



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

INSTITUTO DE FISICA

“UNION ESMALTE-DENTINA.”
MICROESTRUCTURA, COMPOSICIÓN ANATOMICA
Y QUIMICA. UN ESTUDIO POR MICROSCOPIA
ELECTRONICA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
CIRUJANO DENTISTA
P R E S E N T A :
GIL CHAVARRIA MARGARITA IVET

DIRECTOR DE TESIS: DR. JOSE REYES GASGA



MEXICO, D. F.

MARZO 2002

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

AGRADEZCO A:

La Universidad Nacional Autónoma de México.
A la Preparatoria 5, Facultad de Odontología,
al Instituto de Física y a cada una de las cosas e
instantes, que me han dado una formación
profesional, compromiso con la sociedad y el
orgullo de ser universitaria.

A Pedro Mexía.

Por toda tu ayuda incondicional, por tus
enseñanzas, consejos y por estar siempre al
pendiente de todo.

A Carlos Flores.

Por tu colaboración en el laboratorio para la
preparación y obtención de muestras.

A todo el personal del Instituto de Física.

Por proporcionarme los medios necesarios para
las diferentes técnicas requeridas en esta tesis.

Especialmente:

A Jaqueline Cañetas: MEB

A Samuel Tehuacanero: Digitalización.

A Manuel: Rayos X

A mi director de tesis Dr. José Reyes Gasga.

Por enseñarme que la única forma de triunfar es
trabajando, por tu paciencia, tu tiempo, por todo
el apoyo que me diste durante la realización del
proyecto y por seguir confiando en mí. Gracias.

A Roberto Hernández.

Por tu disposición y dedicación para que las
cosas siempre resulten bien.

A Ana Rodríguez.

Porque fuiste el medio por el cual conocí el
Instituto y porque seguimos aquí a pesar de todo.

A Martita Escuén.

Porque siempre que está a tu alcance me has
ayudado, pero especialmente por la amistad y
confianza que me has brindado, eso es lo más
importante.

Rafa, Carlos M., Erick, Miguel Ángel, Elson.

A los loquísimos de física, porque además de ser
excelentes compañeros de trabajo, son unos
niños que hacen muy divertida la ciencia.

A MI FAMILIA:

A mis hermanos de los cuales estoy muy orgullosa, los quiero un buen y siempre están en mi corazón.

A ti Sandy

Lo único que quieres es lo mejor para todos, has sido y eres mi ejemplo a seguir y porque sin tu ayuda yo no estaría hasta aquí.

A ti Iván

Porque me has motivado a ser mejor cada día en todos aspectos y porque siempre he contado contigo.

A ti Kari

Porque con tu fortaleza has demostrado que nada es imposible y has estado a mi lado cada vez que te he necesitado.

A ti René

Porque siempre tienes proyectos nuevos y luchas por ellos, me contagias tus ganas de vivir y de tus aspiraciones por superarte.

A Bri, Val, Héctor, Jorge, Richard, Francisco.

Por todos los sentimientos y vivencias que nos unen, desde los más tranquilos y locos hasta los más tristes y difíciles hemos estado juntos.

A mis cuñados Luis y Marisela

Porque en este tiempo hemos convivido como una sola familia, los considero como mis propios hermanos.

A mi mamá y a mi papi.

Porque ustedes son lo más importante para mí, porque mis sufrimientos y mis alegrías los hacen suyos también, gracias por todos sus sacrificios, por apoyarme y respetar mis decisiones, por creer en mí y sobre todo por su amor que me dan todos los días, eso es mi móvil para seguir adelante. Yo también los amo y no los voy a defraudar.

A mis sobrinos Gonzalo y Bryan.

Porque son los angelitos que alegran la casa con su sonrisa, y porque espero que algún día esto sea un estímulo para que sean hombres de bien sin dejar de ser los niños lindos que son ahora.

A mi tía Silvia Xospa:

Porque siempre tienes una solución para las cosas que parecen muy difíciles, sin tu apoyo no lo hubiera logrado y sobre todo porque con tu forma de ver la vida me has enseñado a valorar lo material y jamás olvidarme de lo espiritual.

Al Dr. Rafael García y a su esposa Guadalupe González.

Porque me han apoyado como si fuera su propia hija, y gracias a eso he cumplido algunos de mis proyectos, tienen mi cariño y mi respeto.

A TODOS MIS AMIGOS:

A Magali, Liliana e Inés.

Porque con su confianza, apoyo, su alegría, enojos y su compañía han creado un puente indestructible de amistad, y aunque ahora nuestros proyectos de vida son diferentes, seguiré con ustedes siempre que lo necesiten. Las quiero mucho.

A los niños de Postgrado: Maggie, Araceli, Arturo, Juan Carlos, Víctor, Alejandro, Uriel, Luis y Miguel.

Somos un buen equipo, con todo para salir adelante y lograr lo que queremos, especialmente a ti Carlos por tanta incondicionada e incomprensible amistad de años.

A DIOS.

Que me dio la vida, y que se ha manifestado en mí durante cada etapa de ella.

A Alberto Becerril.

Porque siempre intentamos compartir todos nuestros triunfos y fracasos, esto también es tuyo.

Jafhar, Manuel, Vic, Davo, Gina, Jenny, Brighet, Bere, Erika Salazar, Karlita Rendón y Karla Peña.

Cada uno de ustedes me ha brindado su amistad durante la carrera, fueron la clave para que día a día todo estuviera mejor, fueron y seguirán siendo importantes para mí.

Nancy, Janeth, Angy, Fredy y Domingo.

Porque son parte de la etapa mas padre y aunque concluimos la prepa, hemos podido conservar la amistad.

Dame señor agudeza para entender
Capacidad para retener
Método y Facultad para Aprender
Sutileza para interpretar
Gracia y Abundancia para hablar
Dame acierto para empezar
Dirección al progresar
Perfección al acabar.

IVET GIL CH.

INDICE

RESUMEN.....	01
INTRODUCCIÓN.....	02
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	07
OBJETIVOS.....	08
GENERALES.....	08
ESPECÍFICOS.....	09
HIPÓTESIS.....	10
JUSTIFICACIÓN.....	11
CAPÍTULO I	
UNIÓN ESMALTE-DENTINA	
CONCEPTOS BÁSICOS.....	12
ESMALTE.....	13

Características Físicas.....	13
Propiedades Químicas.....	14
Estructura.....	14
AMELOGÉNESIS.....	22
CONSIDERACIONES CLÍNICAS.....	25
UNIÓN ESMALTE-DENTINA.....	25
DENTINA.....	27
Características Físicas.....	27
Propiedades Químicas.....	27
Estructura.....	27
DENTINOGENESIS.....	31
CAMBIOS FUNCIONALES CON LA EDAD.....	32
CONSIDERACIONES CLÍNICAS.....	33
CARACTERÍSTICAS Y CONSTITUCIÓN DE LAS APATITAS.....	34
CONSIDERACIONES CLÍNICAS.....	35

CAPÍTULO II

TÉCNICAS DE MICROSCOPIA.....	36
-------------------------------------	-----------

MICROSCOPIA FOTÓNICA.....	37
---------------------------	----

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA.....	38
MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (MET).....	40
ESPECTROSCOPIA DE RAYOS X.....	43
MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE ALTA RESOLUCIÓN.....	45
MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB).....	45

CAPÍTULO III

INTERPRETACIÓN DE LAS IMÁGENES DE MET.....48

DIFRACCIÓN DE ELECTRONES.....	49
SISTEMAS CRISTALINOS.....	50
REDES DE BRAVAIS.....	52
ÍNDICES DE MILLER.....	53
INTERPRETACIÓN DE ESPECTROSCOPIA DE RAYOS X.....	56
LEY DE BRAGG.....	57

CAPÍTULO IV

DESARROLLO EXPERIMENTAL.....58

METODOLOGÍA DE PREPARACIÓN DE MUESTRAS.....	59
PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA MICROSCOPIA FOTÓNICA.....	60
PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA MEB.....	61

PREPARACION DE MUESTRAS PARA MET.....	63
PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA EDS DE RAYOS X.....	65
PROCEDIMIENTO FOTOGRÁFICO.....	65

CAPÍTULO V

RESULTADOS.....	67
------------------------	-----------

MICROSCOPIA FOTÓNICA.....	67
MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB).....	72
MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (MET).....	78
DIFRACCIÓN DE RAYOS X.....	84

CAPÍTULO VI

DISCUSIÓN.....	88
-----------------------	-----------

CONCLUSIONES.....	90
--------------------------	-----------

REFERENCIAS.....	91
-------------------------	-----------

RESUMEN

La unión esmalte dentina es una zona formada a partir de dos componentes, uno de ellos es el esmalte (96% de material inorgánico) y el otro es la dentina (70% de material orgánico). Éstos tejidos durante su mineralización forman una enucleación dando origen a la zona de unión. La forma cómo se unen dos materiales tan diferentes tanto en estructura como en composición química y cómo perduran en contacto hasta que es atacado por algún agente físico, químico o bacteriano, despierta el interés en ésta investigación, implicando el estudio del esmalte y la dentina así como las estructuras específicas que se encuentran en la unión de los dos tejidos. Este es el objetivo del presente trabajo de tesis.

El esmalte es el tejido exterior del diente, formado por ameloblastos, mismos que pierden su actividad celular al momento de completar la mineralización, dando origen a los prismas que son la unidad estructural del esmalte conformados por cristales de hidroxiapatita. Es el tejido con mayor dureza del cuerpo humano, las zonas interprismáticas contienen el 4% de material orgánico. La dentina se forma por los odontoblastos que se encuentran dentro de los túbulos dentinarios (unidad estructural de la dentina). La presencia de éstas células con actividad constante en la formación de dentina, es la mayor diferencia respecto al esmalte. El porcentaje de material orgánico es del 30%, sin embargo el componente inorgánico corresponde también a hidroxiapatita, con la diferencia de presentar cristales pequeños con una distribución al azar.

En este trabajo se ha observado que la unión esmalte-dentina, que había sido descrita como una zona festoneada entre esmalte y dentina, está conformada principalmente por material orgánico, resultado de los remanentes proteicos del esmalte durante la mineralización de éste, y prolongaciones citoplasmáticas de los odontoblastos que llegan hasta el esmalte en los espacios interprismáticos, así como colágena de la dentina. Este material orgánico es lo que permite mantener unidos al esmalte la dentina de forma natural.

INTRODUCCIÓN

El área de investigación en éste trabajo de tesis se refiere al estudio microestructural y composición química de la UNIÓN ESMALTE-DENTINA. Actualmente se conoce de manera extensa histológica y fisiológicamente a los componentes de los órganos dentales: pulpa, cemento, esmalte y dentina; sin embargo, la llamada unión amelodentinaria, que es la unión de estos dos últimos, no existe mayor información, a pesar de ser, sin duda, una zona de gran importancia, donde hacen contacto dos componentes del órgano dental diferentes. El presente estudio involucra el mecanismo, materiales, estructuras o elementos que permiten ésta unión de forma natural, como se observa en la figura 1.



Figura 1. Unión Esmalte – Dentina, imagen de microscopía fotónica. En el extremo izquierdo se encuentra el esmalte y en el derecho la dentina. La unión se observa en forma festoneada.

Esta tesis representa la continuación y complemento a las investigaciones sobre esta zona. Incluye comentar las características físicas ya descritas por otros autores, hasta estudios analíticos de su composición química, arreglo estructural, la relación que presentan esmalte-dentina, así como identificar la relevancia de ésta unión para las diferentes áreas de la investigación y, en especial, para la comunidad odontológica, que sin duda están involucrados diariamente con órganos dentales y, por ende, con la unión esmalte-dentina.

La importancia de éste estudio radica en la observación, por primera vez, detallada de la unión amelodentinaria por microscopía, no solo óptica sino electrónica de barrido y transmisión. Es importante y necesario el conocimiento de ésta unión, ya que el padecimiento o enfermedad más común que sufre la población y trata el cirujano dentista son los procesos cariosos. Este proceso puede tardar en involucrar el esmalte dental, pero al llegar a la unión amelodentinaria seguirá progresando rápidamente y atravesar la dentina hasta que llega a dañar al paquete vasculonervioso o pulpa, significando la pérdida de la vitalidad pulpar o pérdida total del órgano dental.

El contacto entre esmalte y dentina es físico, químico y biológico, formando así la denominada unión amelodentinaria (UAD), más correctamente unión esmalte-dentina (UED), es por lo tanto de suma importancia.

El esmalte dental es la estructura más externa del diente y es considerado el tejido más duro del cuerpo humano. Esto a reserva de que tenga soporte dentinario sano, de lo contrario se comporta como un componente frágil con facilidad de fracturarse por ser un tejido acelular; lo que significa que una vez formado, no presenta actividad biológica. Es decir, los ameloblastos, células precursoras de los prismas (unidad estructural del esmalte), desaparecen al terminar la formación de éste, por esto es incapaz de repararse.

Cuando madura el esmalte dental pierde material orgánico, quedando con un porcentaje de 4% solamente. Esa fase orgánica es de origen proteico, las enamelinas y amelogeninas; mientras el 96% restante es material inorgánico. Cada prisma está conformado por fosfatos de calcio principalmente hidroxiapatita, lo que le brinda la propiedad de dureza característica de éste elemento.

La dentina presenta propiedades estructurales diferentes al esmalte. Siendo en principio menos dura que éste debido a que cuenta con un 30% de material orgánico, principalmente fibrillas de colágena, sustancia fundamental de mucopolisacáridos y agua. Además de que están presentes los odontoblastos (células precursoras de la dentina) en cada uno de los túbulos dentinarios, provocando una constante formación de dentina, aún después de la erupción del diente o reparación de ésta si hay algún tipo de agresión como es la caries dental. El 70% restante es material inorgánico, hidroxiapatita igual que el esmalte dental, pero con diferente arreglo estructural.

La unidad estructural que tienen tanto el esmalte como la dentina pertenece a un material inorgánico formado por apatita cuya fórmula es: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6$, con una estructura iónica caracterizada por ser dura y refractaria. Con enlaces iónicos que se unen por fuerzas electrostáticas a variables X, que pueden ser F u OH. En caso de combinarse con hidroxilos forman hidroxiapatita, perteneciendo cristalográficamente a una disposición hexagonal, y su composición química es $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Los fosfatos de calcio son los más grandes, pero en general la combinación de todos los iones originan éste arreglo atómico al que se debe la dureza de las dos estructuras, principalmente la del esmalte, necesaria para el trabajo mecánico que realiza. Sin embargo, la dentina, aunque presenta la misma mineralización por cristales de hidroxiapatita, el porcentaje de material orgánico la hace menos dura que el esmalte, sirviendo como soporte para éste; así es como ambos dan origen a la unión esmalte-dentina.

La unión de estos tejidos tan distintos forman una relevancia para el odontólogo. Por lo tanto es indispensable determinar diferencias y similitudes de tipo estructural, químico y fisiológico de ésta unión para así poder aplicarlo a la práctica clínica, con tratamientos de rehabilitación y técnicas de prevención adecuadas. Incluso hay que tomar en cuenta que los materiales de restauración que funcionan bien en la superficie del esmalte, podrían no ser adecuados para la dentina ni para la unión esmalte-dentina, porque, aunque es la misma composición química (hidroxiapatita) de su fase inorgánica, tienen propiedades distintas, y al unirse y ponerse en contacto dan lugar a los órganos dentales que realizan actividades distintas de resistencia, esfuerzo y tensión en las labores de masticación.

En este trabajo de tesis se hicieron estudios ultraestructurales de la unión esmalte-dentina con un método de análisis completamente establecido: mediante microscopía óptica y de barrido a nivel micrométrico, electrónica de transmisión a nivel nanométrico y mediante difracción de rayos X, para identificar el material que conforma a cada uno de los tejidos mediante técnicas de indexación de patrones de difracción poniendo mayor énfasis en la forma en que se unen el esmalte y la dentina dentro de la estructura del diente, seleccionando factores principales y tomando en cuenta analogías y los conceptos específicos en la Ciencia de Materiales , que finalmente son la base para dar confiabilidad y validez a la investigación.

La presentación escrita de este trabajo de tesis se ha dividido en seis capítulos, además de presentar la ubicación del mismo dentro del proceso de aprendizaje de las propiedades de la unión esmalte-dentina por medio del planteamiento del problema, los objetivos que se persiguen, las hipótesis del trabajo que estaban por comprobar y la justificación del mismo. Éstos son los temas que inician la presentación.

El capítulo I se compone por conceptos básicos de la unión esmalte-dentina, que nos permite conocer mejor las características físicas de ésta y de las partes que la componen: la dentina y el esmalte. En el capítulo II comento brevemente los conceptos fundamentales de las técnicas utilizadas en éste estudio para una mejor comprensión de los resultados obtenidos. Por lo tanto también involucra los puntos importantes que para esta tesis tiene las técnicas de microscopía de luz o fotónica, la microscopía electrónica (tanto en la modalidad de barrido como de transmisión), la espectroscopia de rayos X característicos y la difracción de rayos X. En el capítulo III es una visión general y bases principales con las que se lleva a cabo la interpretación de imágenes de microscopía electrónica puesto que, a diferencia de la microscopía fotónica, no muestran el objeto tal y como lo vemos macroscópicamente. Por lo tanto, es necesario conocer definir los conceptos acerca de los sucesos ocurridos cuando el haz electrónico interacciona con la muestra y de esta manera poder interpretar el contraste que se observa. El capítulo IV es esencialmente el inicio del trabajo realizado en esta investigación, comentándoles el proceso experimental llevado a cabo, describiéndoles detalladamente, la forma en que se realizan los cortes dentales y el método de preparación de muestras, con las variables que implicó preparar muestras de unión esmalte-dentina, para su observación y estudio por medio de la diferentes técnicas utilizadas. Los resultados obtenidos en éste trabajo de tesis se presentan en el capítulo V. La discusión de éstos y los comentarios que sugieren sobre la estructura y propiedades de la unión esmalte-dentina, que representan la aportación del trabajo realizado, están contenidos en el capítulo VI. Al final se comentan las conclusiones y se presenta la bibliografía consultada.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El planteamiento de la investigación de la unión esmalte-dentina surge con la finalidad de conocer la composición química y estructural de ésta, identificando los elementos que la conforman a nivel micro y nanométrico, mediante la microscopía electrónica y fotónica. Se conoce que ésta unión es la zona en la que un componente con ciertas propiedades estructurales y químicas se une a otro cuyas características son diferentes formando así una frontera dentro del órgano dental, con un mecanismo y funciones bien determinado. Esa unión y sus propiedades son la finalidad de esta tesis.

Durante el proceso de investigación se resuelven cuestionamientos como el conocer la distribución de las unidades estructurales del esmalte y la dentina, cómo se forma propiamente la unión, características individuales de las dos estructuras en ésta zona, su composición química, la distribución de los átomos de hidroxapatita en ambos lados de la unión, variabilidad y la descripción. Todas estas interrogantes fueron las propuestas y son los lineamientos a investigar en ésta tesis. Mediante el análisis de cada componente de la unión esmalte-dentina, con una herramienta fundamental en el área de la investigación: el microscopio electrónico, además de conocer la técnica, es necesario entender lo que se ve, interpretar y mostrar los resultados. En este caso el arreglo estructural esmalte-dentina y la unión que surge de forma natural entre éstos, continuando con los proyectos de investigación que surgieron en forma interactiva entre el Instituto de Física y la Facultad de Odontología desde 1992, proporcionando información de relevancia para la ciencia de los materiales y la ciencia odontológica, además de fomentar la investigación de forma consciente y razonada.

Además este planteamiento nos permite conocer el estado del arte de este componente del órgano dental al hacer una revisión exhaustiva del tema.

OBJETIVOS

GENERALES:

- -Descripción de la forma en que estructural y químicamente la dentina y el esmalte se unen para formar la unión amelodentinaria.
- Incrementar los conocimientos ultraestructurales, químicos y fisiológicos de dicha unión, identificando así la importancia que representa ésta frontera en la práctica clínica.
- -La observación y estudio de la unión esmalte-dentina a nivel micrométrico por microscopía óptica y de barrido; y también a escala nanométrica por microscopía electrónica de transmisión.
- -Identificación de los elementos químicos y físicos que confirman las relaciones establecidas en ésta zona, y que, en general, permiten poner en contacto, estructuras con propiedades distintas para dar lugar a un órgano que realiza un trabajo tan específico, como es la masticación.
- -Evaluar la factibilidad, importancia y recursos de interés con capacidad de discriminar o incluir los aspectos metodológicos adecuados, que permitan una visión general, en el área de lo que se ha denominado “materiales compuestos” en la ciencia de los materiales.

ESPECÍFICOS:

- -Obtención de dientes (sin caries), para obtener los cortes y muestras adecuadas requeridos en ésta investigación.
- -Preparación de muestras en forma correcta durante cada una de sus etapas por las que se somete, permitiéndonos conocer las características de todas las estructuras.
- -Observación de la unión esmalte-dentina mediante microscopía fotónica.
- -Selección de datos obtenidos de la unión esmalte-dentina, por medio de microscopía electrónica de barrido.
- -Observación de la unión esmalte-dentina en microscopía electrónica de transmisión, campo claro, campo oscuro así como patrones de difracción de los cristales.
- -Identificación de la unidad básica estructural mediante indexación de patrones de difracción y difracción de rayos X, que presentan dentina y esmalte, así como los elementos que permiten la unión de los dos dando origen a la unión amelodentinaria.

HIPÓTESIS

1. La unión amelodentinaria es una zona muy débil que se origina al ponerse en contacto la dentina con el esmalte.

HIPÓTESIS COMPROBADA.

Es una zona débil, por formarse de la unión de dos materiales distintos, con variaciones en la cantidad de material orgánico, aunque con la misma unidad estructural inorgánica.

2. La unión amelodentinaria representa el punto más vulnerable del órgano dental y es, por lo tanto, fácilmente atacado por agentes físicos, químicos y biológicos.

HIPÓTESIS COMPROBADA.

La unión amelodentinaria es la zona más vulnerable del diente, y a pesar de que en el exterior se encuentra el esmalte, estando en contacto con los agentes físicos, químicos y biológicos, cuando se daña, obviamente atraviesan dicha unión con mayor facilidad y rapidez, hasta llegar a dentina, que tiene menor dureza que el esmalte, y finalmente a la pulpa, que es la que le da vitalidad al diente

3. Alrededor de la unión amelodentinaria se forma una región donde la estructura y composición química del esmalte y la dentina se unifican, presentando propiedades físicas y químicas particulares.

HIPÓTESIS NULA.

Alrededor de la unión, no se forma una región donde la estructura y composición química del esmalte y dentina se unifiquen, ya que cada uno, a pesar de estar en contacto presentan propiedades químicas y características físicas diferentes.

JUSTIFICACIÓN

La población se ha visto favorecida con las investigaciones acerca del reino vegetal y mineral así como el animal y humano. Éste estudio es de gran interés principalmente para el área odontológica al igual que para la ciencia de los materiales, y seguramente tendrá beneficios de diferente índole, tanto en el campo teórico como en el campo práctico. Desde el punto de vista odontológico, se formará una conciencia al realizar cualquier trabajo mecánico, acerca de la estructura tan importante que se está trabajando. La unión esmalte-dentina, involucrada en todos los trabajos de restauración dental, hay que tomarla en cuenta para los métodos de prevención, mejorando la calidad en servicios odontológicos, proyectando buenos resultados en la salud de la población en general.

Esta investigación me permitirá conocer los detalles acerca de la estructura, propiedades, composición química, similitudes y diferencias del esmalte y la dentina, que al unirse forman la unión amelodentinaria. Además de entender cómo es que dos materiales con diferentes propiedades se unen naturalmente para dar lugar a un producto ingenieril de tal calidad con funciones específicas, y que fisiológicamente necesitan estar juntos, ya que el esmalte requiere del soporte dentinario, de lo contrario es susceptible a fracturas y la dentina, por contener un porcentaje mayor de material orgánico, necesita la dureza del esmalte para su protección.

La unión esmalte-dentina es vulnerable a agentes físico, químicos y biológicos. El más común es el proceso carioso; por lo que es necesario establecer nuevos conocimientos desde el punto de vista estructural de ésta unión y así definir el comportamiento, para un mejor entendimiento del funcionamiento y enfermedades del diente, buscando nuevas expectativas de tratamiento y sobre todo de prevención.

CAPÍTULO I

UNIÓN ESMALTE - DENTINA

CONCEPTOS BÁSICOS

La UNIÓN ESMALTE-DENTINA, como su nombre lo dice, es la zona del diente donde se unen física, química y biológicamente dentina y esmalte. A pesar de ser éstos materiales diferentes en estructura, forman una frontera de gran importancia donde la dentina contacta con el esmalte. Este contacto se realiza mediante extensiones o prolongaciones odontoblásticas que están dentro de los túbulos dentinarios que cruzan el límite y llegan al esmalte. El esmalte y la dentina tienen la misma unidad química, la hidroxiapatita pero con diferente arreglo estructural y diferentes porcentajes de material orgánico (1).

Para el estudio de ésta zona es básico partir de lo más general a lo más específico. Y que el objetivo de la investigación es dar a conocer microscópica, estructural y químicamente dicha unión, es necesario conocer las características físicas y propiedades químicas tanto del esmalte como de la dentina individualmente, incluso desde el proceso de su formación, pues ese es el principio de la unión amelodentinaria o unión esmalte-dentina. Éstos elementos forman los dientes que se encuentra en la cavidad bucal, con una fisiología específica e indispensable para la salud de todos los seres humanos. Fig. I.1



Figura I.1 Órganos dentales, se observa el esmalte que recubre a la dentina.

ESMALTE

Características Físicas. El esmalte forma una cubierta protectora, de espesor variable, sobre todo en la superficie cervical de la corona (Fig. I.2). Sobre las cúspides de molares y premolares, alcanza un espesor de 2 y 2.5 mm., adelgazándose hacia abajo como filo de navaja en la región cervical del diente. Debido a su contenido elevado de minerales y a su disposición cristalina, el esmalte es el tejido calcificado más duro del cuerpo humano. La función específica del esmalte es que forma la cubierta resistente de los dientes, haciéndolos adecuados para la masticación. La estructura específica y la dureza del esmalte lo vuelven quebradizo, hecho particularmente notable cuando pierde su cimiento de dentina sana. Otra propiedad física que presenta el esmalte es su permeabilidad, ya que actúa como una membrana semipermeable, porque permite el paso de moléculas muy pequeñas. El color de la corona del diente que es cubierta por esmalte, varía desde blanco amarillento hasta blanco grisáceo, éste color se sugiere que está determinado por las diferencias de la translucidez del esmalte, y el color de la dentina, dependiendo de la calcificación de la dentina y la homogeneidad del esmalte (2).



Figura I.2 Esquema de un diente humano delimitando la zona que comprende el esmalte, su unión con la dentina, así como la relación que tienen con el paquete vasculonervioso o pulpa.

Propiedades Químicas. El esmalte consiste principalmente de material inorgánico en un 96% (apatita) y solo el 4% de material orgánico y agua. Aunque la naturaleza de los elementos orgánicos no se conoce completamente, pero la bibliografía habla de dos proteínas que son amelogeninas (soluble al ácido fosfórico, formando una red fina alrededor de los prismas) y enamelinas (insoluble, aún después de ataques químicos, se asocia a los penachos), similares a la familia de proteínas de las queratinas beta cruzadas, pero su composición no es completamente similar a la de éstos aminoácidos. Además las reacciones histoquímicas, permiten suponer que las células formadoras del esmalte de los dientes en desarrollo contienen también un complejo de proteína-polisacárido y que un mucopolisacárido ácido entra en el esmalte mismo en el momento en que la calcificación es un hecho prominente (3).

Estructura. Debido a su naturaleza cristalina, la estructura del esmalte, es considerada difícil de estudiar, ya que al examinarse cortes convencionales desmineralizados, se puede ver un espacio vacío en zonas previamente ocupadas por el mineral que se ha disuelto y el material orgánico se ha extraído o evaporado. Sin embargo podemos comentar que su estructura está compuesta de ameloblastos que van desde la unión esmalte-dentina a la superficie.

- **PRISMAS DEL ESMALTE.** Es la unidad básica estructural del esmalte (Fig. I.3), junto con las vainas del esmalte y una sustancia interprismática de unión. Esto no es más que el resultado de un patrón altamente organizado de orientación cristalina de hidroxapatita. Los prismas del esmalte, de forma algo cilíndrica están compuestos por cristales.

El número de prismas del esmalte va de 5 millones en los incisivos inferiores hasta 12 millones en los molares superiores. A partir de la unión amelodentinaria siguen una dirección perpendicular hacia la superficie del diente.

La longitud de la mayor parte de los prismas es mayor que el espesor del esmalte debido a su dirección oblicua y su curso ondulado, siendo más largos en las cúspides que los de la región cervical. Su diámetro en promedio es de 4 micrómetros, pero se ha dicho que aumenta a partir de la unión dentinoesmáltica hasta la superficie en una proporción 1:2 aproximadamente (4).

La relación entre los cristales dentro del prisma y en la región interprismática es de especial interés ya que los cristales siguen un patrón confluyente desde el eje central del prisma, continuando con su inclinación lateral hasta que se ubican perpendicularmente respecto del prisma en la región interprismática. En un corte transversal se compara al contorno del ojo de una cerradura, su disposición estructural es en forma cilíndrica (Fig. I.4).

Cada ameloblasto es primariamente responsable de la formación de un prisma y la porción de la región interprismática que rodea ese prisma en particular es formado por el mismo ameloblasto.

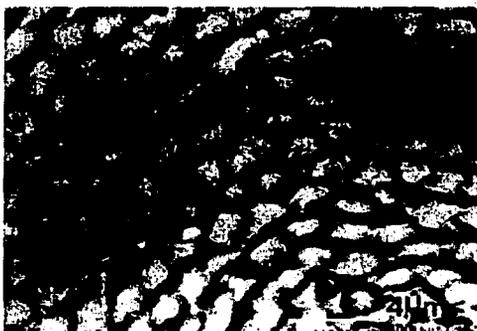


Figura. I.3 Prismas del esmalte vistos en microscopía electrónica de barrido, en un corte transversal..

Los prismas son de aspecto cristalino claro permitiendo pasar la luz. Ocasionalmente en un corte transversal se ven hexagonales, otras redondeados u ovalados, parecen escamas de pescado. La estructura prismática se puede observar directamente bajo el microscopio fotónico. El microscopio electrónico ha brindado información de la matriz orgánica, así como de su componente cristalino (5). La observación de cortes de esmalte maduro y descalcificado revela la red de fibrillas orgánicas en todo el espesor de los prismas, no solo en los huecos, sino también alrededor.

Las vainas del prisma es una capa periférica delgada, se forman a lo largo de la interfase existente entre grupos de cristales que presentan angulaciones marcadamente diferentes (Fig. I.4). Contienen más proteínas del esmalte que en otras regiones. Debido a la interfase creada entre los cristales, algunas zonas presentan ángulos agudos, lo que da el aspecto de escamas de pescado observadas en cortes desmineralizados en desarrollo o en cortes por desgaste y grabados. Estas vainas tienen un ancho promedio de alrededor 5 micrómetros, pero próximos a la dentina esta estructura prismática ya no existe. Recién que aparecen tienen 3 micrómetros y aumentan gradualmente. Las vainas se pueden observar mediante microscopio fotónico, ya que la luz es refractada y dará una imagen ancha (6).

El esmalte adyacente a la superficie de la dentina se forma antes de que exista el proceso de Tomes y por lo tanto carece de estructura prismática dado que todos los cristales se alinean uniformemente, casi perpendiculares a la dentina. El esmalte carente de prismas se ubica en los 30 micrómetros más externos del esmalte de todos los dientes primarios y en el tercio cervical de los dientes permanentes (3). Éstas hileras están dispuestas circunferencialmente alrededor del eje mayor del diente, la dirección es perpendicular a la superficie de éste, con una ligera inclinación hacia la cúspide, en cervical están horizontalmente y se inclinan apicalmente.

En el microscopio electrónico los cristales de apatita parecen ser aplanados, orientados respecto al eje longitudinal en sentido aproximadamente paralelo al eje longitudinal del prisma (Fig. I.4). La observación del paralelismo entre los cristales corrobora las conclusiones obtenidas mediante algunos estudios de birrefringencia, hechos con luz polarizada, y por estudios de orientación mediante la difracción de rayos X (2). La medida de los cristales básicos del esmalte aún no se han definido con exactitud, pero el dato de las longitudes más usadas varían entre 0.05 y 1 micrómetro y sus diámetros oscilan entre 0.02 y 0.04 micrómetros (7).

- **SUSTANCIA INTERPRISMÁTICA.** Los prismas del esmalte no están en contacto directo entre sí, sino pegados por la sustancia interprismática de origen orgánico proteico, cuyo índice de refracción es ligeramente mayor al de los prismas. Bajo el microscopio electrónico las estructuras observadas en ésta región, tienen un aspecto idéntico a las observadas en el interior de los prismas, excepto su orientación; aún no se ha establecido la proporción mineral en la región interprismática.

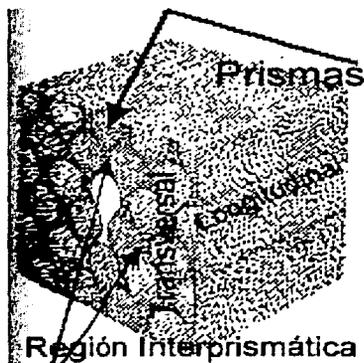
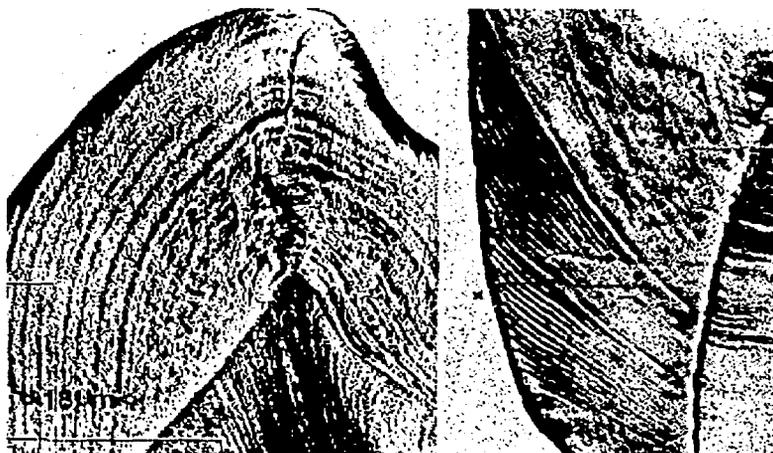


Figura. I.4 Dibujo esquemático de la estructura del esmalte. Nótese la forma de cerradura que tienen los prismas, la distribución de los cristales de hidroxiapatita en su interior y la zona interprismática.

- **ESTRÍAS DE RETZIUS.** Son líneas de crecimiento, en un corte longitudinal se ven como rayas oscuras cafés (Fig. I.5), que reflejan los sucesivos frentes en la formación del esmalte, y en un corte transversal se ven como anillos concéntricos. Se modifican con perturbaciones sistémicas como son las enfermedades febriles, provocando líneas incrementales acentuadas, con patrones similares en diferentes dientes de un mismo individuo. Las micrografías electrónicas revelan una posible disminución en relación con la edad en el número de los cristales en las estrías y también se ha sugerido que los prismas del esmalte se doblan (8).



*Figura. I.5 Líneas de incremento del esmalte, llamadas Estrías de Retzius (longitudinal).
A. En la zona oclusal. B. En el área cervical.*

- **ESTRÍAS TRANSVERSALES.** Son las estriaciones periódicas que se forman transversalmente, con intervalos de 4 micrómetros (es la velocidad o la cantidad que se forma en aproximadamente un día, como se observa en la Figura I.6). El microscopio electrónico de barrido revela constricciones alternadas y expansiones de los prismas en algunas regiones del esmalte, con un aspecto bandeado. La aparición de estriaciones transversales podría resultar también de interrelaciones estructurales entre grupos de prismas más que de la modificación de uno solo.

El microscopio fotónico produce la imagen falsa de prismas cortadas longitudinalmente. Según muestra del microscopio electrónico, una alineación de prismas cortados oblicuamente en filas horizontales. Las dificultades técnicas para lograr verdaderos planos longitudinales dan cuenta de muchas observaciones falsas de estrías transversales (9).

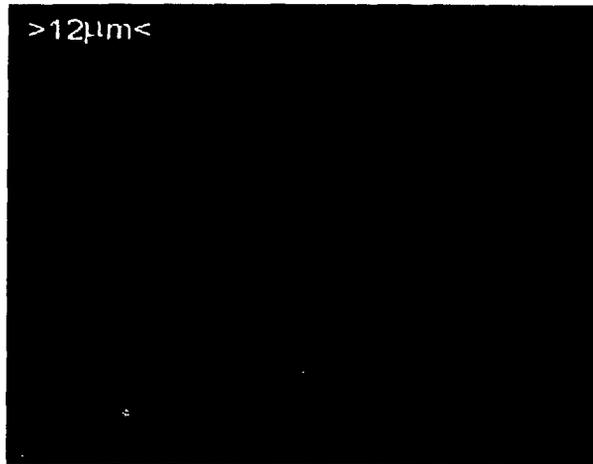


Figura I.6 Imagen de microscopía fotónica, donde se observa las estriaciones del esmalte dental.

- **BANDAS DE HUNTER-SCHREGER.** El cambio más o menos regular en la dirección de los prismas puede considerarse como una adaptación funcional que disminuye el riesgo de cuarteaduras, de dirección axial, bajo la influencia de las fuerzas masticatorias oclusales. El cambio en la dirección de los prismas explica el aspecto de las bandas de Hunter-Schreger. Se trata de fajas alternas oscuras y claras de anchuras variables, observadas mejor en un corte longitudinal obtenido por desgaste, visto mediante luz reflejada oblicua (Fig. I.7).

Estas bandas corresponden a un fenómeno óptico ocasionado únicamente por cambios en dirección de las varillas, con líneas alternadamente claras y oscuras, que pueden revertirse mediante la alternación de la dirección de la iluminación incidente. Se originan en la unión amelodentinaria y terminan a cierta distancia de la superficie externa del esmalte, algunos investigadores creen que hay variaciones en la mineralización del esmalte, que coinciden con la distribución de esas bandas y que no pueden ser consecuencia únicamente de un fenómeno óptico, sino que están compuestas de zonas alternas que tienen permeabilidad ligeramente diferente y contenido diferente de material orgánico (4,6).

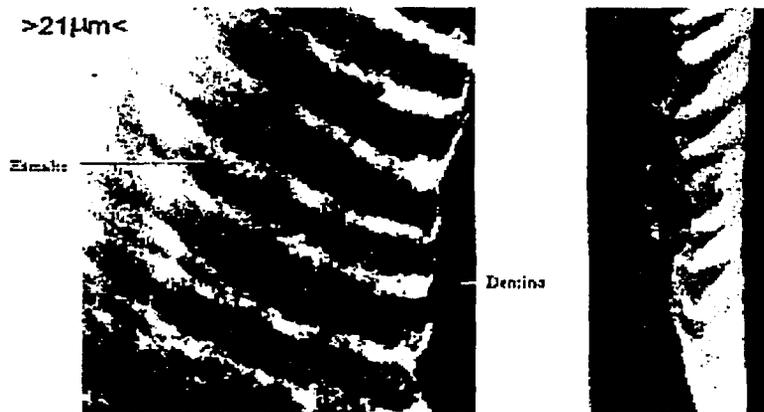


Figura. 1.7 Líneas alternas del esmalte, conocidas como Bandas de Hunter (efecto óptico).

- **ESTRUCTURAS DE LA SUPERFICIE.** Aquí son los detalles principales observados en la superficie externa como los surcos de Pickerill, que son surcos transversales ondulados, considerados como manifestaciones externas de las estrías de Retzius. Son continuos alrededor de un diente, y por lo general se disponen en forma paralela, entre sí.

Existen otras estructuras formadas entre los surcos de Pickerill llamadas periquimatas. Son elevaciones del esmalte al lado de cada concavidad de éstos surcos, se encuentran en un número alrededor de 30 periquimatas por milímetro cuadrado cerca de la región de la unión cemento-esmáltica y su concentración disminuye gradualmente hasta ser alrededor de 10 por milímetro en la superficie cerca del tercio oclusal o incisal; su dirección es bastante regular excepto en cervical.

- **PROLONGACIONES ODONTOBLÁSTICAS Y HUSOS DEL ESMALTE.** Ocasionalmente las prolongaciones odontoblásticas cruzan a través de la unión amelodentinaria, hasta el esmalte; algunas están engrosadas en su extremidad y se denominan husos del esmalte (Ver Fig. I.8). La dirección de éstas prolongaciones en el esmalte corresponden a la dirección original de los ameloblastos, o sea en ángulos rectos con relación a la superficie de la dentina (8). Debido a que los prismas del esmalte se forman en ángulo respecto al eje de los ameloblastos, la dirección de los husos y de los prismas es divergente.

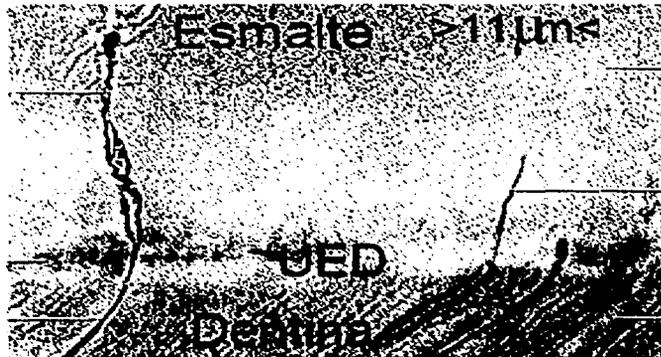


Figura. I.8 Imagen de microscopía fotónica, donde se observa que las prolongaciones odontoblásticas cruzan la unión esmalte-dentina (UED) hasta llegar al esmalte dental, llamados husos del esmalte.

- **PENACHOS DE ESMALTE.** Se originan en la unión amelodentinaria o dentinoesmáltica y llegan hasta alrededor de una tercera a quinta parte de su espesor. Se observan en cortes por desgaste, como en la Fig. I.9. Un penacho inicia con una estructura estrecha, como cinta, que se origina en la dentina. Éstos penachos consisten de prismas hipocalcificados del esmalte y de sustancia interprismática.



Figura. I.9 Penachos del esmalte observados mediante microscopía fotónica, con origen en la unión esmalte-dentina.

AMELOGÉNESIS

Tomando como base la ultraestructura y composición, en el desarrollo del esmalte intervienen dos procesos: la formación de la matriz orgánica y la mineralización, cada ameloblasto da origen a un prisma, sin ser paralelo a la célula formadora (Fig. I.10).

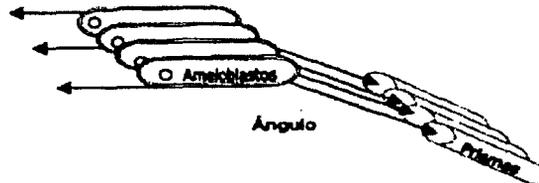


Figura I.10 Esquema de la formación de los prismas del esmalte.

-Formación de la matriz orgánica del esmalte.

Membrana dentinoesmalítica. Los ameloblastos comienzan su actividad secretora cuando se ha depositado pequeña cantidad de dentina. La primera matriz de esmalte se deposita fuera de las células por los ameloblastos, en una capa delgada a lo largo de la dentina. Esta se ha denominado membrana dentinoesmalítica y es continua con la sustancia interprismática, que se forma subsecuentemente. Su presencia explica el hecho de que las extremidades distales de los prismas del esmalte no estén en contacto directo con la dentina.

Desarrollo de las prolongaciones de Tomes. Después de la formación de la membrana dentinoesmalítica se deposita matriz entre las extremidades distales de los ameloblastos. Rodea completamente las extremidades de las células, formando prolongaciones de Tomes de 4 micrómetros de largo.

Barras terminales distales. Cuando las prolongaciones de Tomes comienzan a formarse aparecen barras terminales en las extremidades distales de los ameloblastos, separando las prolongaciones de Tomes de las células propiamente dichas. Estructuralmente se trata de condensaciones localizadas de sustancia citoplasmática, íntimamente asociadas con las membranas celulares. Se observan únicamente durante la etapa de producción del esmalte.

Transformación de las prolongaciones de Tomes. Se refiere al llenado de las extremidades distales de las prolongaciones de Tomes con material de la matriz, para formar segmentos de prismas del esmalte. Las prolongaciones pueden separarse de las células progenitoras mediante la invaginación de las membranas celulares laterales, antes de su transformación en sustancia del prisma. Los ameloblastos se encuentran orientados en ángulo respecto a los segmentos prismáticos en desarrollo, desviándose primero hacia un lado y luego hacia otro, lo que explicaría el curso ondulado de los prismas terminados en ciertas regiones (3).

Aunque la masa principal de cada prisma del esmalte se deriva de un solo ameloblasto, porciones más pequeñas se derivan de una o más células vecinas en el esmalte decíduo. Esto explica las desviaciones regulares, con relación al eje longitudinal del prisma, de grupos de cristales de apatita. El producto final de los ameloblastos es la cutícula primaria (queratina) y el epitelio reducido del esmalte forma la cutícula secundaria, ambas cubren al esmalte.

-Mineralización y maduración de la matriz del esmalte.

Se efectúa en dos etapas, aunque el intervalo entre ellas parece ser muy corto. En la primera aparece mineralización parcial inmediata en los segmentos de matriz y la sustancia interprismática conforme se depositan. El análisis químico indica que el influjo inicial puede llegar desde el 25 hasta el 30% del contenido mineral total final. La segunda etapa de maduración se caracteriza por mineralización gradual hasta el final, comienza a partir del borde de la corona y progresa hacia el cuello.

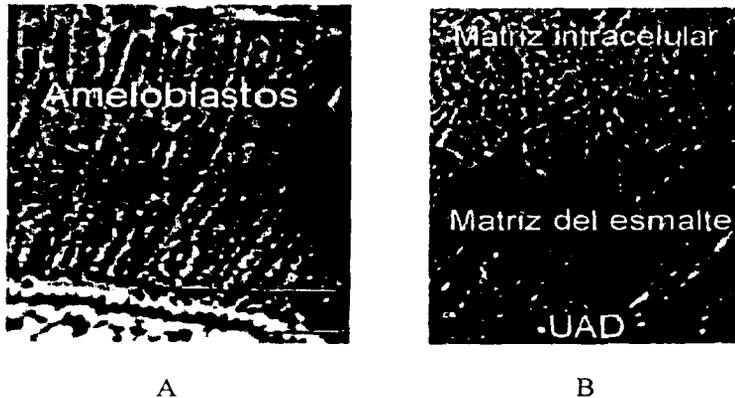


Figura I.11 Amelogénesis, en la figura A, es el inicio de la matriz del esmalte En presencia de los ameloblastos y la B es la segunda etapa de mineralización.

CONSIDERACIONES CLÍNICAS

El conocimiento de la estructura del esmalte tiene importancia en la preparación de cavidades. La estructura del prisma depende de la localización de la unión amelodentinaria, donde los prismas van en una dirección más horizontal, si se dejan algunos prismas se romperían y producirían una grieta, alojándose las bacterias en éstos espacios e induciendo a la caries secundaria. Además, el esmalte no soportaría las fuerzas masticatorias cuando se ha rebasado la unión amelodentinaria y se ha quedado sin soporte dentinario. Si un proceso carioso llega a la dentina, destruye y se difunde a lo largo de la unión socavando el esmalte; por lo que una zona extensa de la dentina se vuelve cariosa sin dar ningún signo de alerta al sujeto, porque la entrada de la caries es pequeña.

También es importante mencionar que existen pruebas de solubilidad ácida del esmalte, obteniendo resultados positivos mediante tratamientos con diversos agentes químicos, sobre todo fluoruros, reduciendo en un 40% la solubilidad del esmalte (1).

UNIÓN ESMALTE-DENTINA

Ésta unión se establece a medida que los dos tejidos duros, el esmalte y la dentina (Fig. I.12), se forman, quedando en contacto físico y químico. Es una frontera, no recta, ya que en microscopía fotónica se ve como un perfil ondulante con pequeñas depresiones y proyecciones festoneadas; dada por la disposición de los ameloblastos y la membrana basal de la papila dentaria durante el desarrollo. La microscopía electrónica de barrido muestra como surcos que aumentan la superficie y probablemente también la adhesión entre esmalte-dentina.

Ese festoneado es provocado, ya que antes de que se verifique la formación del esmalte algunos odontoblastos recién formados, junto con sus prolongaciones empujan los ameloblastos adyacentes, los cuales cuando comienza la formación del esmalte quedan atrapados para formar los husos adamantinos.

Del lado del esmalte existen otras sustancias además del calcio y el fósforo, mismos que decrecen en la unión amelodentinaria. A diferencia del carbonato que aumenta en ésta zona, el magnesio en la unión dentinoesmáltica es tres veces mayor que en la capa de la superficie, al igual que el cloro. El flúor presenta una concentración alta en la superficie, dependiendo del agua consumida y aplicaciones de fluoruro regularmente (6).

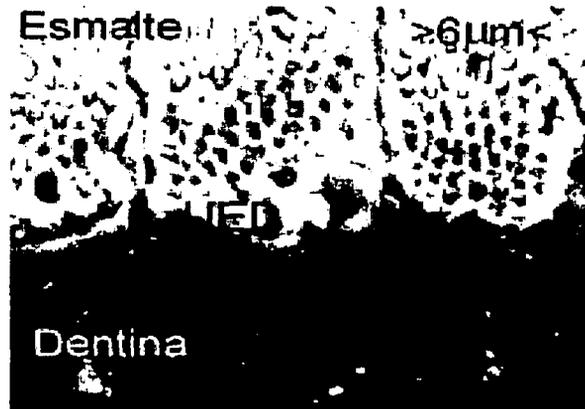


Figura I.12 Imagen de Microscopía Electrónica de Barrido, se observa en el extremo superior esmalte y en el inferior la dentina, ambos conforman la unión esmalte-dentina, atacada con ácido.

DENTINA

Características físicas. Constituye la mayor parte del diente, de color amarillo claro, puede soportar ligeras deformaciones. Es más dura que el hueso, pero considerablemente más blanda que el esmalte y más radiolúcida que éste. Por tener un contenido menor en sales minerales, necesita la protección del esmalte dental ya que sola no soportaría las fuerzas de masticación. Bajo la luz polarizada, la dentina muestra una birrefringencia ligeramente positiva. De hecho, las fibrillas de la matriz orgánica son ópticamente positivas y los cristales inorgánicos, son ópticamente negativos. La birrefringencia observada representa un efecto neto (2).

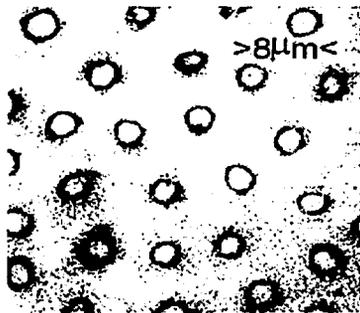
Propiedades Químicas. El 30% de la dentina está formada por material orgánico (fibrillas de colágena y una sustancia fundamental de mucopolisacáridos) y agua; el otro 70% está mineralizado por cristales de hidroxiapatita. Las sustancias orgánicas e inorgánicas, se pueden separar mediante descalcificación, donde las sustancias orgánicas pueden ser retenidas y conservar la estructura de la dentina.

Estructura. Las células principales son los odontoblastos, que están colocados en capa sobre la pulpa, y sus prolongaciones se incluyen en la matriz mineralizada, originando así las fibras de Tomes. Las prolongaciones odontoblásticas llegan a atravesar la dentina (10).

En cortes transversales se observa la dentina peritubular, aunque en realidad la masa principal de la dentina está formada por intertubular. Cuando la mineralización comienza en zonas globulares se le llama dentina interglobular. También se observan líneas de incremento y fibras de Tomes. Su estructura es variable con los cambios funcionales, con la presencia de injurias físicas, químicas y biológicas (dentina reparativa, esclerótica o irregular). Con la edad, se forma dentina denominada secundaria (6).

Los componentes estructurales principales son los siguientes:

- **TÚBULOS DENTINALES.** Su curso es algo curvo, semejando una "S". Comienzan a partir de la superficie pulpar hacia el vértice del diente, y en la raíz y las cúspides son casi rectos o con curvaturas pequeñas; están separados en las capas periféricas, siendo más anchos cerca de la cavidad pulpar, pero estrechos en extremidades externas. Varía la cantidad de éstos entre 30 000 y 75 000 por milímetro cuadrado (6,11) , ver la Fig. I.13.



A

B

Figura I.13 Imágenes de los Túbulos dentinarios

A. Microscopía fotónica B. Acercamiento de uno de ellos por MEB.

- **PROLONGACIONES ODONTOBLÁSTICAS.** Se conocen así a las extensiones citoplasmáticas de los odontoblastos que ocupan el espacio de los túbulos dentinales. Se dividen cerca de sus extremidades en varias ramas terminales (12). Pueden tener prolongaciones secundarias delgadas y pueden compararse con prolongaciones anastomóticas. Algunas de estas ramas terminales o prolongaciones odontoblásticas se extienden hasta el esmalte. Estas divisiones son el resultado de las extensiones celulares en la dentinogénesis conforme los odontoblastos se alejan de la unión dentinoesmáltica.

- **DENTINA PERITUBULAR.** Se observa mediante cortes transversales con luz transmitida; se pueden diferenciar de la zona anular transparente que rodea la prolongación odontoblástica del resto de la matriz que es más oscura. Ésta zona transparente forma la pared del túbulo dentinal denominada dentina peritubular y las regiones situadas fuera de ella es la dentina intertubular. La interfase entre estas dos se puede destacar mediante el microscopio electrónico, dándose un efecto óptico por la diferencia considerable en el grado de mineralización entre estas dos (8).
- **DENTINA INTERTUBULAR.** Aunque es muy mineralizada, más de la mitad de su volumen esta formada por matriz orgánica que son fibrillas colágenas envueltas en una sustancia amorfa. Su diámetro varía de 0.5 a 0.2 micrómetros y muestran estriaciones transversales; van en forma de haces y corren de modo entrelazado. Las porciones externas de la dentina, formadas primero tanto debajo del esmalte como del cemento, contiene cantidades variables de haces gruesos de fibrillas y se llama manto de dentina (fibras colágenas).
- **DENTINA INTERGLOBULAR.** Son zonas globulares pequeñas que se fusionan para formar dentina uniformemente calcificada. Los túbulos dentinales pasan sin interrupción a través de las zonas no calcificadas, se encuentran en la corona, cerca de la unión amelodentinaria y si fue el modelo de incremento del diente. En cortes por desgastes secos se pierde, dejando huecos.
- **LÍNEAS DE INCREMENTO.** Son líneas finas, que en cortes transversales corren en ángulos rectos (Fig. I.14). Corresponden a las líneas de Retzius en el esmalte, y de manera parecida refleja las variaciones en la estructura y mineralización durante la formación de la dentina, lo que indica el crecimiento de ésta, la distancia entre líneas varía desde 4 a 8 micrómetros.

Se puede observar una línea acentuada de contorno llamada línea neonatal que se da en el momento de adaptación del recién nacido, entre la dentina prenatal y postnatal (primeros molares permanentes y dientes deciduos).

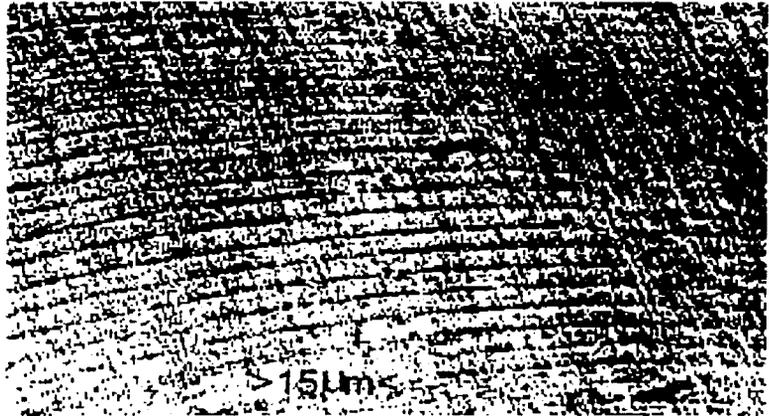


Figura I.14 Imagen de microscopía fotónica donde se observan las líneas incremento de la dentina.

- **CAPA GRANULAR DE TOMES.** Mediante desgaste se observa una capa delgada que parece granulosa, muy cerca del cemento; se cree que esta formada por zonas pequeñas de dentina interglobular.
- **COMPONENTE MINERAL.** Son cristales de apatita con longitudes promedio de 0.04 micrómetros; tienen efecto de cristalización alrededor y entre las fibrillas colágenas. En el interior y alrededor parecen estar orientados con sus ejes longitudinales paralelos a la dirección de la fibrilla (13).

DENTINOGENESIS

Aparece en una secuencia bifásica. La primera es la elaboración de la matriz orgánica, no calcificada llamada predentina. La segunda, de mineralización, no comienza si no hasta que sea depositada una banda bastante amplia de predentina; se hace la matriz completa y la anchura de esta se mantiene constante. La formación y calcificación de la dentina comienza en las puntas de las cúspides o en los bordes incisivos avanzando hacia adentro por la aposición rítmica de capas cónicas una dentro de la otra, hasta llegar a su fin en la dentina radicular (Fig. I.15) (3).



Figura I.15 Dentinogénesis

-Formación de Predentina. El primer signo es la aparición de haces de fibrillas entre los odontoblastos, muy cerca de la membrana basal. Tienen disposición divergente o de abanico, conocidas como fibras de Korff que constituyen la parte más importante de la matriz formada. Su diámetro es de 0.1 a 0.2 micrómetros, y el resto está formado por fibrillas colágenas más pequeñas.

-Mineralización. Después de que se han depositado varios micrómetros de predentina la mineralización de las capas más cercanas a la unión amelodentinaria comienzan en islotes pequeños, que se fusionan subsecuentemente y forman una capa continua calcificada. Con la formación de predentina la mineralización avanza ordinariamente hacia la pulpa, y en zonas globulares se fusiona y da la calcificación lineal.

El avance de la mineralización se acompaña de cambios en la sustancia fundamental de la matriz orgánica ya que se deposita un mucopolisacárido en las zonas peritubulares; el fenómeno sucede realmente en el interior de las matrices colágenas durante la mineralización. La secuencia de ésta inicia con el depósito de un cristal y se hace en forma de placas finas de hidroxiapatita. Los cristales se depositan en las fibrillas de modo ordenado con ejes longitudinales paralelos a los ejes de las fibrillas originando un patrón de estriación. Dentro de los islotes globulares de mineralización los depósitos de cristales se vuelven en centros comunes llamados esférula y es gradual en la región peritubular.

CAMBIOS FUNCIONALES CON LA EDAD

Hay un ciclo de vitalidad en la dentina, ya que el odontoblasto, el pericarion y las prolongaciones son parte integral de la dentina, con capacidad para reaccionar a diferentes estímulos fisiológicos y patológicos. Los efectos de la influencia de la edad, se expresan por depósito de capas nuevas de dentina (secundaria o fisiológica), o con una alteración de la dentina original (transparente o esclerótica), modificándose por la actividad de los odontoblastos. Se dice que maduran las sustancias químicas y surge un transporte intracelular dentro de las prolongaciones y se difunde a la matriz calcificada (8).

La dentina secundaria es la que se está formando durante toda la vida. En condiciones normales, tiene irregularidades en grado variable ya que no tiene un ritmo uniforme, principalmente en los túbulos, que son más ondulados y numerosos. Puede haber una línea café que separa la dentina formada previamente y la secundaria.

La dentina reparadora o irregular es la que se forma cuando las prolongaciones están expuestas a injurias físicas, químicas y biológicas como sucede cuando son cortadas, por procesos operatorios, formando una sustancia poco mineralizada en la zona lesionada; contiene pocos túbulos.

Por último, la dentina esclerótica o transparente es un cambio de la misma dentina por depósito de sales de calcio en o alrededor de las prolongaciones odontoblásticas, obliterándose los túbulos. Los índices de refracción de la dentina cambian y se vuelve transparente, por eso también se llama transparente (6).

CONSIDERACIONES CLINICAS

Debe evitarse el contacto de la dentina expuesta con la saliva y recordar que al descubrir un milímetro cuadrado de dentina se dejan libres treinta mil prolongaciones odontoblásticas y treinta mil células vivas se dañan. Esta superficie puede tratarse con drogas astringentes como el fenol o nitrato de plata para coagular el citoplasma de las prolongaciones odontoblásticas.

La penetración y difusión rápidas de la caries en la dentina se debe al elevado contenido de sustancias orgánicas en la matriz de ésta. El esmalte puede ser minado en la unión dentinoesmalítica cuando la caries este circunscrita a una zona pequeña, pero los túbulos dentinales forman una vía de paso para las bacterias (3).

La sensibilidad de la dentina varia en las diferentes capas y esto no es una señal para evitar la exposición de la pulpa, además de que las operaciones son menos dolorosas evitando calentamiento y presión mediante el uso de instrumentos fríos y afiliados para evitar dañar a las terminaciones nerviosas. La mayor sensibilidad de la dentina esta cerca de la unión amelodentinaria, ya que podría relacionarse con la ramificación de prolongaciones odontoblásticas en esta zona y la mayor zona de la superficie del citoplasma expuesto de cada célula.

CARACTERÍSTICAS Y CONSTITUCIÓN DE LA APATITA

Es importante mencionar éste tema ya que las apatitas son la familia de minerales a los que pertenece la hidroxiapatita, componente inorgánico de esmalte y dentina (Fig. I.16). Es una estructura iónica bastante dura, refractaria, con punto de fusión mayor de 1600°C. Su fórmula química es $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6$, con variables X, que pueden ser F u OH, resultando fluorapatita o hidroxiapatita respectivamente, con enlaces iónicos que se unen por fuerzas electrostáticas. La fluorapatita es menos soluble que la hidroxiapatita, a medida que el tamaño de las partículas disminuye aumenta el número de imperfecciones en la red cristalina. El depósito de cristales de hidroxiapatita se da en el hueco que proporciona la triple hélice de la colágena que es una macromolécula de tejidos conjuntivos (3).

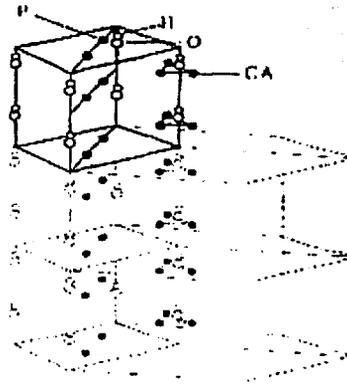


Figura I.16 Estructura hexagonal de la hidroxiapatita donde se muestran las posiciones del H, Ca, P y O.

El fosfato de calcio es el más importante ya que se encuentra en huesos y en dientes, además de ser catalizadores de reacciones orgánicas. Los iones de fosfato son los más grandes, el ión flúor es un poco menor que el hidroxilo; el calcio es el más pequeño. Los iones OH ó F y Ca dan al fosfato una disposición hexagonal (Fig. I.17).

Los cristales están formados por miles de celdas unitarias de hidroxiapatita y son paralelas al prisma del esmalte en la cabeza de éste o en ángulo de 40° en su base. Tienen forma de paralelepípedo y miden .02 a .04 micrómetros de ancho y .05 a 1 micrómetro de largo; le dan dureza al esmalte. Su densidad es de 2.3 (14).

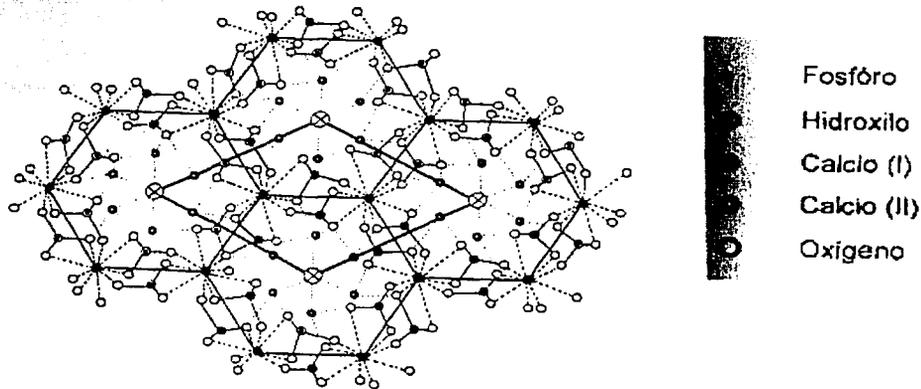


Figura I.17 Arreglo atómico en la celda unitaria de la hidroxiapatita vista a lo largo de su base hexagonal.

CONSIDERACIONES CLÍNICAS

El dentista no puede hacer nada directamente para alterar el curso de los acontecimientos durante la amelogénesis o dentinogénesis, pero es posible reducir el mínimo de ciertos factores que se suponen asociados a la estructura defectuosa del esmalte, como hipoplasia (se afecta la formación de la matriz), hipocalcificación (no hay maduración), arrugamiento, zonas opacas, etc. Éstas causas pueden ser sistémicas (defectos nutritivos, fiebres, intoxicaciones), locales (infección pulpar) o genéticas (transmitidas con carácter mendeliano dominante). Las influencias sistémicas son activas durante el primer año de edad, afectando en mayor número a centrales, caninos y primeros molares; algunas veces el lateral no es afectado porque se forma después de éstos.

CAPITULO II

TÉCNICAS DE MICROSCOPIA

El contacto más importante que tenemos con el mundo exterior se logra por medio del sentido de la vista, así surgió la óptica, una de las ramas más antiguas de la ciencia, donde los primeros fenómenos ópticos fueron estudiados mediante lentes y espejos. Al principio fue solo por mejorar la visión, posteriormente surgieron avances muy impresionantes. Los científicos a través de los años aportaron teorías, principios y conceptos, así como diseño de aparatos específicos para satisfacer las necesidades en técnicas de investigación, como el microscopio óptico o fotónico.

Sin embargo la evolución y calidad se volvieron más exigentes, por lo que nace la Microscopía Electrónica, con la invención del microscopio electrónico en 1932 ya que la lupa y el microscopio fotónico no eran capaces de proporcionar detalle en objetos pequeños. Esto que inicia por curiosidad para observar la naturaleza, actualmente se ha convertido en un conocimiento necesario para todos los científicos de las diferentes áreas de investigación física, médica y biológica.

Más que una técnica es una profesión, con bases teóricas, pero también requiriendo un alto nivel de destreza y habilidad práctica, tanto en la preparación de muestras como en la alineación del microscopio, además de una correcta interpretación de las imágenes obtenidas. Resolviendo diferentes problemáticas de la ciencia, gracias a la información que proporciona la microscopía electrónica mediante la investigación, es lo que forma el interesante mundo de la microscopía.

MICROSCOPIA FOTÓNICA.

El microscopio fotónico fue invento de un fabricante de anteojos, un holandés llamado Zacharias Janssen, de Middelburg, en 1590. El ojo humano es considerado un aparato óptico de gran complejidad, tiene una resolución de 0.1mm.; es decir, que los objetos separados por distancias menores a ésta, no los podemos distinguir con nuestra visión, entonces el microscopio fotónico es el instrumento ideal para conocer lo que existe más allá de una observación a simple vista.

El microscopio óptico, también llamado fotónico por trabajar mediante fuentes de luz o rayos luminosos, se basa en un sistema de lentes (Fig. II.1). Los que están cerca de la muestra son objetivos, forman una imagen real, invertida y aumentada de ésta. Los segundos lentes importantes son llamados oculares porque van en el ojo del observador, donde diverge cada punto de la imagen y emergen paralelos, al mismo tiempo que aumenta la imagen intermedia aún más (15).

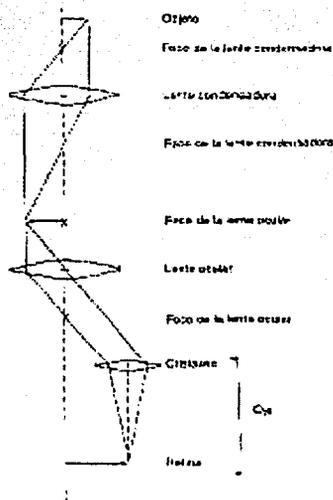


Figura II.1 Trayectoria que siguen los haces de luz a través de los elementos de un microscopio fotónico.

Definitivamente el microscopio fotónico es un instrumento que hasta la fecha sigue siendo de gran utilidad, tanto en educación básica, ya que la mayoría de los estudiantes han trabajado alguna vez con ellos. En estudios más complejos son parte fundamental del proceso de investigación; en 1878 Ernst Abbe dijo que el microscopio fotónico había alcanzado un límite de resolución, que no se podía aumentar aún al perfeccionar los lentes. Con esto se hizo notar la necesidad de una nueva forma de radiación con longitud más pequeña. Ahora sabemos que existe el microscopio electrónico, pero no ha quedado en desuso el microscopio fotónico, ya que es complemento interactivo de la microscopía electrónica.

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

El microscopio electrónico es un aparato con los mismos principios físicos que el microscopio fotónico, con la diferencia que el microscopio electrónico en lugar de utilizar fotones utiliza electrones. El cañón electrónico consiste en un filamento con forma de V, donde fluye una corriente termoeléctrica y por efecto de la emisión termoiónica se provoca un desprendimiento de electrones.

En lugar de sistemas de lentes de vidrio, los electrones son enfocados por medio de lentes electromagnéticas y bobinas. La forma y material del filamento va a determinar la resolución del microscopio, que se traduce como la capacidad que tiene de discernir la mínima distancia entre dos objetos que parecerían uno solo. Para la formación de imágenes, la columna del microscopio electrónico debe estar al alto vacío. En el caso de los filamentos de tungsteno (los más usuales), requieren por lo menos 10^{-7} Torr (1 Torr = 1mm. de Hg).

El cañón de electrones es la única lente electrostática, mientras todas las demás son lentes electromagnéticas, necesarias para la formación y amplificación de imágenes. La imagen producida por la lente objetiva sirve como objeto para la lente intermedia, la cual producirá una segunda imagen, que a su vez es amplificada por la lente proyectora siendo ésta la que nosotros observamos en la pantalla o en las fotografías. La imagen es formada cuando el haz de electrones interacciona con la muestra, produciendo diferentes tipos de señales como son: los electrones retrodispersados, los secundarios, absorbidos, Auger, transmitidos y rayos X (Fig. II.2).

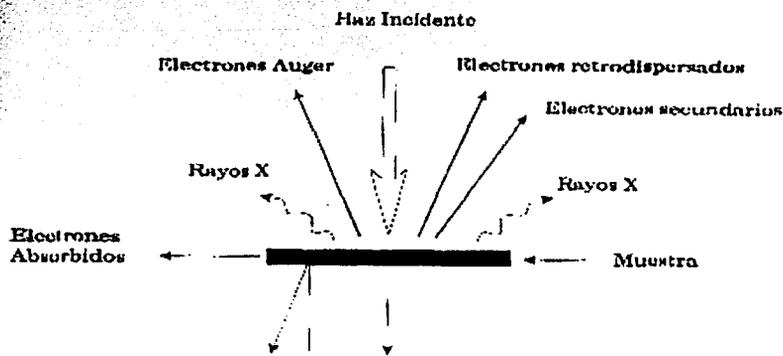


Figura II.2 Diagrama de las diferentes señales efectuadas por los electrones al interactuar con la muestra

Las amplificaciones en un microscopio fotónico son de dos mil aumentos, mientras que en el electrónico alcanza amplificaciones de un millón de aumentos. Esta diferencia es la que nos permite hacer la caracterización estructural y química del material observado mediante microscopía electrónica.

En microscopía electrónica el enfoque y amplificación se realizan al variar la corriente de las bobinas. En cambio, en microscopía fotónica las lentes tienen una distancia focal fija, por lo que el enfoque y amplificación se realiza al cambiar la posición del objetivo por medio del revolver.

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN.

El microscopio electrónico de transmisión surge al hacer posible las teorías del físico francés Louis Víctor de Broglie en 1924. Este microscopio es uno de los aparatos más importantes para la ciencia. Su fuente principal es un cañón de electrones o lente electrostática y un sistema de lentes electromagnéticas que son las lentes condensadoras, intermedias, lente objetiva y proyectora (Fig. II.3). Mediante éstas, los electrones siguen una trayectoria específica para la formación de imágenes, que es producida por la lente objetiva y sirve como objeto para la intermedia, produciendo una segunda imagen que es amplificada por la lente proyectora observando la imagen final en la pantalla o en las placas fotográficas.

En el microscopio de transmisión, durante la interacción del haz de electrones con la muestra, las señales que se producen nos van a dar diferentes tipos de información. En éste caso los electrones penetran la muestra. Unos de ellos son los electrones absorbidos que pueden detectar la resistividad de la muestra; los de Auger y los rayos X nos permiten hacer su análisis de la composición química. De los electrones que atraviesan la muestra algunos siguen su dirección incidente sin ser desviados, y son conocidos como transmitidos. Los que se desvían son llamados difractados. La lente objetiva es la que usa los haces transmitidos y difractados enfocando el plano-imagen para la formación de la primer imagen (Fig. II.3), dando información acerca de las características estructurales del material; pero si se enfoca el plano focal, se observan puntos luminosos, que no es otra cosa mas que el arreglo de estos haces se le conoce como patrón de difracción (Fig. II.3).

El patrón de difracción presenta en el centro un punto muy intenso, es el haz transmitido, y alrededor los haces difractados, con un arreglo geométrico que depende de la muestra. Mediante el análisis de éste patrón de difracción se estudia la estructura atómica del material.

Esto convierte al microscopio electrónico de transmisión en un instrumento muy importante en la investigación; incluso, si cuenta con los detectores necesarios para obtener todas las señales mencionadas, se le llama microscopio electrónico analítico.

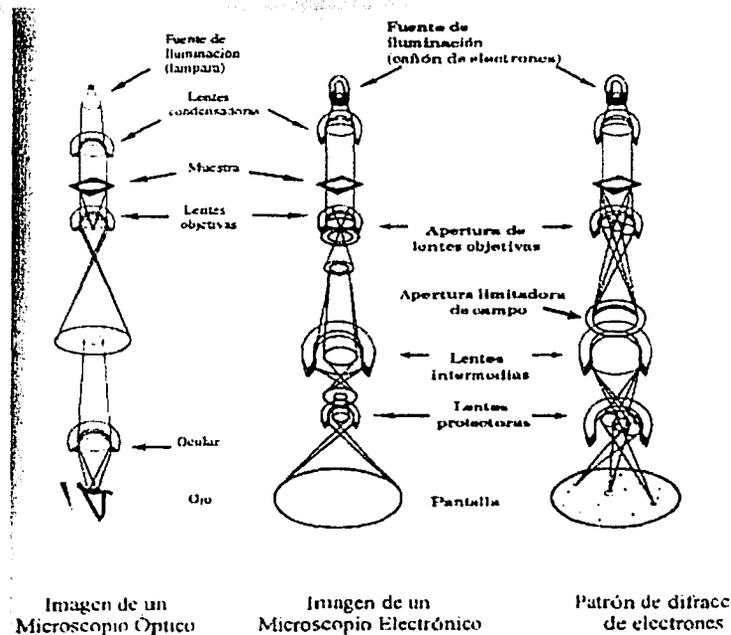


Figura II.3 Comparación entre la trayectoria que siguen los fotones y los electrones respectivamente en un microscopio fotónico y electrónico de transmisión, en los modos de operación de imagen y difracción.

El microscopio electrónico de transmisión presenta tres aperturas, con diferentes funciones cada una:

1. La apertura condensadora: se encuentra cerca del cañón electrónico. Selecciona un haz electrónico más homogéneo evitando el paso de electrones que se han desviado demasiado del eje óptico. Esto reduce la aberración cromática.

2. La apertura de contraste: está colocada después de la lente objetiva, permite el paso de un solo haz, el haz transmitido o un haz difractado o un conjunto de haces difractados. Si deja pasar únicamente el haz transmitido, estamos observando una imagen de campo claro, con un contraste por diferencia de intensidades debido a que los difractados han sido excluidos. En cambio, si la apertura deja pasar solo un haz difractado, es una imagen de campo oscuro. La intensidad que incide en la muestra es igual a la suma de intensidades de haces transmitidos y difractados, por lo que en un campo oscuro disminuye la intensidad y se tiene que aumentar el tiempo de exposición para la fotografía, requiriendo estabilidad, es decir, sin ninguna vibración

3. La apertura de área selecta: localizada en el plano-imagen de la lente objetiva, selecciona con precisión el área donde proviene el patrón de difracción.

Las imágenes obtenidas por microscopía electrónica, son la parte más importante de éste proceso, dependen en gran medida desde el momento de preparación de la muestra, el momento en el que se forma la imagen y la capacidad del material para emitir electrones, teniendo diferente contraste. Esta información es captada mediante fotografías bajo un sistema de vacío, para después convertirse en parte de la ciencia.



*Figura II.4 Imágenes de Microscopía Electrónica de Transmisión.
A). Campo Claro y B). Campo Oscuro de la misma zona*

Los diferentes tipos de técnicas, permite obtener información en cada una de ellas, al igual que una sola técnica puede tener diferentes variables, como es el caso de microscopía electrónica de transmisión, en la que se obtienen imágenes de campo claro, oscuro y patrones de difracción.

RAYOS X.

El microscopio electrónico equipado con un detector de rayos X, del tipo EDS permite hacer un microanálisis de la composición química de la muestra, mediante un registro gráfico, comprobando con los índices de Miller y las tablas cristalográficas, el elemento estructural del que está formado la muestra. Esas técnicas del EDS aplicadas a microscopía electrónica de transmisión, también se pueden aplicar a microscopía electrónica de barrido. Los rayos X son un tipo de radiación electromagnética, cuya región está entre 0.05 y 125 KeV, son otro tipo de señales emitidas al bombardeo de electrones. Todos los átomos están formados por partículas subatómicas: tienen un núcleo formado por protones y neutrones, mientras que alrededor de ese núcleo se mueven los electrones en diferentes niveles de energía. Los niveles de energía y el número de electrones en cada uno de ellos son:

Niveles

1. K = 2 electrones.
2. L = 8 electrones.
3. M = 18 electrones.
4. N = 32 electrones.
5. O = 50 electrones. ← no se ha alcanza éste valor y va en retroceso al 32
6. P = 72 electrones. ← 18 electrones
7. Q = 98 electrones. ← 2 electrones

Los átomos no emiten ni absorben energía, mientras los electrones estén en sus respectivas órbitas. Si saltan a un nivel mayor absorben energía, y si se van a niveles inferiores emiten energía. Las energías de los rayos X es el resultado de la transición de un electrón de un nivel hacia otro y de acuerdo a éste último será la clasificación de los rayos X. De esta manera, si el haz electrónico tiene la energía suficiente para excitar los electrones de otros niveles a la órbita K, el resultado son los rayos X "K". Los rayos X "L" resultan de la transición de electrones de otros niveles al nivel L y así sucesivamente.

Los rayos X en microscopía electrónica permiten realizar un análisis químico del material. Después de bombardear una muestra con electrones, teniendo colisiones múltiples que sufren los electrones de los átomos de la muestra mientras pierden energía, la distribución de los electrones puede ser que sea sacado de una capa interna por un electrón de alta energía del haz y puede que regrese a su estado base o a otro estado de baja energía, por dos caminos distintos: que un electrón de la capa superior ocupe un nivel inferior emitiendo un fotón o emitiendo otro electrón de la capa superior. Si se emite un fotón se produce un espectro característico de rayos X, registrando la distribución de electrones en una gráfica donde se van formando los picos; pero si los electrones son emitidos se conocen como electrones de Auger, ambos son efectos importantes de microanálisis.

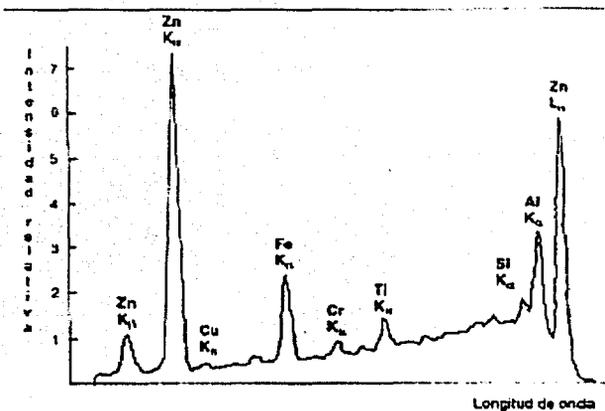


Figura II.5 Espectros de rayos X obtenidos por EDS.

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE ALTA RESOLUCIÓN

Su característica principal es la alta calidad de su lente objetiva, además de una lente auxiliar disminuyendo la aberración esférica y aumentando su poder de resolución hasta 0.17 nm., esto se traduce a resolución atómica, por eso se le llama de alta resolución; a diferencia del procedimiento para obtener imágenes de campo claro y campo oscuro, para obtener imágenes de alta resolución la apertura objetiva debe permitir además del paso del haz transmitido, un gran número de haces difractados, debido a que la imagen se forma por la interferencia de éstos, que entre más sean mayor será el contraste y habrá mayor confiabilidad para conocer las características del material.



Figura II.6 Imagen de alta resolución de los cristales del esmalte.

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

El microscopio electrónico de barrido fue construido por el físico alemán Manfred Von Ardenne en 1938 y distribuido en 1965, este instrumento fue diseñado para estudiar la superficie de los objetos al igual que el fotónico, con la diferencia que el de barrido posee una resolución y profundidad de foco mayores debido a la interacción de los electrones con los sólidos permitiendo obtener información más específica como la orientación cristalina.

La calidad depende de la profundidad del foco, que es la distancia a lo largo del eje óptico del microscopio, en la cual la muestra puede ser movida sin que la imagen sea borrosa, definitivamente esto depende del instrumento, otro factor de calidad es lo que se conoce como ruido de la imagen donde influye un poco la muestra y finalmente la resolución, a diferencia del fotónico da una impresión más real de tridimensionalidad, siendo muy útil para estudiar características morfológicas y topográficas de la muestra, pudiendo también adaptarse a las técnicas analíticas de rayos X.

Su manejo es relativamente sencillo, pudiendo alcanzar aumentos poco inferiores a los que se logran en transmisión, mientras que la resolución depende del tamaño del haz de electrones empleado para barrer la muestra mediante un bombardeo de electrones secundarios y retrodispersados, formando una imagen punto a punto de ella, la cantidad de electrones detectada corresponde a la intensidad del punto en la pantalla, proyectando un mapa de la superficie de la muestra; aunque el haz electrónico experimenta varias colisiones dentro del material antes de perder completamente su energía, como es el caso de los electrones retrodispersados, que provienen de regiones a 0.5 micrómetros por debajo de la superficie y los secundarios que aunque solo penetran de 5 a 10 nm. Logran una mayor resolución.

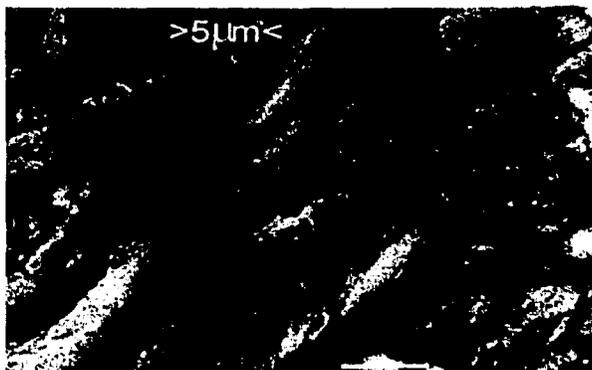


Figura 11.7 Imagen de Microscopía Electrónica de Barrido (Prismas del esmalte cercanos a la UED)

En el transcurso de la investigación, fue necesario hacer estudios mediante ésta técnica de microscopía, la cual es un método que ofrece muchas ventajas como son:

- Mapeo del relieve estructural de la muestra.
- La brillantez y contraste de la imagen, no disminuye con la amplificación.
- Las fotografías tomadas de la muestra son en forma externa al sistema de vacío del microscopio, teniendo previamente y de forma inmediata una impresión térmica de lo que será la foto, permitiéndonos decidir si es una buena imagen y tomar la foto o buscar zonas con mayor información sin haber realizado la exposición de la película fotográfica.

CAPÍTULO III

INTERPRETACIÓN DE LAS IMÁGENES DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN

El proceso de investigación mediante microscopía electrónica, es en ocasiones demorado debido al método de preparación de muestras. Pero una vez terminada ésta etapa, inicia otra que consiste en obtener imágenes de la muestra mediante un sistema fotográfico, lo que implica un manejo adecuado de la técnica para recuperar toda la información que había en el momento de ser observada al microscopio y que debe quedar impresa en las fotografías.

Las imágenes obtenidas de microscopía electrónica de barrido nos dan una ampliación de la superficie de la muestra, con diferentes contrastes que nos ayudan a la identificación de la zona sin requerir de otros métodos de estudio. Sin embargo, las imágenes de microscopía electrónica de transmisión requieren de otros parámetros para hacer un estudio analítico, proporcionando mayor información acerca de su estructura y composición química.

Al decir que la imágenes de microscopía electrónica de transmisión requieren de sistemas de análisis fisicoquímicos ya establecidos, me refiero principalmente a los patrones de difracción y a la difracción de rayos X que resultaron de los elementos a estudiar: para interpretar cualquier imagen de microscopía electrónica directamente de la micro estructura correspondiente de la muestra, debemos tener conocimiento acerca de estas teorías complementarias para interpretarlas.

DIFRACCIÓN DE ELECTRONES

Los patrones de difracción obtenidos de la muestra son de gran utilidad para identificar el arreglo cristalino que presenta el material. El haz de electrones incide sobre ésta, proyectando un punto central intenso y difractando de forma variable debido a la cristalinidad del elemento. Puede difractar en forma de puntos o de anillos: el arreglo de puntos luminosos (Fig. III.1) son típicos de monocristales, si el haz electrónico es ancho o la muestra esta formada por varios cristales pequeños orientados aleatoriamente, se considera una muestra policristalina y el patrón de difracción estará formado por anillos concéntricos, cuyos diámetros corresponden al espaciado existente entre los planos atómicos del cristal (Fig. III.2).

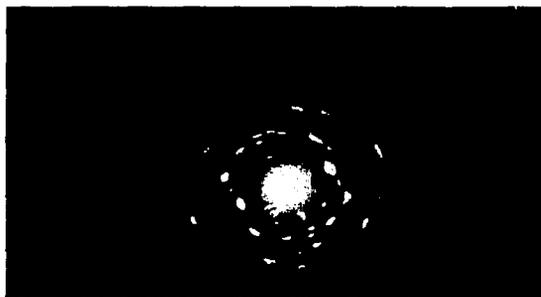


Figura III.1 Patrón de difracción de una muestra de esmalte formado por puntos, típico de monocristales.



Figura III.2 Patrón de difracción de dentina formado por anillos ya que es una muestra policristalina.

Del patrón de difracción podemos obtener básicamente dos tipos de información:

- a) El arreglo espacial definido en función de la simetría que presenta el patrón, de los valores de las distancias que existan entre los puntos de difracción y el punto central, y de los ángulos que se forman entre las líneas que van del centro a cada uno de los puntos.
- b) También la cristalografía, a partir de un conjunto de patrones de difracción obtenido en diferentes orientaciones de la muestra y las intensidades de los puntos de estos. Al hacer una comparación entre las intensidades de los diferentes puntos difractados y los patrones de difracción podemos obtener el tipo de celda unitaria que presenta el cristal en estudio.

SISTEMAS CRISTALINOS

Para determinar la red cristalina o arreglo estructural de la muestra que se está estudiando, se realiza el análisis del patrón de difracción junto con los sistemas cristalinos, mediante el cual se obtiene información acerca de estos últimos en el caso de la muestra de interés. Los átomos se arreglan en un patrón tridimensional ordenado y repetitivo para formar los cristales. Este patrón ordenado se repite a lo largo de muchas distancias atómicas. Esto se debe a la coordinación que existe dentro del material; es decir, a nivel atómico, ese patrón puede controlar la forma externa del cristal. En el momento que los átomos y moléculas se coordinan con el exterior para formar un sólido originan arreglos específicos, a los cuales se les llama sistemas cristalinos.

Existen siete sistemas cristalinos que se diferencian entre sí de acuerdo a las características y longitudes de sus ejes (X, Y, Z) en cada una de las tres dimensiones. Los sistemas son:

- ✓ Cúbico: todos los ángulos son de 90° .
- ✓ Tetragonal: todos los ángulos son de 90° .
- ✓ Ortorrómbico: todos los ángulos son de 90° .
- ✓ Monoclínico: 2 ángulos de 90° .
- ✓ Triclínico: todos los ángulos diferentes y ninguno igual a 90° .
- ✓ Hexagonal: ángulos de 90° y 120° .
- ✓ Romboédrico: todos los ángulos iguales, pero no de 90° .

En tres dimensiones hay 14 redes o retículos espaciales que se conocen como REDES DE BRAVAIS (Fig. III.3). Estas son arreglos de puntos equivalentes; es decir, cada punto en una red tridimensional infinita tiene el mismo número de puntos vecinos, en las mismas direcciones y a las mismas distancias.

Cada una de las redes de Bravais es única y produce patrones de difracción completamente distintivos del sistema. Por lo tanto, si se realiza un estudio completo de patrones de difracción electrónica, se puede obtener el sistema cristalino del que se trata y de ahí sus propiedades y características físicas, químicas y ópticas de la muestra bajo estudio.

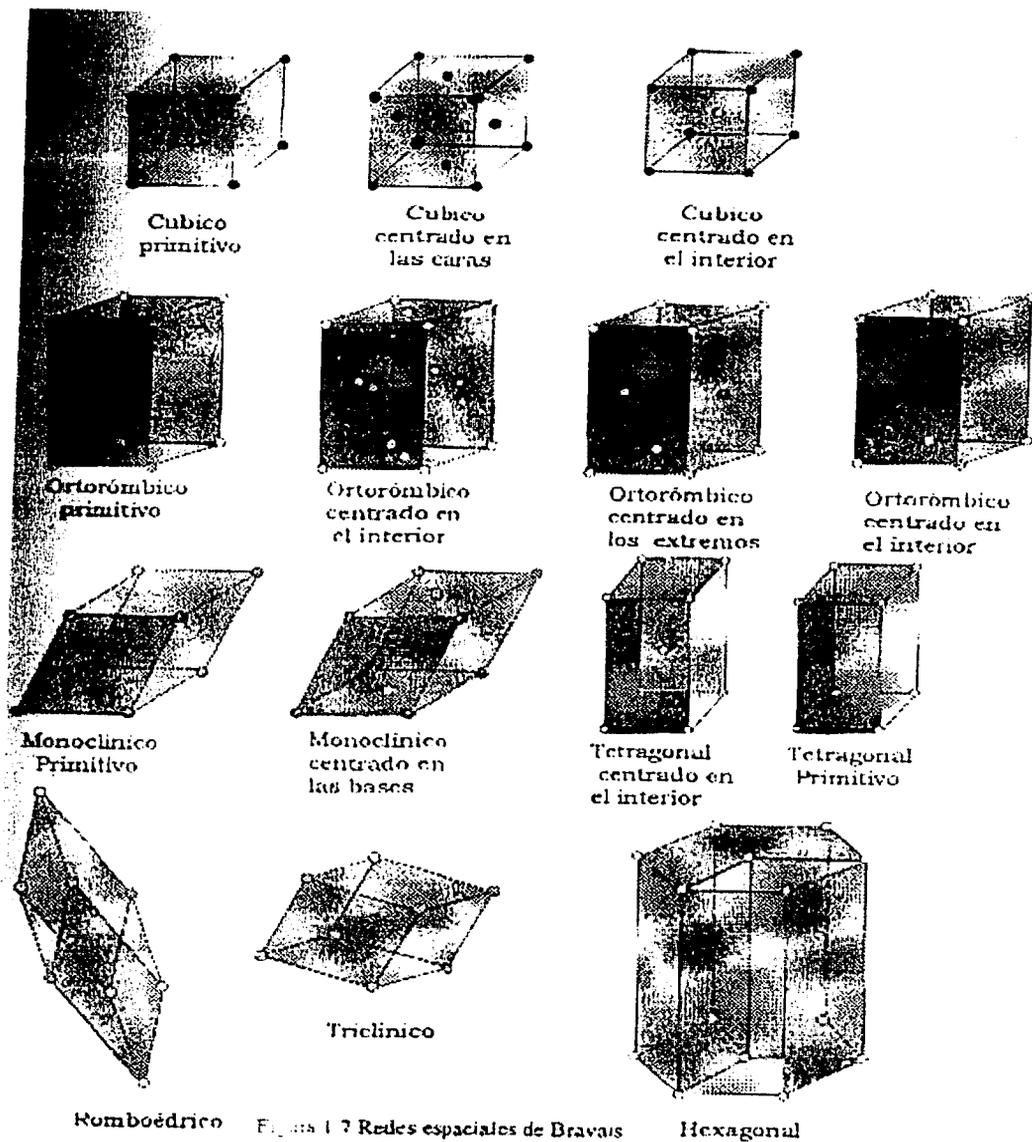


Figura III.3 Las 14 redes de Bravais en 3D, donde se observa el arreglo u ordenamiento atómico de los sólidos.

INDEXACIÓN DE PATRONES DE DIFRACCIÓN.

Éste es uno de los métodos de análisis del patrón de difracción. Se realiza mediante la fórmula fundamental de indexación:

$$\lambda L = R d$$

Donde “ λ ” es la longitud de onda de los electrones, equivale a 0.37 Å, para los 100 KV, “L” es la longitud de cámara y en el caso del microscopio donde se realizó la investigación corresponde a 76 cm., “R” es la distancia del punto central del patrón de difracción hacia los demás puntos y “d” es la distancia interplanar que necesitamos conocer. Por consiguiente se modifica la fórmula de la siguiente manera:

$$d = \frac{\lambda L}{R}$$

De esta manera obtenemos, de cada “R” que medimos previamente en el patrón de difracción, una distancia interplanar “d”, que después se van a comparar con las tablas cristalográficas de hidroxiapatita, para comprobar que corresponden al elemento, y verificar los índices de Miller: h, k, l, que nos dará una orientación del arreglo cristalino del material.

INDICES DE MILLER

Para el estudio de los cristales se requiere la utilización de símbolos convencionales para describir la orientación de estos en el espacio, además para poder identificar en un cristal los planos y direcciones cristalográficas. Los índices de Miller no son más que números enteros simples, con direcciones que se denotan por uvw y por hkl para los planos de un sistema de coordenadas fijo. Estos se encuentran enlistados en las “Tablas Cristalográficas de Rayos X” para cada uno de los elementos y compuestos conocidos. En la figura III.3 se representan gráficamente los índices de Miller para el sistema cúbico, tanto para planos como para direcciones. En la figura III.4 se muestra el caso de la hidroxiapatita específicamente.

Wavelength= 1.64050									
d(A)	Int	h	k	l	d(A)	Int	h	k	l
8.166	26	1	0	0	1.8412	26	2	1	3
5.263	7	1	0	1	1.8081	15	3	2	1
4.716	4	1	1	0	1.7825	10	4	1	0
4.064	6	2	0	0	1.7561	11	4	0	2
3.890	10	1	1	1	1.7561	11	3	0	3
3.512	3	2	0	1	1.7202	12	0	0	4
3.440	42	0	0	2	1.6457	5	3	2	2
3.171	9	1	0	2	1.6118	3	3	1	3
3.087	14	2	1	0	1.5437	3	2	4	0
2.817	100	2	1	1	1.5325	3	3	3	1
- 2.779	43	1	1	2	1.5062	3	2	4	1
2.723	55	3	0	0	1.5027	4	1	2	4
2.631	24	2	0	2	1.4757	6	5	0	2
2.532	4	3	0	1	1.4671	2	5	1	0
2.290	5	2	1	2	1.4543	6	3	0	4
2.285	20	1	3	0	1.4512	7	3	2	3
2.231	2	2	2	1	1.4348	6	5	1	1
2.162	5	1	3	1	1.4298	4	3	3	2
2.063	4	1	1	3	1.4074	2	4	1	3
- 1.9909	3	2	0	3	1.3495	2	5	1	2
- 1.9450	24	2	2	2	1.3180	3	4	3	1
1.8921	12	1	3	2	1.3158	2	4	0	4
1.8739	4	2	3	0	1.3080	2	5	2	0

Figura III.4 Fracción de la tabla cristalográfica de hidroxiapatita donde se muestran los índices de Miller "hkl" y sus correspondientes distancias "d".

Para calcular los índices de Miller de una dirección X que se sigue, los pasos son los siguientes:

- Trazar un vector desde el origen del sistema de coordenadas paralelo a la dirección, cuyos índices se desean conocer; es decir, del punto más luminoso del patrón de difracción hacia los menos intensos.

INTERPRETACIÓN DEL ESPECTRO DE RAYOS X

Este método de análisis se hace mediante cálculos matemáticos tomando en cuenta una ecuación importante, llamada ley de Bragg. La Ley de Bragg nos da la condición para que exista interferencia constructiva de la radiación incidente después que ha interactuado con la muestra, la figura III.6 es un ejemplo del espectro de rayos X. Su interpretación se obtiene al medir los picos más altos del espectro, y aplicar la ley de Bragg, de esta manera se obtienen los índices de Miller de la muestra correspondiente.

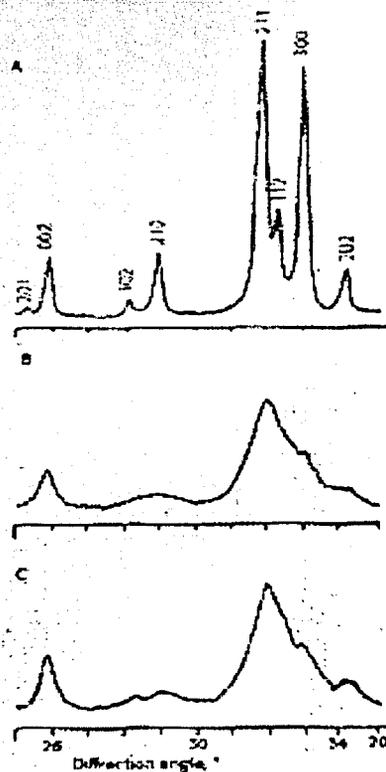


Figura III.6 Espectro de rayos X.

LEY DE BRAGG

La Ley de Bragg se representa mediante la fórmula:

$$2d \sin \theta = n \lambda$$

Donde "d" es la distancia entre los planos de la red en la dirección de incidencia y theta (θ) es el ángulo entre el haz incidente y la superficie del cristal. Esta ecuación nos indicará la interferencia constructiva de los rayos cuando la diferencia de caminos ópticos de la radiación dispersa por planos sucesivos es un múltiplo entero (n) de la longitud de onda.

Esto es el rayo que recorre la distancia mayor y por lo tanto la diferencia de distancias recorridas es $2d \sin \theta$. La reflexión de Bragg solo ocurre para longitudes de onda tales que " λ " sea menor que $2d$. En los sólidos cristalinos "d" es del orden de ángstroms, por lo que la luz visible no presenta difracción en éstos. Se puede comparar el resultado de la "d" del patrón de difracción y la "d" de rayos X, las cuales tendrán valores iguales cuando pertenecen al mismo elemento cristalográfico.

CAPÍTULO IV

DESARROLLO EXPERIMENTAL

En éste capítulo describiré el proceso que se llevó a cabo para la preparación de muestras, así como del equipo requerido para las técnicas, dependiendo si hablamos de microscopía fotónica, microscopía electrónica de barrido o microscopía electrónica de transmisión. Todos los aparatos y equipos aquí descritos se encuentran en el Instituto de Física de la UNAM. El llevar a cabo la metodología adecuada y usar los equipos correctamente permitieron la realización de éste estudio sobre de la UNIÓN DENTINA-ESMALTE (Fig. IV.1).

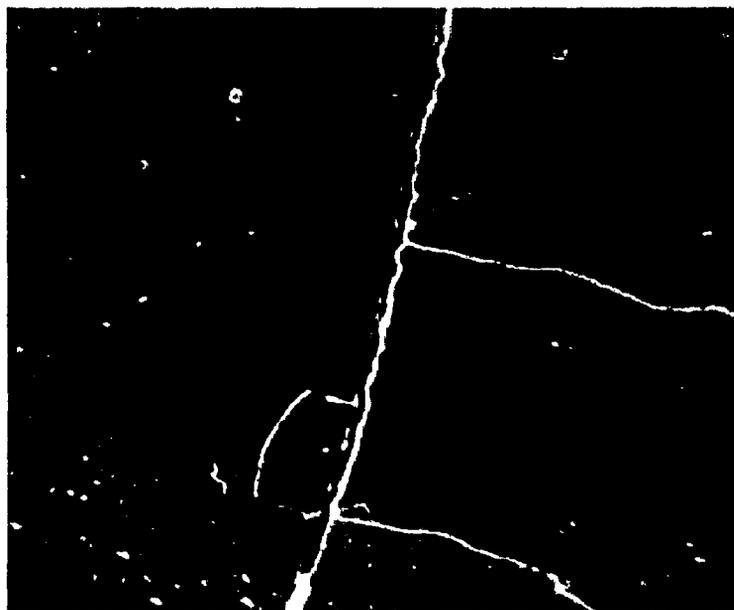


Figura IV.1 Imagen por microscopía fotónica 100 X de la unión esmalte-dentina después de pulir la muestra a espejo. Nótese la ausencia de contraste en el esmalte y la dentina.

METODOLOGÍA DE PREPARACIÓN DE MUESTRAS.

Para la preparación de las muestras para microscopía óptica, electrónica de barrido y transmisión, los primeros pasos son los mismos, sin embargo existen diferencias en las técnicas para obtener resultados precisos, lo que se realiza en común para todas es lo siguiente:

I. RECOLECCIÓN DE DIENTES HUMANOS. Las muestras se obtuvieron principalmente de terceros molares, recién extraídos en la clínica de exodoncia de la Facultad de Odontología, o si era el caso de que estuvieran sin erupcionar, mediante cirugías realizadas en la Clínica Periférica Xochimilco. Se mantuvieron en suero para evitar su deshidratación después de haber lavado el diente eliminando el ligamento que pudo haber tenido. Las limitantes fueron: sin caries, obturaciones, ó fracturas.

II. CORTE DE LA MUESTRA. El corte se realiza en una cortadora "Jean Wirtz", la cual tiene sistema de lubricación y enfriamiento, cuenta con un tornillo micrométrico al que se le llama microtomo y que permite obtener cortes exactos de 2 a 3 mm de espesor y un tamaño de 3mm por 3mm, dejando la unión esmalte-dentina en el centro. El corte propiamente lo realiza un disco de diamante que se coloca dentro de la cortadora; éste disco es el que nos va a garantizar un corte fino de la muestra.

III. PEGAR EL CORTE EN UN PORTAMUESTRAS. Los portamuestras son cilindros de aluminio. Estos se colocan en una plancha térmica "Thermolyne" tipo 1900, que alcanza una temperatura hasta de 300°C. Una vez que están lo suficientemente caliente se le pone en la parte superior una pequeña porción de resina que al diluirse permite que se adhiera el bloque de 3mm por 3mm obtenido del corte que se hizo previamente.

IV. PULIDO DE LA MUESTRA. Una vez adherida la muestra pegada en el portamuestras, se colocó en una pulidora orbital "Buehler", modelo Minimer. Esta es una máquina que pule y rebaja los cortes obtenidos del microtomo. El portamuestras está en contacto con unas bases de vidrio donde se colocan las lijas, que desgastan mediante movimientos circulares; puede tener o no presión y se agrega agua destilada con algunas gotas de "dialub" que es una solución de pasta de diamante. Las lijas se van cambiando de grosor conforme se avanza en el pulido, ya que se inicia con una del 320 para desgastar y se continúa con las de 600, 1200 hasta que tenga 100 micras de grosor y finalmente la lija 4000 que es la más fina. Al último se coloca un paño para obtener un aspecto de espejo en la muestra con el objetivo de que la superficie de la muestra no esté rayada.

Para los siguientes pasos se tiene que definir con qué tipo de técnica se quiere analizar la muestra y a preparar, por las variables que presentan las diferentes técnicas que se han utilizado en este trabajo de tesis.

PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA MICROSCOPIA FOTÓNICA.

Ya que la muestra paso por los pasos anteriores, puede observarse a través del microscopio fotónico; es decir, no requiere una preparación complicada. Este es el tipo de microscopía de gran utilidad en nuestros días. Las observaciones en microscopía fotónica fueron realizadas en el Microscopio Óptico "Zeiss", modelo Axiotech, de luz transmitida y reflejada, permitiendo imagen en campo oscuro, campo claro y contraste de fases con objetivos de 5, 10, 20, 50 y 100 x. Cuenta además con sistema fotográfico y video integrados. Gracias al sistema fotográfico se pueden dar a conocer las observaciones que se hacen en ese momento (Fig. IV.2). También se utilizó el Microscopio Invertido "Zeiss" modelo Axiovert 25, con luz polarizada y objetivos de 10, 20, 50 y 100 x, con sistema fotográfico integrado.

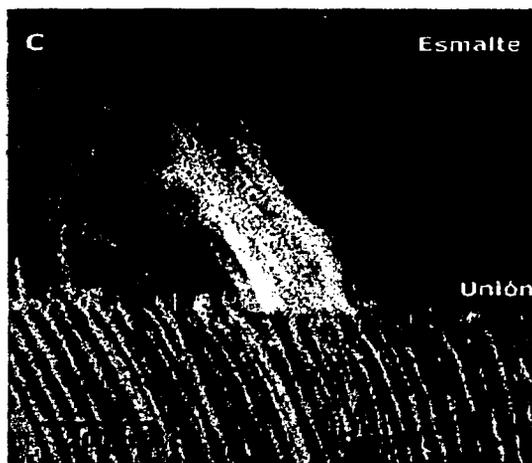


Figura IV.2. Imagen con luz transmitida de la Unión esmalte-dentina mediante microscopía fotónica. Nótese la diferencia que presenta con la figura IV.1.

PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB).

La preparación de muestras para el MEB es el siguiente:

I. PEGAR LA MUESTRA EN UN PORTAMUESTRAS PARA MEB. Una vez pulidas las muestras se pasan del portamuestras de la pulidora a un portamuestras de cobre con forma de barril o cilíndrica, especial para el microscopio de barrido y se pega la muestra con pintura plata.

II. ATAQUE DE LA MUESTRA CON ÁCIDO FOSFÓRICO. Se realiza un ataque con ácido fosfórico por 30 segundos, después de los cuales se lava la muestra para que no queden restos del ácido. Esto se realiza para ver y revelar las estructuras con mayor nitidez y definición. Sin embargo, en las muestras donde había que observar el material orgánico, se omitía éste paso, para que el ataque no elimine la información.

III: RECUBRIMIENTO DE CARBÓN. La muestra se deshidrata en una cámara de vacío "sputter", la cual evapora el agua que pueda presentar la muestra al formar el vacío. Se coloca un filamento de carbón en los electrodos y al alcanzar el vacío deseado se le pasa corriente. Esto aumenta la temperatura del filamento y desprende el carbón que se evapora recubriendo la muestra. Esta capa hace conductor al material que se va a estudiar y permite el paso de electrones evitando dañar la muestra por radiación electrónica durante la observación mediante el microscopio electrónico de barrido (Fig. IV.3).

IV. OBSERVACIÓN DE LA MUESTRA EN EL MEB. La observación de la muestra que se preparó, se realizó con el Microscopio Electrónico de Barrido, Jeol 5200 con resolución de 100 angstroms.

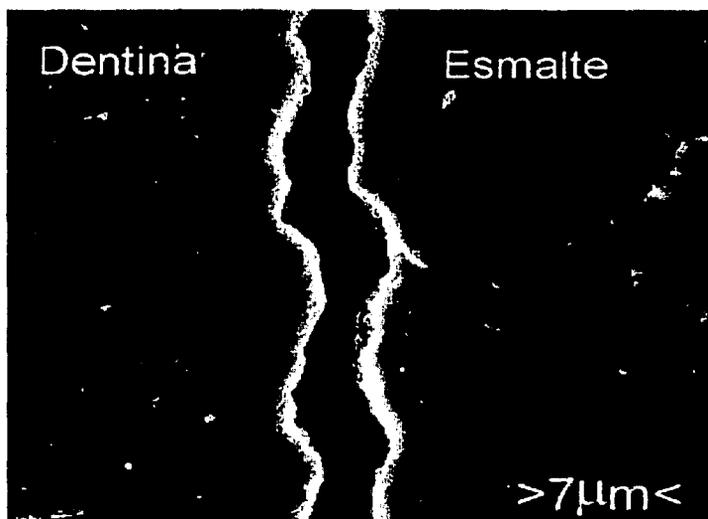


Figura IV.3 Imagen de la Unión esmalte-dentina mediante microscopía electrónica de barrido (MEB).

PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN (MET).

El proceso de preparación de muestras para observarlas por MET es el siguiente:

I. DESGASTAR LA MUESTRA EN UN PULIDOR MECÁNICO DE PRECISIÓN (DIMPLER). Para llevar a cabo éste desgaste, se tiene que despegar la muestra del portamuestras de la pulidora y pasarlo al portamuestras del dimpler, de tal forma que la unión esmalte-dentina quede en el centro. A este aparato se le coloca una rondana de 12 mm., la cual hace contacto con la muestra después de calibrarla se acciona y la va desgastando, formando una concavidad porque dá vueltas la rondana, al mismo tiempo que el portamuestras gira sobre su propio eje. Se agrega pasta de diamante muy fino de 3 nm. aproximadamente, y se desgasta la muestra hasta que tenga únicamente 10 micras de grosor. Este proceso es uno de los más delicados ya que la muestra es demasiado frágil, durante el desgaste se hacen revisiones periódicas para verificar que el desgaste sea homogéneo, centrado y circular además de evitar que la muestra se perfora. Como las dimensiones son muy pequeñas, éstas revisiones se hacen mediante el microscopio óptico. Al final se pule con líquido de sílica hasta punto espejo en el mismo dimpler.

II. COLOCAR LA MUESTRA EN UN ANILLO DE COBRE. La muestra debe colocarse en un anillo de cobre de 3mm para que pueda entrar al microscopio electrónico de transmisión. El objetivo de poder manipularla o manejarla de una forma más segura en los siguientes pasos de este proceso.

III. ATAQUE IÓNICO DE LA MUESTRA: se despega la muestra del portamuestras del dimpler y se coloca en otro portamuestras, pero ahora del "ión mill". Este es un erosionador iónico modelo 600 "Gatan" de doble cañón con sistema de enfriamiento a base de nitrógeno líquido.

EL "ion mill" es un aparato constituido por una cámara de vacío, y el propósito es adelgazar la muestra por la incidencia de los iones de argón generados por los cañones hacia el centro de la muestra. La muestra está sujeta entre dos bloques circulares dejando sólo la parte más delgada en el centro y donde será atacada; a éstos iones de argón se les da una angulación para que erosionen el material de tal manera que el adelgazamiento sea alrededor de un área grande y no sólo lo perforen, porque lo que se necesita para que poder ser observadas en MET es zonas lo más delgadas posible. También se requieren constantes revisiones, mediante el microscopio fotónico estereoscópico.

IV. RECUBRIMIENTO CON CARBÓN: se hace el mismo recubrimiento con carbón que se hace para las muestras de microscopía electrónica de barrido, en el mismo aparato. Después de esto, la muestra se observa fácilmente por MET (Fig. IV.4).



Figura IV.4 A. Imagen por MET de campo claro y B. Campo Oscuro de la misma zona de la unión esmalte-dentina.

Es importante mencionar que al momento de preparar la muestra para estudiar la unión esmalte-dentina, cuando ya estaba muy delgada, la dentina y el esmalte se separaban, lo que impedía continuar con el objetivo de este estudio, por lo que hubieron pequeñas variables al momento de desgastarla: después de obtener el bloque de 2mm por 2mm se puso dentro de un tubo de cobre, recubierta por pegamento tipo cola-loka.

De esta forma al momento de desgastar la muestra, se desgasta el tubo de cobre y el pegamento, impidiendo la separación de las estructuras, además de servir como rejilla portamuestras, sin necesidad de pasarla a otra. De ésta manera se pudo llevar a cabo el estudio estructural de la muestra, observando en el Microscopio Electrónico Analítico de Transmisión, Jeol 100 CX, que se encuentra en el Instituto de Física dentro del Departamento de Materia Condensada.

PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA ESPECTROSCOPIA DE DISPERSIÓN DE ENERGÍA DE LOS RAYOS X CARACTERÍSTICOS

A los terceros molares recolectados, se les hicieron cortes en forma de rebanadas, después cada una se separó mecánicamente el esmalte de la dentina y viceversa, quedando así fragmentos de ambos materiales, pero separados. Se pulverizaron éstos fragmentos en un mortero hasta tener polvo. Se pasó el polvo a través de un tamiz muy fino, para que pudiera obtenerse la información química, que era uno de los objetivos de la investigación. El tamiz utilizado fue de 200 mesh.

PROCESO FOTOGRAFICO

Cada una de las técnicas de microscopía cuenta con un sistema fotográfico, de esta forma se da a conocer la investigación. Para procesar la película fotográfica expuesta se requieren los conocimientos precisos, implicando exactitud y calidad en la técnica para obtener lo mismo que observamos en la pantalla del microscopio; con esto me refiero a las actividades que se involucran desde el revelado del negativo, impresión y ampliación de la foto.

Para que esto fuera posible, se hizo uso del cuarto oscuro del Instituto de Física donde existe equipo fotográfico, especializado como: tanques o tinas de revelado, las soluciones de revelador, fijador, fotoflu, ampliadora fotográfica con filtros, lentes condensoras, dispersoras, papel fotográfico, guillotina, pinzas para fotografía, racks porta películas, etc. De esta forma se obtienen las fotografías de la muestra que se está estudiando.

NOTA. De igual forma cuenta con técnicos capacitados en preparación de muestras que supervisan el funcionamiento de cada uno de los equipos y conocen las técnicas fotográficas adecuadas para un trabajo detallado y de carácter científico.

CAPÍTULO V

RESULTADOS

En éste capítulo daré a conocer los resultados del análisis de la UNIÓN ESMALTE-DENTINA, que fueron obtenidos con microscopia óptica, con rayos X, con microscopia electrónica de barrido y microscopia electrónica de transmisión. Los resultados que se presentan son de gran interés y nos permite conocer ésta unión a niveles más específicos tomando en cuenta que tenemos dos materiales de distintas características se unen a través de la unión amelodentinaria para formar un material que presenta ciertas características mecánicas y físicas del diente.

De un lado tenemos al esmalte dental, que es uno de los materiales más duros en el cuerpo humano, y del otro lado tenemos a la dentina, que en relación a dureza es menos duro. Esto es lo que forma la unión amelodentinaria, la unión que estudié a partir del proceso ya descrito en la sección de procedimiento experimental y analizado de manera simultánea por las diferentes técnicas anteriormente descritas.

MICROSCOPIA FOTÓNICA

El esmalte dental y la dentina son fácilmente reconocidos en una imagen de microscopia fotónica por las características que presentan. Esto se muestra en la fotografía V.1, en la cual vemos la unión amelodentinaria con dos tipos diferentes de iluminación en el microscopio fotónico, la luz transmitida y la luz reflejada.



Figura V.1 Unión esmalte-dentina observada por microscopía fotónica
A. Luz reflejada. B. Luz transmitida.

En la primera figura se observa la imagen obtenida del microscopio fotónico de la unión esmalte-dentina por método de luz reflejada. Es decir, estamos viendo la superficie de la muestra, las características del esmalte donde se notan los penachos y una zona indefinida de la unión amelodentinaria sin contraste característico, donde se observa únicamente como una banda que divide el esmalte de la dentina.

Por su parte, la dentina se caracteriza en ésta técnica por presentar una superficie que parece rayada, pero que son en realidad los túbulos dentinarios, éstos corren en posición perpendicular a la unión esmalte-dentina.

En la figura V.1B tenemos la misma imagen, pero ahora en lugar de utilizar luz reflejada se usó luz transmitida. Es decir, la luz pasa a través de la muestra. Esto nos permite observar las características de los penachos que se encuentran en el esmalte dental y que corren a partir de la unión amelodentinaria hacia el interior del esmalte y también vemos los conductos dentinarios con diferente contraste a la imagen anterior. Una cosa importante de destacar es que el área de la unión amelodentinaria, en la figura A se ve irregular o indefinida con respecto a los túbulos dentinarios, pero en la figura B se observa claramente como los túbulos dentinarios sí llegan hasta la unión con el esmalte.

Aunque a ésta resolución es difícil decir como se conforma ésta unión y lo que sucede estructuralmente en la unión amelodentinaria, nos permite ver como los túbulos dentinarios sí llegan hasta esa zona, estando en contacto con el esmalte. La forma de la unión amelodentinaria no es recta, no es una frontera completamente plana, sino que sigue una trayectoria irregular. Después de observar éstas imágenes surge el interés de estudiar con mayor detalle la unión esmalte-dentina que nos permita ver con más claridad cómo es que los túbulos dentinarios se unen y sucede en el momento de llegar al esmalte. Para eso es requerido manejar otras técnicas de observación.

La unión esmalte dentina se estudia y analiza con mayor detalle y definición mediante su observación por microscopía fotónica, utilizando los diferentes contrastes de luz transmitida y reflejada en fotografías a color, pero también podemos obtener otro tipo de información al utilizar películas fotográficas blanco y negro como las figuras V.2 A y B.

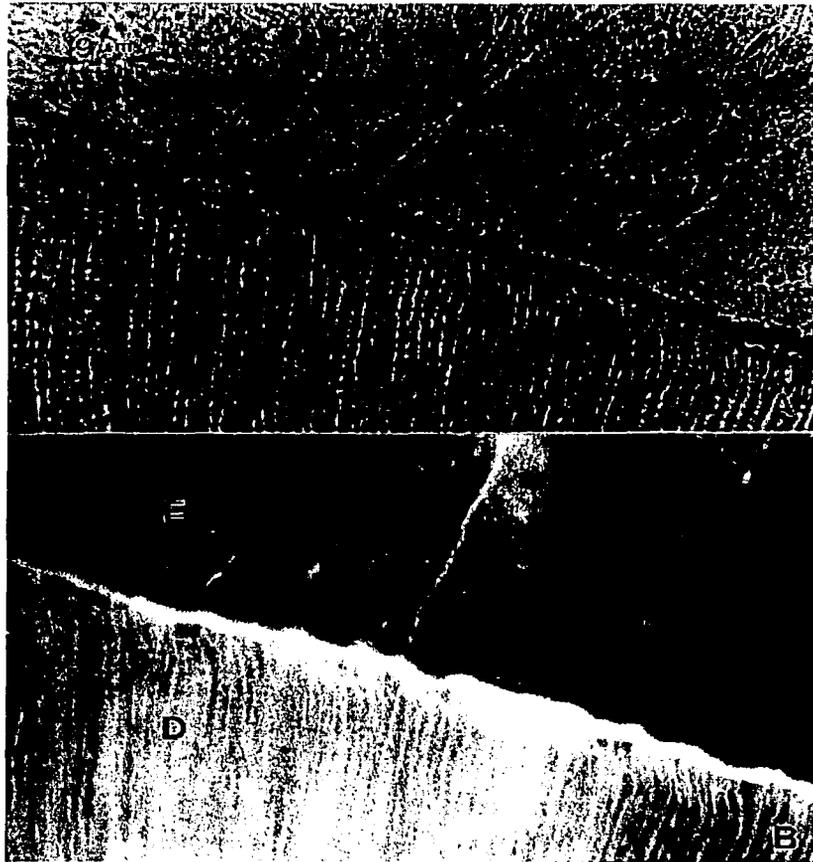


Figura V.2. Imágenes por microscopía fotónica blanco y negro de la UED con diferentes modos de operación. A. Imagen normal de luz reflejada B. Imagen de luz transmitida. D: Dentina E: Esmalte

En éste caso la figura V.2 muestra que la trayectoria que siguen los túbulos dentinarios a partir de la unión amelodentinaria es casi paralela. Además se puede notar que la muestra presenta una fractura debido a los cambios de condiciones físicas durante la preparación de la muestra en los cuales ha perdido agua, de tal manera que el esmalte dental se fractura. De hecho es importante notar que todo el material pierde agua pero el que principalmente se daña es el esmalte, no la dentina, como se puede ver en éstas fotografías.

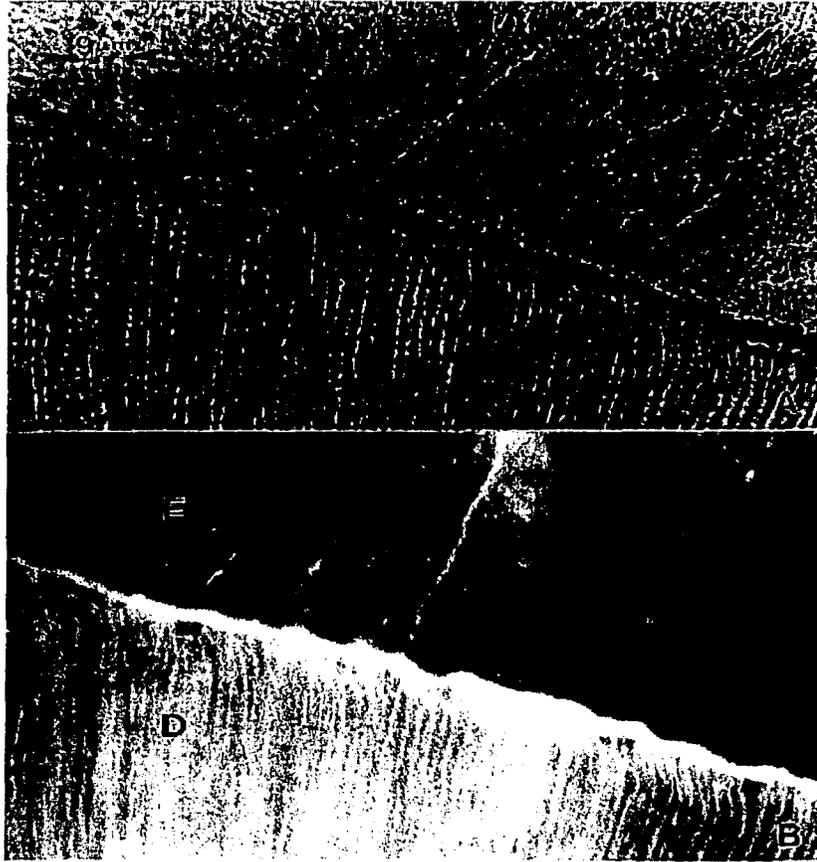


Figura V.2. Imágenes por microscopía fotónica blanco y negro de la UED con diferentes modos de operación. A. Imagen normal de luz reflejada B. Imagen de luz transmitida. D: Dentina E: Esmalte

En éste caso la figura V.2 muestra que la trayectoria que siguen los túbulos dentinarios a partir de la unión amelodentinaria es casi paralela. Además se puede notar que la muestra presenta una fractura debido a los cambios de condiciones físicas durante la preparación de la muestra en los cuales ha perdido agua, de tal manera que el esmalte dental se fractura. De hecho es importante notar que todo el material pierde agua pero el que principalmente se daña es el esmalte, no la dentina, como se puede ver en éstas fotografías.

En la figura V.2B se presenta la misma zona que la imagen A, pero con luz transmitida en el modo de operación de campo oscuro en microscopía fotónica, pudiendo comparar los dos tipos de imágenes y ver que en la parte del esmalte hay un contraste que se debe principalmente a los prismas que conforman este material. Estos prismas dan lugar a un contraste consistente en un pequeño rayado que tiende a semejarse de cierta manera con los túbulos dentinarios. Sin embargo, sabemos bien que los prismas del esmalte dental son la estructura principal de éste y que tienen una distribución que va de la unión amelodentinaria a la superficie del esmalte, lo cual nos permite interpretar correctamente el tipo de contraste observado en cada caso. Al comparar la figura V.1 con la V.2, a pesar de que ambas son producto de la microscopía fotónica, los contrastes observados en el esmalte y dentina son diferentes debido al tipo de preparación de muestra. En la figura V.1, la muestra tenía un espesor realmente grande comparado con la figura V.2 donde el grosor era de unos cuantos micrómetros. Por lo tanto el espesor de la muestra permite ver la presencia de los penachos en la figura V.1, perdiéndose en la figura V.2 donde es delgada. Como el espesor es pequeño, se observa una fractura. Esta es la razón del por qué el método de preparación de muestras para microscopía electrónica de transmisión es muy complejo: las fracturas se presentan fácilmente a estos espesores. Por lo tanto, ésta preparación debe ser llevada a cabo con mucho cuidado para que finalmente puedan ser observadas por microscopía electrónica de transmisión.

Esto nos lleva a concluir el uso tan importante del microscopio fotónico durante la preparación de muestras, pero con ciertas limitaciones al momento de querer obtener información del material, como el caso de los penachos, que para poder verlos mediante ésta técnica se requieren muestras gruesas, pero si queremos observar definiciones más finas o detalladas de lo que es la unión esmalte-dentina se tendrá que adelgazar la muestra; en la figura B se observa que los túbulos dentinarios llegan a la unión casi en forma perpendicular, se puede decir que la zona es un plano irregular al cual llegan los túbulos dentinarios en ésta dirección. También se puede decir que en el caso del esmalte, es el origen de los prismas como se describe en la amelogénesis, éstos prismas son perpendiculares a éste plano.

MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

Una mejor observación y mayor resolución de los prismas y túbulos dentinarios, así como de la UAD, es mediante microscopía electrónica de barrido. En la figura V.3A se presenta una imagen de microscopía electrónica de barrido de los prismas del esmalte y la dirección de éstos, que va de la unión amelodentinaria a la superficie del esmalte, mediante un corte longitudinal. La sección transversal sería un corte paralelo a la superficie oclusal. Los prismas en sección transversal tienen una forma de cerradura, mientras que en sección longitudinal son como listones, siendo el caso de ésta imagen.

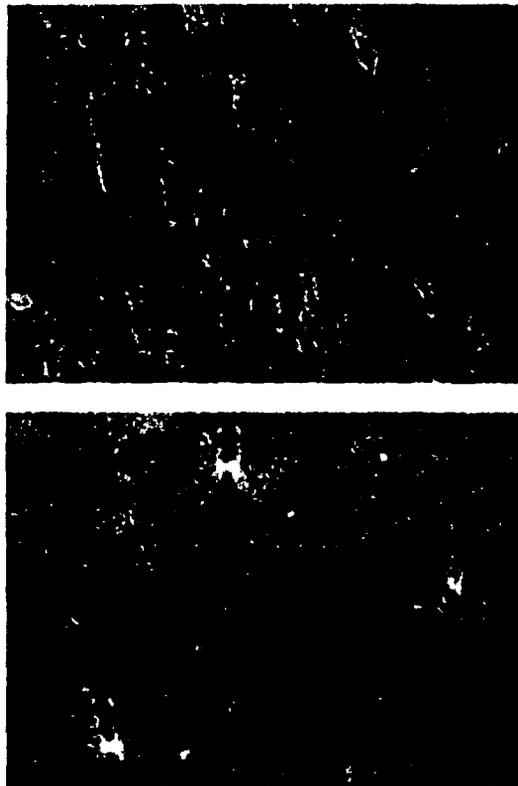


Figura V.3 Imagen de microscopía electrónica de barrido, de los prismas del esmalte (A) y de los túbulos dentinarios (B), observados longitudinalmente.

En la unión amelodentinaria se encuentran éstas dos estructuras (esmalte y dentina), de un lado los túbulos dentinarios y del otro lado los prismas del esmalte, que en conjunto van a conformar las características estructurales de la unión amelodentinaria. Por lo tanto podemos decir que los túbulos dentinarios continúan a través de la unión esmalte-dentina, hacia el esmalte dental, pero sin coincidir con la estructura del prisma sino con el espacio interprismático, como pequeños conductos amelodentinarios, siendo parte del medio ambiente de los prismas. Es decir, por la periferia de los prismas, con el material orgánico, se alimentará o se irrigará el esmalte dental. En la figura V.3B. Se observan los túbulos dentinarios, en un corte en sección longitudinal para poder ver la unión amelodentinaria con éstas características, también dos cortes se hacen de forma transversal, pero desgastándolos en forma longitudinal. En este tipo de corte se ve la UED, el esmalte y la dentina en el mismo plano. Si se hace éste corte, los túbulos dentinarios se observan a lo largo, es decir, el recorrido que llevan hacia el interior de la dentina. La imagen de la figura V.3B corresponde en este caso a la región cervical. Si los conductos dentinarios corrieran paralelos como tubos directos y no hicieran ninguna curvatura, no se observaría una imagen como la que se muestra en la figura V.3B, que muestra segmentos de los túbulos dentinarios y son resultados de que éste conducto no viaja en línea recta sino en forma sinoidal. De esta manera cuando se hace el corte, parte de ese conducto se secciona, y es lo que se muestra como un contraste en ésta figura.

La figura V.4 presenta una comparación de los tres tipos de imágenes observados en éste trabajo de tesis como una forma de introducción a la siguiente técnica utilizada: la microscopía electrónica de transmisión. En la figura V.4A es una imagen de la unión esmalte-dentina por microscopía fotónica. En este caso se observa como una banda.

La figura V.4B es una imagen de la unión esmalte-dentina por microscopía electrónica de barrido. Este equipo nos permite verla a mayor resolución; donde el método de preparación de muestras no es tan drástico, por lo que puede haber presencia de material orgánico sin mayor problema. La figura V.4C es la imagen de la unión esmalte-dentina observada por microscopía electrónica de transmisión, donde la orilla alrededor de esa banda es la que se estudió observada en microscopía electrónica.

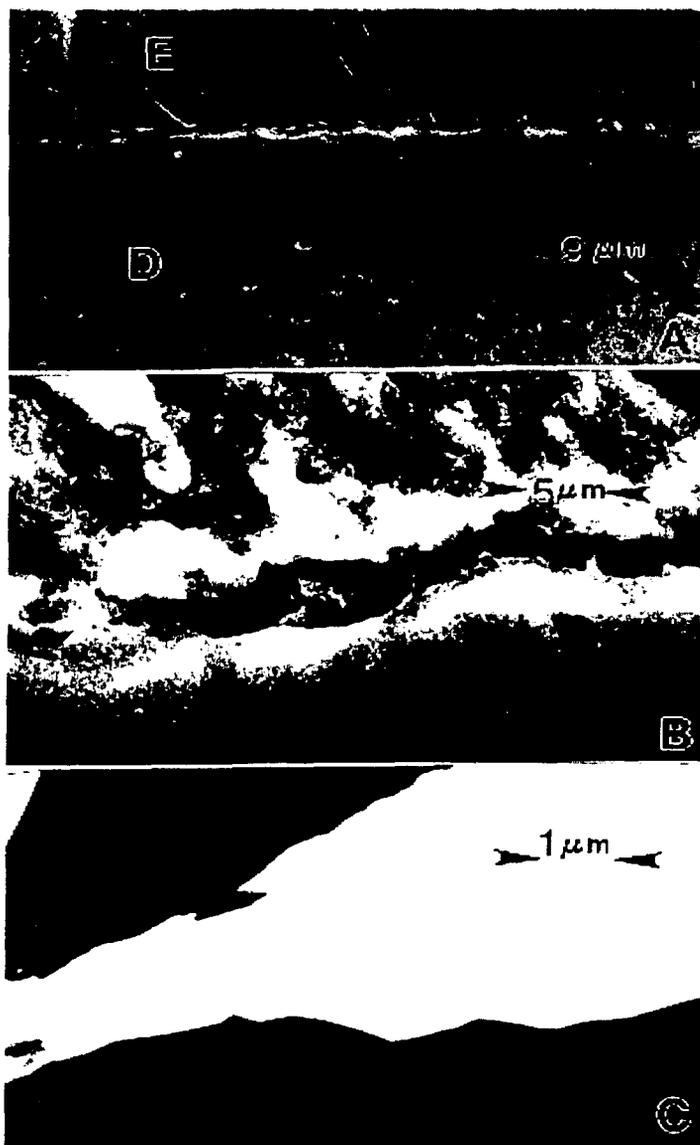


Figura V.4B Unión esmalte-dentina observada con las tres técnicas de microscopía usadas en éste trabajo de tesis. A).Microscopía fotónica, B).Microscopía electrónica de barrido y C).Microscopía electrónica de transmisión. Obsérvese la escala en cada caso.

Debido al proceso de preparación de muestras, la unión amelodentinaria, se ha convertido en un hueco que divide al esmalte de la dentina ya que la muestra se ha adelgazado de tal manera que nos permita hacer la observación mediante microscopía electrónica de transmisión, con unos cuantos nanómetros de espesor que no pasan de 10. Eso se debe al tipo de contraste en ésta imagen.

El espacio que se observa en ésta imagen es el que ha quedado porque se ha perdido el material orgánico, que se elimina debido al tipo de preparación de muestras para ésta técnica, la cual favorece la observación del material inorgánico, tanto del esmalte como de la dentina en los cuales el componente inorgánico está formado por el fosfato de calcio llamado hidroxiapatita; que presenta dos arreglos estructurales: una que conforma el esmalte y otra para la dentina. De aquí en adelante, lo que veremos es la base estructural de los materiales, que son los cristales de hidroxiapatita.

La figura V.5 muestra las imágenes de la superficie de contacto tanto en el esmalte como en la dentina por microscopía electrónica de barrido. La figura V.5 muestra la superficie de contacto del esmalte. En ésta muestra no se ha hecho otro tratamiento adicional, más que el procedimiento de preparación de muestras para microscopía electrónica de barrido. En este caso la unión se separó permitiéndonos ver ambas superficies de contacto.

Estas imágenes no muestran las estructuras características de sus componentes, que aquí corresponderían los prismas, sino más bien es una superficie en la cual parece la capa de "pegamento" (material orgánico) que mantiene unidos al esmalte y a la dentina. En ambos casos se observa una superficie irregular. La figura V.5B presenta la superficie de contacto de la dentina con el esmalte, sin observarse los túbulos dentinarios, sino material orgánico que permite que se una al esmalte.

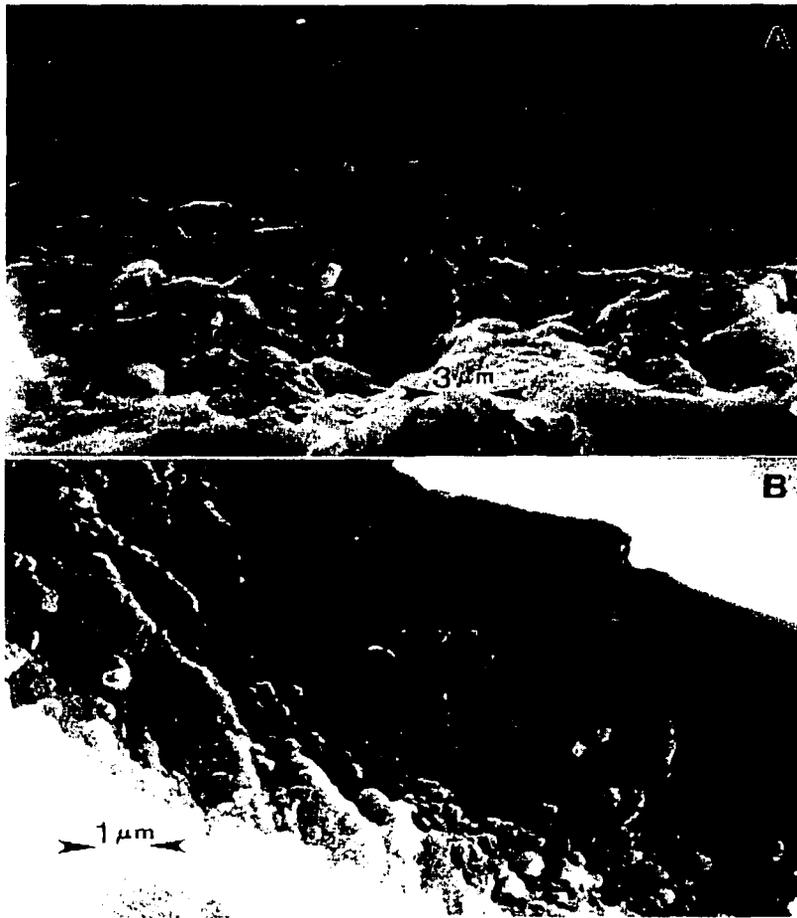


Figura V.5 Imágenes de la superficie de contacto de la unión esmalte-dentina por microscopía electrónica de barrido. A. La superficie de contacto en el esmalte y B. Superficie de contacto de la dentina. Obsérvese la textura irregular que presenta.

Cabe mencionar que si se hace un ataque con ácido en éstas zonas, entonces se revelarían las estructuras características que serían los túbulos y los prismas, ya que se elimina todo este material orgánico. La capa del material orgánico que se observa en la figura V.5 permite tener unidas ambas estructuras, siendo el medio de unión del esmalte con la dentina.

La zona de la unión amelodentinaria se puede recorrer en ambas direcciones sin problema, con zonas similares a las de la foto V.5. Sin embargo en algunos casos se observan estructuras que van de la dentina al esmalte (Fig. V.6).

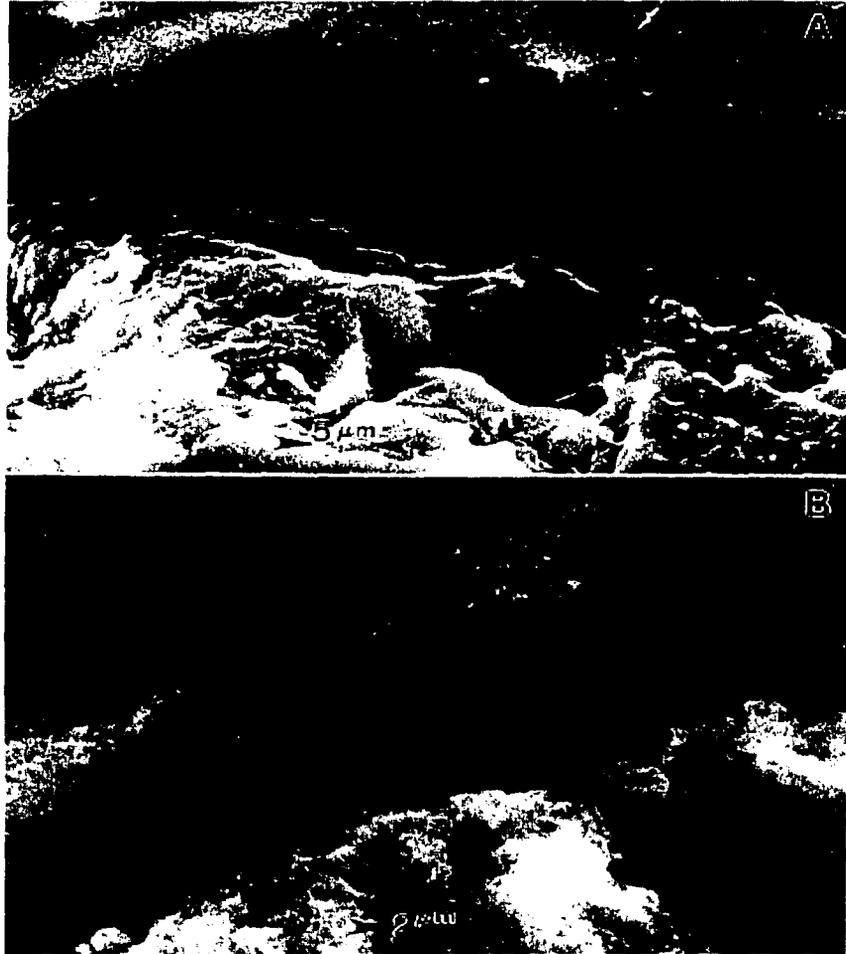


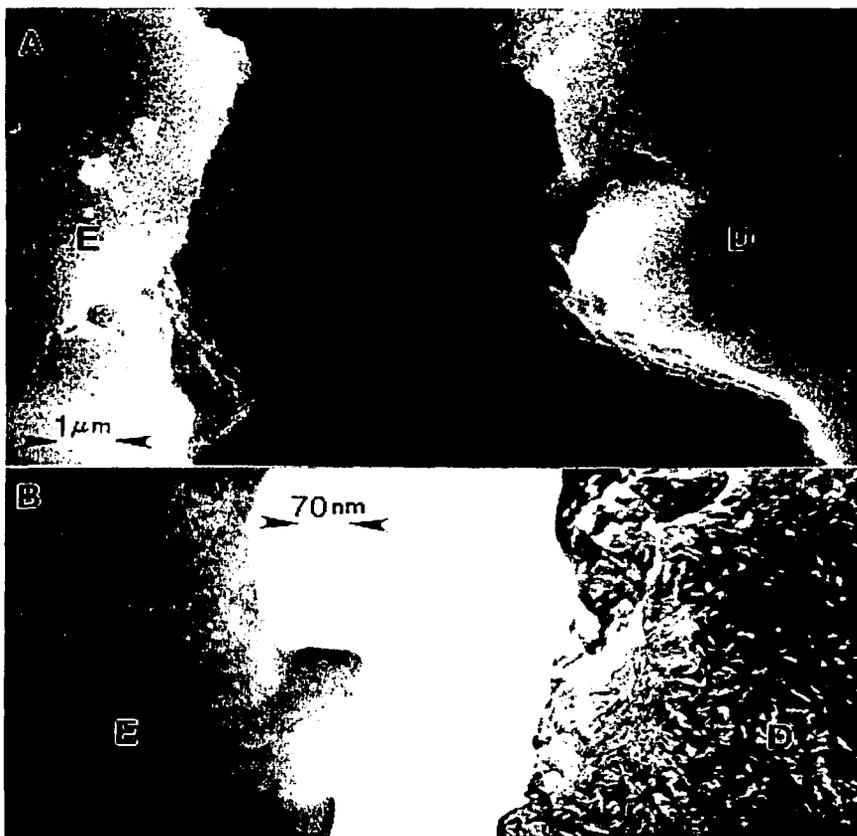
Figura V.6 .Imágenes de microscopía electrónica de barrido. A. Zonas de unión de esmalte y dentina B. Se observa parte del material orgánico que mantiene unidas éstas superficies.

En la figura V.6B se observa un tipo de unión del esmalte con la dentina, una estructura irregular de material orgánico. Estos son residuos de los odontoblastos que se encuentran dentro de los túbulos dentinarios pero que además pasan hacia el esmalte. Por lo tanto, podemos decir que la unión amelodentinaria es un plano donde se unen esmalte con dentina mediante productos orgánicos y donde se observan cruzando, además, los odontoblastos. La unión esmalte-dentina es formada por éstos compuestos orgánicos y mantiene unidos esmalte y dentina así como sus unidades estructurales los túbulos y los prismas, los odontoblastos cruzan la unión y llegan hasta el esmalte en las zonas interprismáticas.

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN

Para conocer con más detalle la estructura de la unión amelodentinaria, la preparación de la muestra para microscopía electrónica de transmisión se llevó a cabo mediante el procedimiento descrito en la sección de técnicas. Este procedimiento de preparación de muestras como ya se mencionó, tiene su grado de dificultad porque se tiene que desgastar la muestra hasta que tenga de espesor tan solo unos cuantos nanómetros, lo que hace la técnica un poco compleja, además de eliminar la parte orgánica de la unión amelodentinaria.

En la figura V.7 se muestran tanto la imagen de microscopía electrónica de barrido, mostrando la unión, observándose la zona del esmalte como de la dentina, separados por un espacio que vendría siendo la unión amelodentinaria, como la imagen de ésta por MET.



*Figura V. 7 A. Imagen de LA UNIÓN ESMALTE-DENTINA por MEB B. La unión observada en los tipos de estructura que presentan los componentes de esta unión.
E. Esmalte D. Dentina.*

La figura V.7B presenta por lo tanto, las mismas estructuras de la imagen 7A pero ahora mediante microscopía electrónica de transmisión. Teniendo ésta una mejor resolución que la MEB, las imágenes se observan a muy alta amplificación, y nos podemos percatar de ésto al comparar las escalas las imágenes: en el caso de la figura 7A se tiene una escala en micrómetros mientras que en la figura 7B la escala es en nanómetros.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

La figura V.8 presenta una imagen de campo claro de la dentina por microscopía electrónica de transmisión y el patrón de difracción de área selecta de esa zona. En esta figura se observan ciertas características de la dentina ésta se forma por varios cristalitas. Es decir, el patrón de difracción en forma de anillos o forma circular, es una prueba de que el arreglo del material es en forma policristalina en el cual los cristales son muy pequeños con orientación al azar, de tal manera que forman esos anillos. Después del estudio del patrón de difracción encontramos que los anillos pertenecen a la hidroxiapatita, en éste caso estamos viendo los anillos correspondientes a los planos 211 y 002, que son los que más se definen, a pesar de que tiene más anillos que no se muestran en ésta imagen y todos correspondían a éste material.



Figura V.8 Imagen de campo claro de MET de la dentina. El recuadro presenta el patrón de difracción de electrones de área selecta de esa zona.

En la figura V.9 se presenta el arreglo policristalino de la dentina, con técnica de MET en campo claro y campo oscuro de la misma zona. Estas imágenes dicen mucho acerca de la cristalinidad de la dentina. En el campo oscuro, en el anillo 211 fue seleccionada para formar la figura mostrada en la imagen V.9B, se presentan pequeños cristales que conforman la dentina, y su arreglo es al azar, los cristales son los contrastes blancos, en el fondo negro y diferentes intensidades. De acuerdo con el patrón de difracción éstos son cristales de hidroxiapatita.



Figura V.9 Imágenes de MET en campo claro (A) y en campo oscuro (B) de la dentina. El recuadro presenta el patrón de difracción de electrones de área selecta en ésta zona.

La figura V.10 comprueba que los cristales que conforman la dentina son de hidroxiapatita que observamos en la figura V.9, lo comprobamos en ésta imagen con la técnica de nanodifracción en uno de éstos cristalitas. En éste caso, en lugar de mostrar patrones de difracción de anillos, muestra patrones de difracción de puntos, de forma regular, el cual es indexado en la dirección 001 de la hidroxiapatita. Además la figura V.10 indica que la dentina está formada por éstos cristales del orden nanométrico.

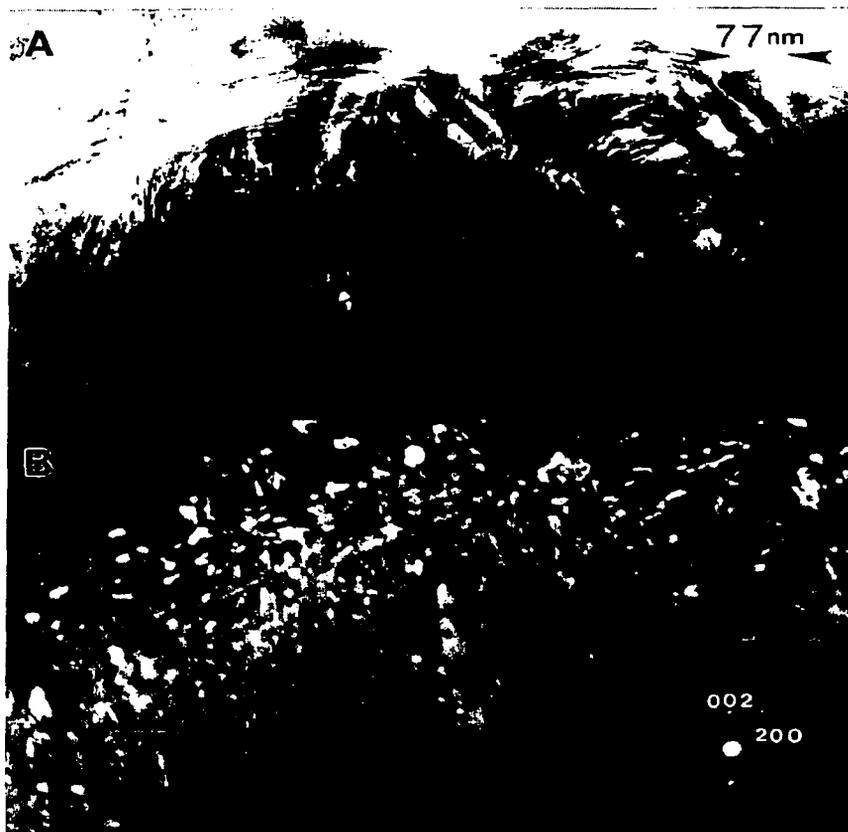


Figura V.10 Imágenes de MET en campo claro (A) y en campo oscuro (B), de la dentina. El recuadro presenta el patrón de difracción nanométrico, proveniente de uno de los cristales mostrados en la figura B.

La figura V.11 muestra al otro componente de unión amelodentinaria: el esmalte. El esmalte en imágenes de MET, permite observar cristales alargados para conformar así el prisma del esmalte. En ésta figura se aprecian los cristales alargados de uno de los prismas y se observan las características reportadas por varios autores de éste material.

Tiene una dirección preferencial en la cual se alargan los cristales y el patrón de difracción no es de anillos, sino de semianillos y puntos. Es decir, hay una estructura texturizada que conforma el prisma del esmalte dental; éste patrón de difracción nos muestra éste tipo de estructura y al analizar cada uno de los tipos de anillos encontramos que corresponde a hidroxiapatita.

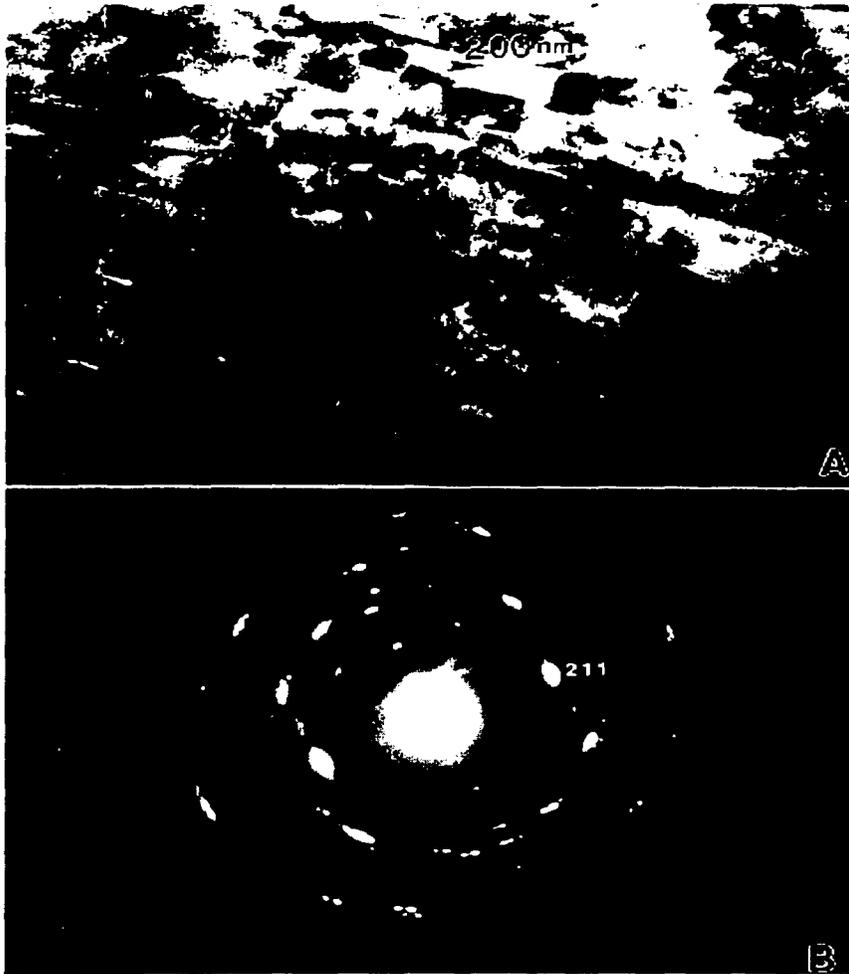


Figura V.11 A. Imagen de MET en campo claro del esmalte dental humano, nótese el tipo de arreglo que presentan los cristales del esmalte. B. Patrón de difracción de electrones de área selecta de la zona de la imagen.

DIFRACCIÓN DE RAYOS X

El hecho de que el esmalte dental y la dentina estén formados por hidroxiapatita es fácilmente comprobable en estudios de difracción de rayos X, como se muestra en la figura V.12. En este caso se tomaron para su análisis, el patrón de difracción de la figura V.11 del esmalte para obtener resultados mostrados en la figura V.12. Se analizó el patrón de difracción de dentina, junto con difracción de rayos X. Para difracción de rayos X, las muestras se pulverizaron hasta un tamaño de 0.044 megg, de tal manera que no existiera una orientación preferencial, sino más bien una orientación al azar. Los difractogramas de rayos X de la figura V.12 se acercaron lo más posible a los estándares de los patrones de hidroxiapatita, así lo mostraron los resultados de indexación de éstos.

Una vez obtenido éste patrón de difracción de rayos X de ambas estructuras, se comprobó inmediatamente que ambos correspondían a hidroxiapatita. Sin embargo, hay cierta diferencia en el tamaño de los picos, debido principalmente a una dirección preferencial existente, como lo es en el caso del esmalte debido a los prismas o a el tamaño de grano que es muy pequeño de orden nanométrico como en el caso de la dentina. Esto se puede comparar, en los picos 002 y el 202, ambos son de la hidroxiapatita en la figura V.13. La diferencia radica en la estructura del esmalte y en la estructura de la dentina presentan diferentes intensidades, esto es debido a que el esmalte está formado en su mayor parte de material inorgánico que es éste material precisamente mediante cristales alargados de hidroxiapatita y la dentina la presenta en menor porcentaje, disminuyendo de manera significativa los pequeños cristales que además están sumergidos en matrices orgánicas. Por lo tanto la diferencia es notable y se puede observar en esta figura, donde se han sobrepuesto el patrón de difracción de la dentina con el del esmalte. En éste caso la diferencia radica tanto en el ancho de los picos como en la altura de éstos en ambos patrones.

Se puede observar que los picos del difractograma de la figura V.12 están más definidos los del esmalte que los de la dentina, teniendo el esmalte definidos los picos y menos anchos que los de la dentina. Debido principalmente al tipo de arreglo cristalino de hidroxiapatita en el esmalte dental y en dentina. Por lo tanto, el esmalte está formado por cristales de orden nanométrico alargados y en la dentina son de una décimas de nanómetros y completamente al azar.

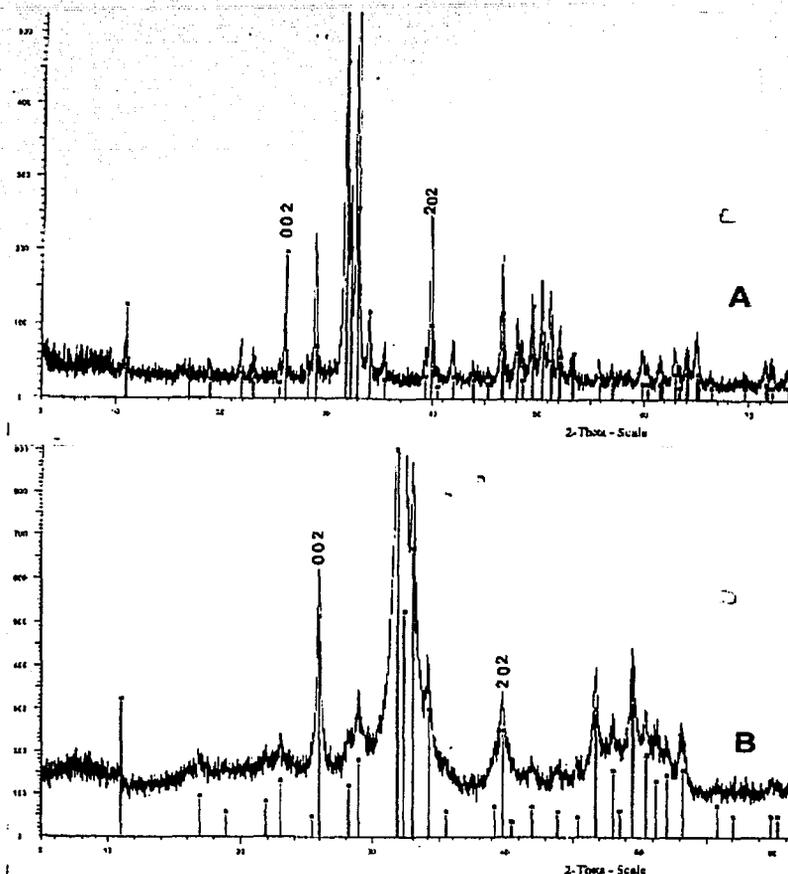


Figura V.12 Difractogramas de rayos X. A. Esmalte y B. Dentina
El análisis químico de éstos dieron como resultado que ambos corresponden a hidroxiapatita, la diferencia es solo el tamaño del grano que se tiene en el esmalte y en la dentina.

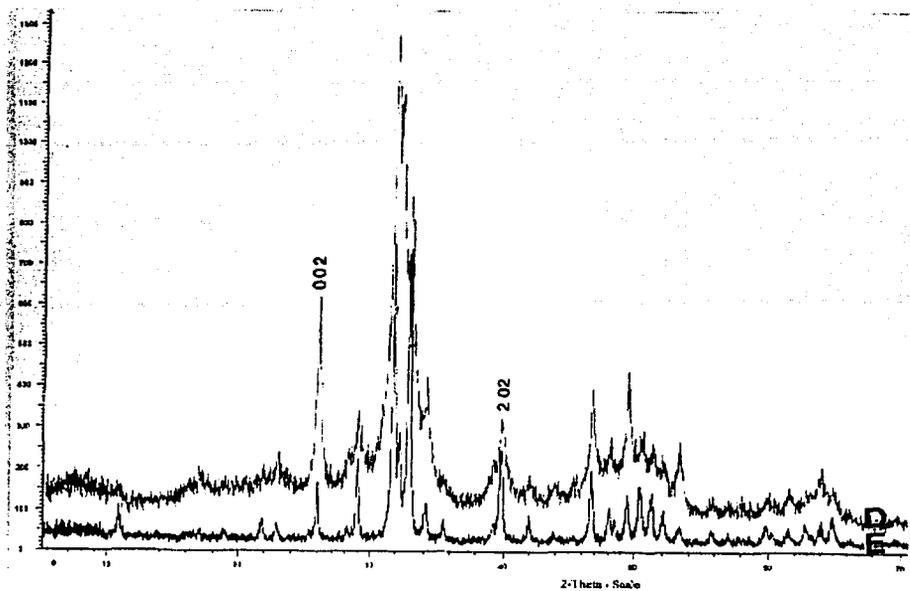


Figura V.13 Comparación de los difractogramas de rayos X mostrados en la figura V.12. Sobreponiendo los difractogramas del esmalte y de la dentina, se observa que los picos del esmalte son más definidos y menos anchos, sin embargo, ambos corresponden con los índices de Miller de la hidroxiapatita. El tamaño de grano es lo que produce esta diferencia.

Por lo tanto, tomando en consideración todos los resultados comentados hasta aquí, podemos tener una mejor idea sobre la estructura de la UED. La figura V.14 es un esquema de la unión esmalte dentina, en la que observamos que el contacto se dá gracias a la presencia de material orgánico. La célula productora de dentina, es decir el odontoblasto, va por dentro del túbulo dentinario, llega hasta la unión amelodentinaria, formando parte de esa capa orgánica, siendo capaz de aproximarse al esmalte y penetrar en él. Esta es la forma de entrelazarse el esmalte y la dentina, y mientras no pierdan agua y el material orgánico conserve sus propiedades fisicoquímicas, se mantendrán fuertemente unidos.

Aunque se conocen éstos como prolongaciones odontoblásticas, ahora sabemos que éstas, se reubican en la zona interprismática, ya que al llegar al esmalte, no coinciden con la posición del prisma, sino que formarán parte del medio ambiente, junto con las proteínas que hay en esta fase orgánica del esmalte. Éstos odontoblastos al entrar precisamente es ese espacio entre esmalte y dentina, se les puede denominar “conductos amelodentinarios” ya que son odontoblastos originados en la dentina, forman la unión esmalte-dentina y llegan al esmalte en la región interprismática, como prolongaciones odontoblásticas.

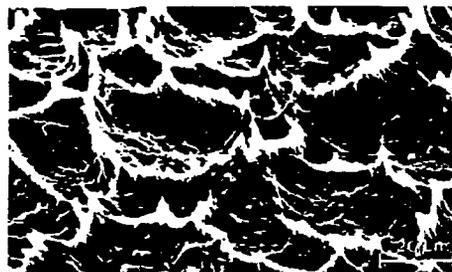
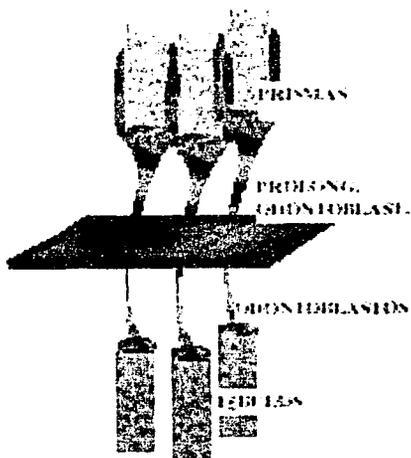


Figura V.14 Esquema en el cual se representa en la parte inferior los túbulos dentinarios, de los cuales emergen los odontoblastos, cruzan la unión amelodentinaria y que al llegar al esmalte se dirigen a la zona interprismática. Del lado derecho prolongaciones de los odontoblastos por MEB, en la UED.

CAPÍTULO VI

DISCUSIÓN

Los resultados presentados en éste trabajo de tesis son de gran interés, ahora conocemos un poco más sobre el plano que conforma la unión esmalte-dentina. Este plano que es tan importante ya que se juntan naturalmente dos materiales de diferente estructura, pero con la misma matriz inorgánica, unificando algunas propiedades físicas y químicas para formar esta parte del diente. Aquí es donde contactan las dos estructuras: una con su unidad básica estructural conformado por prismas que es el esmalte dental y otra caracterizada porque su unidad estructural son túbulos dentinarios que contienen a los odontoblastos los cuales son el medio de inervación e irrigación del diente; sin embargo durante el estudio de la fase inorgánica de cada uno se observa que su matriz inorgánica de ambos es la hidroxiapatita, pero con diferente organización y cantidad.

En el esmalte existe un 96% de dicho material y los cristales de hidroxiapatita están de forma organizada, a diferencia de la dentina que presenta un 70% de hidroxiapatita y los cristales se encuentran al azar; esto fue identificado al tipo de difracción que presentan cada uno de ellos. También se observó que en esa frontera entre el esmalte y la dentina hay presencia de material orgánico, la más significativa es la prolongación de los odontoblastos de la dentina que llegan hasta el esmalte. Por lo tanto la unión esmalte dentina se define de la siguiente manera: es una estructura o plano formado por material orgánico en el cual se unen el esmalte y la dentina. Éste material orgánico se origina al mismo tiempo o durante el desarrollo del esmalte y dentina mediante ameloblastos y odontoblastos, en ese momento se produce, una enucleación de material orgánico de ambas estructuras, de parte de la dentina se reportan las prolongaciones odontoblásticas y la presencia de colágena tipo 1, y de parte del esmalte algunas proteínas como la amelogenina, todo se organiza de forma específica durante la amelogénesis y dentinogénesis.

Este material orgánico, por lo tanto, tiene gran importancia e involucra la misma composición química de las prolongaciones odontoblásticas las cuales llegan hasta la unión esmalte-dentina y continúan hasta el esmalte dental a través de la zona interprismática. Esto crea una estructura orgánica tal y como se muestra en la figura V.14, donde se representa esquemáticamente la unión esmalte-dentina. Así los planos que se unen de los dos materiales son irregulares por la presencia del material orgánico, y el odontoblasto que sale del túbulo dentinario, forma parte de ese plano junto con otros materiales y llega hacia el esmalte en zonas interprismáticas. Las superficies de unión del esmalte y la dentina son irregulares por la presencia de éste conjunto orgánico, que puede tener variaciones de un diente a otro, ya que está determinado por la anatomía pero también presenta variaciones aún en un mismo diente (16), las prolongaciones odontoblásticas tiene diferencias de longitud, dependiendo si se observa la región cervical, media u oclusal, incrementando la longitud de éstas en oclusal o incisal por la irrigación pulpar.

A medida de resumen de estos resultados, podemos decir que la estructura y composición química de la unión amelodentinaria se fundamenta en su componente orgánico. Este juega el papel de medio de unión entre el esmalte y la dentina. Desafortunadamente el proceso experimental seguido para la preparación de muestras para microscopía está diseñado para estudiar los componentes inorgánicos de la muestra, eliminando casi por completo el material orgánico.

Esto es una buena indicación del presente trabajo de tesis: el señalar que el estudio de la UAD debe de hacerse siguiendo un método de preparación de muestras que permita realizar el estudio estructural e identificar la composición química del componente orgánico, eliminando el material inorgánico. De esta manera tendremos información adicional sobre la función, composición y propiedades de la Unión Esmalte-Dentina.

Para establecer la veracidad de la adhesión orgánica se tendrán que llevar a cabo otros experimentos que en un futuro cercano podrían realizarse, llevando a cabo métodos de preparación de muestras que nos permitan observar por microscopía electrónica de barrido y transmisión ésta parte orgánica, además de hacer el estudio por técnicas de espectroscopía de dispersión de energía de rayos X característicos (EDS) para conocer la composición química de éste plano y diseñar una metodología en la cual ahora se identifiquen los componentes del material orgánico, como colágena y las proteínas ya mencionadas. Es decir, las expectativas a futuro son bastantes y surgen después de los resultados de éste trabajo de tesis. Consideramos que existe un buen cúmulo de información y el diseño de nuevos experimentos que permitan un estudio a nivel de posgrado; por lo tanto considero que los resultados presentados para el estudio de la unión esmalte-dentina no han terminado, de lo contrario, es el inicio y propuestas para nuevos trabajos de investigación.

CONCLUSIONES

1. La unidad estructural del esmalte son los prismas, los cuales están conformados a la vez por cristales de hidroxiapatita de manera abundante y organizada. La dentina tiene como unidad estructural a los túbulos dentinarios que en su fase inorgánica presenta también cristales de hidroxiapatita pero sin arreglo específico, es decir, están al azar, porque se encuentran dentro de una matriz orgánica.
2. El contacto del esmalte con la dentina esta conformada por un plano de material orgánico que se refiere principalmente a las prolongaciones odontoblásticas y que ayuda a la unión de éstas dos estructuras, permitiendo la funcionalidad del órgano dental.
3. Las superficies de contacto del esmalte con la dentina, son zonas irregulares que están determinadas desde la amelogénesis y dentinogénesis formando una enucleación de proteínas, colágena y prolongaciones odontoblásticas.
4. Las prolongaciones odontoblásticas que emergen de los túbulos dentinarios, forman parte la fase orgánica de la unión esmalte-dentina y llegan hasta el esmalte, a la región interprismática.
5. El trabajo realizado representa el inicio de un nuevos experimentos e investigación en el cual se abren muchas expectativas para una mejor descripción de lo que es la unión esmalte-dentina.

REFERENCIAS

1. ZAMORA MONTES DE OCA.
Análisis de la composición y estructura del esmalte y la unión
amelodentinaria en dientes humanos.
Tesis de Maestría en Odontología, F.O.
UNAM 1998.
2. AYUSO ARCE AMÉRICA DE LOURDES.
Esmalte Dental en niño, adolescente y adulto: caracterización por técnicas de
microscopía electrónica.
Tesis de maestría en odontología FO.
UNAM 1999.
3. ORBAN, BALINT JOSEPH
Histología y Embriología Bucal.
Edit. Ateneo 1983
Buenos Aires, México.
511 páginas.
4. DALCUSI G.
High resolution electron microscope study of human enamel crystallites,
size, shape and growth.
Journal Ultrastructure Res. 1978
65 163-172
5. FRAZIER
Adult human enamel anelectron microscopic study of crystallite size an
morphology
Journal Ultras. Rest. 1985
22 (1) 191-196

6. TEN CATE, ARNOLD RICHARD.
Histología oral, desarrollo de la estructura y función.
Edit. Médica Panamericana, 1986
Buenos Aires, México.
536 páginas.

7. ARENDS J. JUNGELOED
Crystallites dimensions of enamel
Journal Biol. Bucal 1978
6 (3) 161-71

8. HAM, ARTHUR WORT
Tratado de Histología.
Edit. Interamericana. 1983.
1080 páginas.

9. MORALES SÁNCHEZ ISRAEL.
Análisis estructural de la unión amelodentinaria en dientes humanos con técnicas de microscopía electrónica.
Tesis de Licenciatura en Odontología, F.O.
UNAM 2000.

10. WEINE FRANKLIN
Terapéutica en Endodoncia
Edit. Salvat, segunda edición 1991
448 páginas.

11. SZABO J. TROMBITAS K. SZABO I.
Scanning electron microscopy of the walls of tubules in human coronal dentin.
Arch. Oral Biology 1985
30 (10) 705-710

12. GROTZ K.A., DUSCHNER H.
Histomography of the odontoblast processes at the dentin-enamel junction of permanent healthy human teeth.
Clinic Oral Invest. Mar. 1998
2 (1) 21-25

13. CRISTOFFERSEN M.
Possible mechanisms for the growth of the biomaterial, calcium hydroxyapatite microcrystals.
J. Crystals Growth 1992
1211 617-630

14. SHIBAHARA H., TOHDA H.
High resolution electron microscopic observation of hydroxyapatite in tooth crystals.
Journal Electron Microsc. 1994
43: 89 - 94

15. YACAMÁN, MIGUEL JOSÉ, REYES GASGA JOSÉ.
Microscopía Electrónica, Una visión del microcosmos.
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología
Fondo de Cultura Económica 1998
143 páginas.

16. KIMURA, O. E. DYKES.
The relationship between the surface area of the enamel crowns of human teeth and that of the dentin-enamel junction.
Arch. Oral Biology 1977
22 (12) 677-683

17. DOUKOUDAKIS

Morphologic characteristics of dentin at the dentinoenamel junction as viewed by scanning electron microscopy.

Journal Esthet. Dent, 1997 9(2) 94-9

18. INGLE JOHN

Endodoncia

Mc Graw Hill cuarta edición 1996

392 páginas.

19. MALACARA HERNÁNDEZ, DANIEL

Microscopía Óptica

Segunda Edición 1989

586 páginas.

20. MC COY G.

Stresses at the dentinoenamel junction of human tooth a finite element investigation

Journal Prosthet. Dent. -1992 Jul. 68 (1) : 206

21 .PERGOLIZZI

The shape enamel crystals seen high resolution, scanning electron microscopy.

Oct-Dec. 1995. 100 (4) 203-9

J. Anat. Embriology.

22. PIÑA BARBA MARÍA CRISTINA

La Física en la Medicina

La ciencia desde México, 1987

Fondo de Cultura Económica

121 páginas.

23. REYES-GASGA, R. GARCIA G.
In-situ observation of fractal structures and electrical conductivity in human tooth enamel.
Philosophical Magazine A. 1997, Vol 75, No. 4. 1023-1040
24. REYES GASGA J., M. J. GLORIA, A. M. GONZÁLEZ, A. MADRIGAL
Instituto de Física y Facultad de Odontología.
La microscopía electrónica y el esmalte dental humano
Ciencia y Desarrollo Nov / Dic 1995
Vol. XXI # 125
25. WARSHAWSKY H.
External shape of enamel crystals.
Scanning microscopy 1987
1 (4), 1913 – 1923