se curvan bruscamente hacia arriba en dirección oclusal. (Fig. III.13 A)

Los túbulos que se encuentran inmediatamente por arriba del cuerno pulpar se observan totalmente verticales en dirección oclusal. (Fig. III.13 B)

Los túbulos que se encuentran adyacentes al tejido pulpar son muy anchos, y muestran el intrincado sistema reticular de haces, a través de los cuales se comunican y unen entre sí (Fig. III.14 A); así mismo es posible detectar los procesos odontoblásticos (Fig. III.14 B y C) que se muestran en forma ondulada.



A



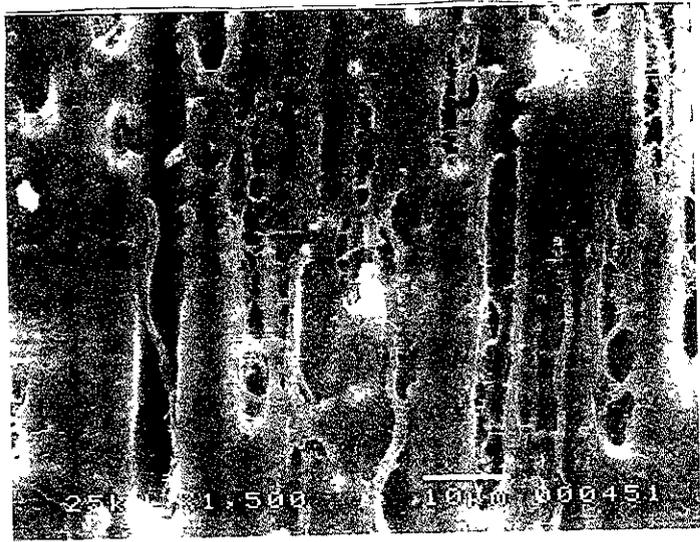
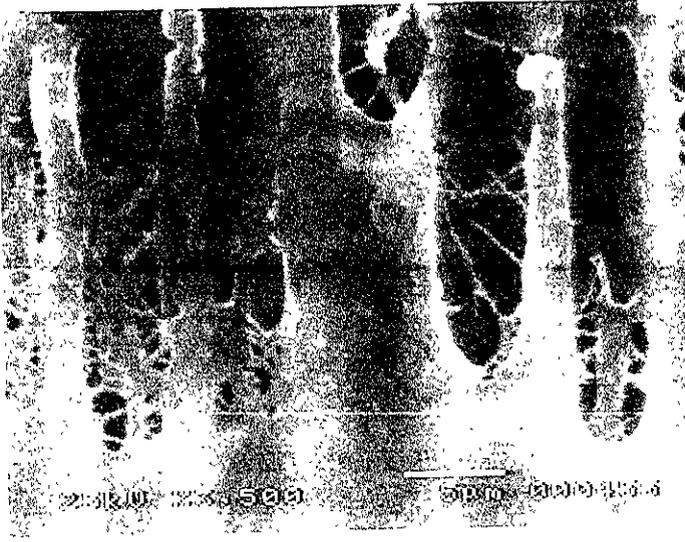
B

Fig. III.13

Imágenes de MEB donde muestran el recorrido de los túbulos dentinarios. En (A) zona alrededor de la unión dentina-pulpa donde se muestra una marcada curvatura de los túbulos. En (B) se observan completamente verticales. Pulpa (P), Dentina (D).

A

B

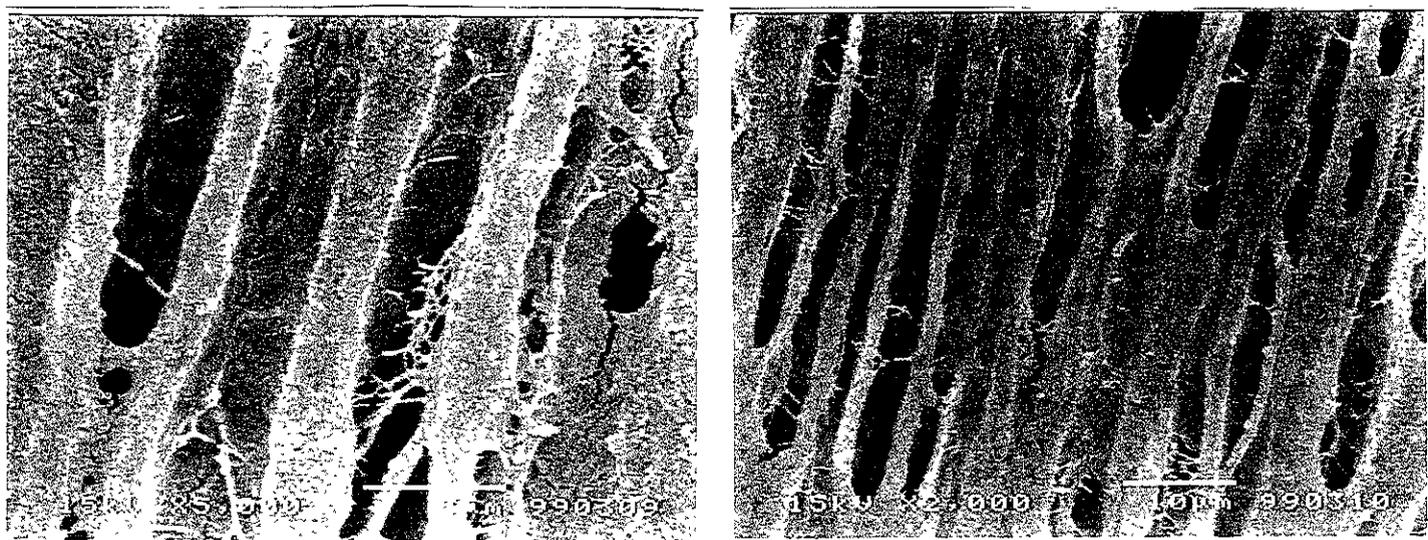


C

Fig. III.14

Imágenes de MEB de los túbulos dentinarios ubicados por arriba del cuerno pulpar de premolar humano que muestran numerosas ramificaciones internas (A); y los procesos odontoblásticos (B y C). Indicados por flechas.

Conforme los túbulos avanzan hacia la unión amelo-dentinaria, van perdiendo sus ramificaciones internas; los procesos odontoblásticos y terminaciones nerviosas se muestran más escasos cada vez. (Fig. III.15)



A

B

Fig. III.15

Imágenes de MEB de los túbulos dentinarios cercanos a la unión amelo-dentinaria. (A) presenta una amplificación de (B) para la mejor observación de las ramificaciones.

de tal forma que al llegar a la unión Dentino-Esmalte, las estructuras que emergen de los túbulos dentinarios son pocas. (Fig. III.16)

En este punto se observa que dicha unión es de forma irregular, no sigue un patrón definido y existe una micro separación entre ambos tejidos; es posible observar que el esmalte “envuelve” a la dentina. En una vista hacia arriba desde la dentina, el esmalte parece ser un “techo cóncavo” o curvo.



Fig. III.16

Estructura emergiendo de un túbulo dentinario en la unión dentino-esmalte

MICROANÁLISIS POR (EDS)

Los elementos minerales encontrados por medio de microanálisis por espectrometría de dispersión de energía de rayos X característicos (EDS), fueron carbono (C), oxígeno (O), fósforo (F), calcio (Ca), sodio (Na), aluminio (Al), azufre (S) y magnesio (Mg). Dichos elementos se encontraron en diferentes cantidades en las diferentes zonas donde se realizaron las determinaciones: esmalte (E), dentina (D), unión dentina esmalte (UD-E), dentina (D), pre-dentina (PD) unión dentina-pulpa (UD-P) y pulpa (P). De acuerdo a las cantidades en porcentaje por peso (% peso) se dividieron en cuatro elementos principales (EP): C, O, P y Ca y en cuatro elementos traza (ET); Na, Mg, Al y S. En las gráficas los resultados se muestran siempre desde la superficie hacia la profundidad.

La tabla #1 resume los resultados obtenidos de las concentraciones de todos los elementos analizados en las áreas antes mencionadas. La gráfica #1 muestra el comportamiento del contenido mineral de los EP en todos los tejidos dentarios. En ella se puede observar que el C y oxígeno tuvieron una tendencia general a aumentar y el Ca y el P a disminuir. Los ET Na y S tendieron a elevarse y los elementos Mg y Al tuvieron un comportamiento errático, teniendo concentraciones de 0 en algunas zonas analizadas (Gráfica 2).

Analizando los tejidos por separado, podemos observar que como era de esperarse, la tendencia de los EP fue a disminuir su cantidad

conforme los tejidos analizados se volvían menos mineralizados, al contrario, el C aumentó en casi 5 veces su cantidad. En cambio, los elementos traza tuvieron un comportamiento alcista con excepción del aluminio.

El análisis de las zonas mineralizadas muestra que los ET Na y Mg aumentaron su concentración conforme la zona se tornaba menos mineralizada, mientras Al y S disminuían. Está claro que los EP disminuyeron con excepción del C, quien casi triplicó su cantidad. Como se puede observar, los ET en las áreas no mineralizadas aumentaron notablemente desde D hasta P, con excepción del Al que no se observó en el tejido pulpar. Es ostensible que el elemento Mg solamente se detectó en P. La Gráfica muestra que los EP Ca y P aumentaron y que C y O disminuyeron.

Al analizar las áreas de transición se observó que los EP disminuyeron con excepción del C, los ET Na y Mg también lo hicieron. En cambio, Al y S aumentaron.

Estos resultados muestran un claro indicio de que la concentración de material orgánico va disminuyendo considerablemente, si no es que en forma rápida de la pulpa hacia el esmalte. Mientras tanto, el material orgánico aumenta en esa dirección.

TABLA 1. Concentración de los diferentes minerales en los tejidos dentarios. Concentración porcentual por peso.

ELEMENTOS	TEJIDOS					
	ESMALTE	DENTINA	PULPA	DENT-ESM	PREIDENT	DENT-PULP
C	13.67	29.36	54.83	11.82	63.75	62.76
O	16.83	14.83	20.12	19.46	20.45	24.43
P	29.56	22.82	10.95	26.15	7.78	6.43
Ca	37.68	31.19	6.64	40.61	3.92	3.2
Na	0.69	0.88	1.27	1.06	1.09	0.56
Mg	0.42	0.51	0.83	0.51	0	0
Al	0.34	0	0	0	0.5	0.33
S	0.81	0.4	1.71	0.39	0.86	0.59

III. Microscopía Electrónica de Transmisión

Los especímenes analizados al microscopio electrónico de transmisión por medio de difracción de electrones muestran el patrón de difracción de la dentina humana confirmando que este es un biomaterial de carácter policristalino, lo cual se corrobora por los anillos concéntricos formados. Si solo se formara por puntos, en lugar de anillos diríamos que el material es monocristalino; si se observará un solo anillo, representaría un material amorfo. (Fig. III.17 A) Este patrón corresponde a la estructura de la hidroxiapatita.

Así mismo es posible detectar en las muestras analizadas un conjunto de cristales o granos monométricos como se observa en la fig III.17 B. Los granos están formados por celdas unitarias de HA lo que se confirma por los patrones de difracción obtenidos.

El patrón de difracción consta de un arreglo de puntos luminosos que en el caso de la dentina forman una figura geométrica hexagonal, producto del choque del haz de electrones con los átomos de la muestra.

Las muestras analizadas indican que la organización de los cristales tanto en la dentina intertubular como peritubular es muy semejante.

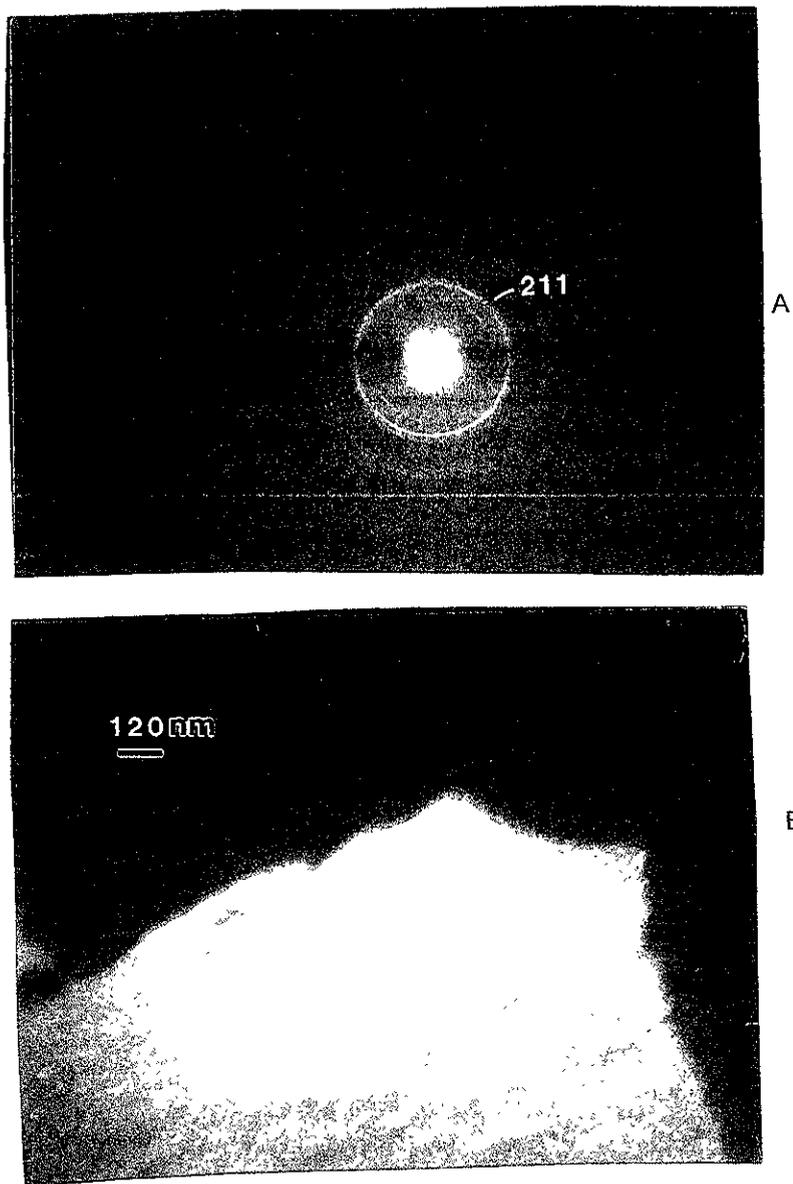


Fig. III.17 A y B

A=MET. Patrón de difracción de la dentina humana que representa un material policristalino.
B=MET. Corte de dentina humana que muestra cristales de hidroxiapatita principalmente en el ángulo superior derecho. Imagen de campo oscuro.

DISCUSION

En los últimos quince años los investigadores han enriquecido el estudio de la dentina humana, gracias al uso del microscopio electrónico, de tal suerte que han logrado avances importantes en el análisis de su estructura y fisiodinámica. De este modo se han sentado las bases para la comprensión del dolor, la hipersensibilidad y permeabilidad dentinaria, siendo dos de sus principales estudiosos Pashley y Brännström^{26, 39, 40}. Brännström menciona en su "teoría hidrodinámica de la dentina" que el dolor dental es debido al movimiento del flujo que contienen los túbulos dentinarios, el cual al moverse estimula las estructuras inmersas en ellos propiciando que haya una respuesta a los cambios táctiles térmicos o de presión osmótica.⁴¹

Pashley sugiere que la hipersensibilidad dentinaria se asocia con los túbulos descubiertos o abiertos³⁹. Al respecto Yoshiyama⁴² menciona que cuando la dentina se vuelve permeable, el líquido puede desplazarse por los túbulos abiertos para producir dolor e irritación pulpar; así mismo establece que los túbulos se van ocluyendo con el tiempo de manera natural, con cristales minerales y de esta forma cesa la hipersensibilidad.

En lo que respecta a la ultraestructura del complejo pulpo-dentinario poco se ha escrito, pero concordamos con Linde⁴³ en que, a pesar de

ser dos tejidos completamente diferentes, mantienen una íntima relación tanto funcional como estructuralmente.

A este nivel, dentro del tejido pulpar se encuentran los odontoblastos, que en el presente estudio mostraron una longitud entre 5 y 8.5 micrones y la profundidad de capa odontoblástica fue de 3 ó 4 células. En diferencia, Seltzer y Bender especifican que la longitud de éstos es de 8 a 10 micrones y la profundidad de la capa odontoblástica de 6 a 8 células.⁴⁴ Así mismo observamos que la base del proceso odontoblástico tiene un diámetro aproximado de 0.14 micrones, el cuerpo de las prolongaciones odontoblásticas queda inmerso en la preentina y es posible observar su recorrido a la dentina mineralizada.

Nuestros hallazgos permiten puntualizar que la anchura de la preentina en premolares jóvenes y principalmente por encima de los cuernos pulpares, puede medir hasta 100 micrones, a diferencia de lo reportado por Bhaskar⁶ quien menciona que la anchura de la preentina es de 2 a 6 micrones dependiendo de la actividad del odontoblasto.

En el presente estudio detectamos algunas prolongaciones del proceso odontoblástico en la unión dentino esmalte. Al respecto Ogita menciona que en el análisis de la unión dentino esmalte por medio de microscopía electrónica de transmisión, los bastones y usos del

esmalte se formaron por extensiones de los procesos odontoblásticos atrapados durante la amelogénesis.⁴⁵

La presente investigación demuestra estructuras tubulares en el interior de los túbulos dentinarios mismas que parecen ser su soporte interno; estas estructuras se van adelgazando conforme avanzan a la unión amelo-dentinaria. Han sido interpretadas como procesos odontoblástico, lo que desde los 80's ha sugerido que los procesos odontoblásticos se extienden desde la pulpa hasta la unión amelodentinaria. Asumiendo esto, algunos autores han descrito sus alteraciones en las lesiones cariosas, mientras que otros han sugerido que no son procesos odontoblásticos, sino que son una forma de matriz extracelular.^{46, 47}

Por otro lado Goracci apoyado en la microscopía confocal observó estructuras cilíndricas dentro de los túbulos dentinarios, aún en ausencia de odontoblastos, y por medio de microscopía electrónica de barrido evidencia la presencia de estructuras tubulares solo en tercio interno de la dentina, cerca de la pulpa.⁴⁸

El patrón de difracción de un elemento, muestra o refleja aspectos de la organización de sus partículas; en el caso de la dentina humana este denota y representa la hidroxiapatita.⁴⁹ De acuerdo con Arnold el patrón de difracción de la dentina humana, demuestra el carácter poli y paracristalino de la apatita dentinaria.⁵⁰ Estos cristales se

encuentran en el rango de nanómetros. Por lo tanto, se puede clasificar a la dentinaria como un material nanoestructurado.

LeGeros menciona que las diferencias en la amplitud de los picos de difracción, los índices de cristalinidad y las bandas de absorción de los espectros de rayos infrarrojos de esmalte, dentina y hueso, indican que los cristales de apatita en el esmalte son mucho más grandes y largos que los de la dentina y hueso.³⁷

Nuestros resultados apoyan la publicación de Weiner y col, quienes mencionan que la dentina analizada a través de microscopía electrónica de transmisión esta compuesta principalmente por cristales de hidroxiapatita, junto con pequeñas cantidades de colágena.⁵¹

Haciendo mención de nuestros resultados en microanálisis por espectrometro de dispersión de energía de rayos X concordamos con Caltabiano y col, quienes reportan una mayor concentración de fósforo (P) y magnesio (Mg) en dentina coronal.⁵² Además, estos resultados indican claramente como la concentración de material orgánico es sustituido por material inorgánico a medida que uno se adentra en la dentina.

La utilización de la Microscopía Electrónica, tanto de barrido como de transmisión, con la Microscopía óptica y el microanálisis de rayos X, tal y como se realizó en este trabajo de tesis, ha permitido analizar la unión pulpa-dentina de una forma muy completa. El uso de dientes

mineralizados y desmineralizados ha dado como resultado una visión detallada de esta unión y podemos concluir que las hipótesis que se presentaron al inicio de este trabajo son todas verdaderas.

CONCLUSIONES

1. La unión pulpo dentinaria mantiene en íntima conexión a ambos tejidos y se observa por MO y MEB como una línea ondulada que delimita ambos tejidos.
2. Los odontoblastos se mantienen unidos entre sí a través de una extensa red de fibrillas.
3. Los túbulos dentinarios contienen un intrincado sistema de estructuras tubulares o circulares que se van adelgazando y perdiendo conforme avanzan a la unión amelo dentinaria.
4. En los límites de la predentina con la dentina mineralizada se observa gran cantidad de calcosferitas adheridas a los procesos odontoblásticos, que parecen desprenderse por gemación.
5. La presencia de estas estructuras esferoidales asociadas a los procesos odontoblásticos son una forma de mineralización no descrita hasta la fecha.
6. Son muy pocos los procesos odontoblásticos y las estructuras intracanal que llegan a la unión ameloblástica.
7. El patrón de difracción de la dentina humana demuestra que es un biomaterial policristalino cuyos cristales están menos mineralizados

que los del esmalte dental. Los cristales de hidroxiapatita que conforman la dentina son de tamaño nanométrico.

REFERENCIAS

1. Kishor G. Bases Biológicas de la Endodoncia En: Stock CJR Endodoncia Madrid: Mosby/Doyma Madrid 1996:1-39.
2. Langeland K. Histología y Fisiología de la Pulpa. En: Cohen S Endodoncia (Los caminos de la pulpa) Intermédica. Buenos Aires 1979: 203-64.
3. Mjör IA. Embriología e Histología Humana. Salvat Barcelona 1989: 4-83-94.
4. Ten Cate AR. Histología Oral. Segunda Ed. Interamericana. Buenos Aires 1986:82-171.
5. Davies WL. Histología y Embriología. Capítulos 3 y 8. Interamericana. México 1988:47-49. 117.
6. Avery JK. Dentina En: Bhaskar SN. Histología y Embriología Bucal de Orban. Onceava Ed. Prado. México 1994: 106-23.
7. Smulson MH, Sieresi SM. Histofisiología y alteraciones de la pulpa dental. En: Weine FS. Tratamiento Endodóncico. Quinta Ed. Harcourt Brace Madrid 1997:95-130.

8. Stratmann U, Schaarschmidt K, Wiesmann HP, Plate U, Höhling HJ. Mineralization during matrix-vesicle-mediated mantle dentine formations in molars of albino rats: A microanalytical and ultrastructural study. *Cell Tissue Res* 1996; 284:223-30.
- 9.- Hayashi K, Yanagiguchi K, Virolia I, Yukizaki H. High-resolution electron microscopy of crystal contact in the demineralized dentine. *J Electron Microsc* 1997;46:189-92.
10. Siegfried A, Plate U, Wiesmann HP, Kohl H, Höhling HJ. Quantitative electron-spectroscopic diffraction (ESD) and electron-spectroscopic imaging (ESI) analyses of dentine mineralisation in rat incisors. *Cell Tissue Res* 1997;288:185-90.
11. Stratmann U, Chaarschmidt KS, Wiesmann HP, Plate U, Höhling HJ, Szuwart T. The mineralization of mantle dentine and of circumpulpal dentine in the rat: an ultrastructural and element-analytical study. *Anat Embryol* 1997;195:289-97.
12. Plate U. Analyse der dentalen Hartgewebsbildung mit Methoden der energiefilternden Transmissionselektronenmikroskopie. Phd thesis. Department of Physics. Münster 1993
13. Höhling HJ, Kreilos R, Neubauer G, Boyde A. Electron microscopy and electron microscopical measurements of collagen mineralization in hard tissue. *Z Zellforsch* 1971;22:36-52.

14. Butler WT, Ritchie HH, Bronckers ALJJ. Extracellular matrix proteins of dentine. In: Dental Enamel. Ciba Foundation Symposium 205. John Wiley and Sons. Chichester. 1997:107-17.
15. Kilic S, Dixonand PM, Kempson SA. A light microscopic and ultrastructural examination of calcified dental tissues of horses: 3 Dentine. *Equine Vet J* 1997;29:206-12.
16. Taintor JF, Biesterfeld RC, Langeland K. Irritational or reparative dentin. A challenge nomenclature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1981;51:442-9.
17. Wennberg A, Mjör IA, Heide S. Rate of formation of regular and irregular secondary dentin in monkey teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1982;54:232-7.
18. Ivanovic V, Santini A. Rate of formation of tertiary dentin in dogs' teeth in response to lining materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1989;67:684-8.
19. D'Souza RN, Bachmant T, Baumgardner KR, Butler WT, Litz M. Characterization of cellular responses involved in reparative dentinogenesis in rat molars. *J Dent Res* 1995;74:702-9.

20. Johnsen DC. Innervation of teeth: Qualitative, quantitative and developmental assessment. Session III: Innervation of the dentin, predentin and pulp. *J Dent Res* 1985;64(Spec Iss):555-63.
21. Bergenholtz G, Mjör IA, Cotton WR, Hanks CT, Kim S, Torneck CD, Trowbridge HO. The biology of dentin and pulp. Consensus report. *J Dent Res* 1985;64(Spec Iss):631-3.
22. Ngassapa DN. Comparison of functional characteristics of intradental a- and c- nerve fibres in dental pain. *East Afr Med J* 1996;73:207-9.
23. Ngassapa DN. Update on the concepts and probable role of peptidergic nerves in dentine sensitivity and pain mechanisms. *East Afr Med J* 1996;73:268-70.
24. Rauschenberger CR. Dentin permeability: The clinical ramifications. *Dent Clin North Am.* 1992;36:527-42.
25. Camps J, Giustiniani S, Dejou J, Franquin JC. Low versus high pressure for in vitro determination of hydraulic conductance of human dentin. *Archs Oral Biol* 1997;42:293-8.
26. Pashley DH, Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent* 1997;25:355-72.

27. Kilic S, Dixon PM, Kempson SA. A light microscopic and ultrastructural examination of calcified dental tissues of horses: 1. The occlusal surface and enamel thickness. *Equine Vet J* 1997;29:190-7.
28. Mordan NJ, Barber PM, Gilliam DG. The dentine disc. A review of its applicability as a model for the in vitro testing of dentine hypersensitivity. *J Oral Rehab* 1997;24:148-56.
29. Yoshiyama, M, Suge T, Kawasaki A, Ebisu S. Morphological characterization of tube-like structures in hypersensitive human radicular dentine. *J Dent* 1996;24:57-63.
30. Ling TYY, Gilliam DG, Barber PM, Mordan NJ, Critchell J. An investigation of potential desensitizing agents in the dentine disc model: a scanning electron microscopy study. *J Oral Rehab* 1997; 24:191-203.
31. Lygidaris NA, Smith R, Oulis CJ. Scanning electron microscopy of teeth in osteogenesis imperfecta type I. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996;81:567-72.
32. Askeland D. *La ciencia de los materiales*. Ed. Panamericana 1987.
33. Millán-Malo B. Difracción de rayos X por el método de Debye-Scherrer para detectar cambios dimensionales pequeños en la celda unidad de los cristales. Tesis. Facultad de Ciencias, UNAM, 1991.

34. Houllé P, Voegel JC, Schultz P, Stener P, Cuisinier F. High resolution electron microscopy: structure and growth mechanisms of human dentin crystals. *J Dent Res* 1997; 76:895-904.
35. Höhling HJ, Arnold S, Plate U, Stratmann U, Weissmann HP. Analysis of a general principle of crystal nucleation, formation in the different hard tissues. *Adv Dent Res* 1997; 11:462-6.
36. LeGeros RZ. Calcium phosphates in Oral Biology and Medicine. Basel Karger 1991.
37. Yacamán MJ, Reyes-Gasga J. Microscopía Electrónica. Una Visión del Microcosmos. Fondo de Cultura Económica. México. 1995.
38. Hernández R. Técnicas de preparación de muestras para MEB y MET. III Congreso de la Asociación de Microscopía. UNAM 1996.
39. Pashley DH. Dentin permeability, dentin sensitivity and treatment through tubule occlusion. *J Endodontics* 1986; 12:465-474.
40. Brännström M. Sensitivity of dentine. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1996; 21:517-529.
41. Brännström M. The hydrodynamic theory of dentinal pain: sensation in preparations, caries and the dentinal crack syndrome. *J Endod* 1986; 12:453-7.

42. Yoshiyama M, Noiri K, Ozaki K Uchida A, Ishirawa Y, Ishida H. J Dent Res 1990; 69:1293-1297.
43. Linde A. Dentin and dentinogenesis. Tomos I y II CRC Press, Boca Raton, Fla 1984.
44. Seltzer S, Bender IB. Pulpa dental. El Manual Moderno México 1987.
45. Oguita Y, Iwai-Liao Y, Higashidi Y. A histological study of the organic elements in the human enamel focusing of the extent of the odontoblast process. Okajimas Folia Anat Jap 1998; 74:317-27.
46. Weber DF, Zaki AE. Scanning and transmission electron microscopy of tubular structures presumed to be human odontoblast processes. J Dent Res 1986; 65:982-6.
47. Thomas HF, Carella P. Correlation of scanning and transmission electron microscopy of human dentinal tubules. Archs Oral Biol 1984; 29:641-6.
48. Goracci G, Mori G, Marci F, Baldi M. Extent of the odontoblastic process. Analysis by SEM and Confocal Microscopy. Minerva Stomatol 1999; 48:1-8

49. Frank RM. Ultrastructure of human dentine 40 years ago-progress and perspectives *Archs Oral Biol* 1999; 44:979-84.
50. Arnold S, Plate U, Weismann HP, Höhling HJ, Kolh H. Quantitative electron diffraction analyses of biomineralisation. *Proceedings of the International Congress of Electron Microscopy. AMM, 1998. Cancún, México. Abstr EE2.15*
51. Weiner S, Veis A, Beniash E, Arad T, Dillon JW, Sabsay B, Siddiqui F. Peritubular dentin formation: crystal organization and the macromolecular constituents in human teeth. *J Struct Biol* 1999; 126:27-41.
52. Caltabiano C, Leonardi R, Martinez G, Viscuso O, Romeo M, Caltabiano R. Le lesioni cariose e non cariose dei tessuti duri dentail. analisi ultrastrutturale (MES) e microanalitica (EDS) in denti del III s.a.c. *Minerva Stomatol* 1996; 45:197-204.