

01484,



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ODONTOLOGIA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION**

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ESTRUCTURA,
COMPOSICION QUIMICA Y PROPIEDADES
MECANICAS DEL ESMALTE DENTAL EN SUJETOS DE
ALTO RIESGO Y SUJETOS LIBRES DE CARIES.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN ODONTOLOGIA

P R E S E N T A :

MARIA DEL PILAR GUTIERREZ SALAZAR

DIRECTOR DE TESIS: DR. JOSE REYES GASGA



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

JULIO DE 2002.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Odontología
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Estudio comparativo de la estructura, composición química y propiedades mecánicas del esmalte dental en sujetos de alto riesgo y sujetos libres de caries.

T E S I S

Que
Para obtener el grado de
Doctor en Odontología
Presenta

María del Pilar Gutiérrez Salazar.

Director de Tesis
Dr. José Reyes Gasga

Julio 2002

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

*A mi esposo
Dr. Alejandro Díaz Jaramillo
Por todo lo que le has dado a mi vida.*

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Agradecimientos:

En primer lugar quiero agradecer al **Dr. José Reyes Gasga** por compartir conmigo sus conocimientos y experiencia y de manera muy especial por la paciencia, confianza y amistad que me brindó.

Un agradecimiento muy especial a las personas quienes además del apoyo con su trabajo, siguieron muy de cerca la realización de la investigación y colaboraron discutiendo y aportando ideas que fueron de gran valor para la realización de ésta. Por sus invaluable aportaciones mil gracias a:

Dr. Ernesto Ortiz Cruz
Fis. Roberto Hernández Reyes
MC. Jacqueline Cañetas Ortega
MC. Rebeca Trejo Luna

Por los conocimientos y enseñanzas que me brindaron y por todo su apoyo en el proceso de preparación de las muestras. Agradezco a:

Pedro Mexia Hernández
Carlos Flores Morales

Por el apoyo en la presentación e impresión del trabajo. Muchas gracias a:

Lic. Alejandro Díaz Gutiérrez
Lic. Claudia Hernández Mena
Rodrigo Díaz Gutiérrez



Por su apoyo para el análisis químico. Gracias a:

Dr. José Luis Albarran Gómez
Dr. Osvaldo Flores Cedillo
MC. René Guardián Tapia

Agradezco también, por su ayuda a:

Manuel Aguilar
Cristina Zorrilla
Samuel Tehuacanero
Luis Rendón

Indice

INTRODUCCIÓN	1
I Definición del problema.	
II Objetivo.	
III Hipótesis.	
IV Justificación.	
1. CONCEPTOS FUNDAMENTALES	
1.1 Caries dental y alto riesgo.	8
1.2 Esmalte dental	15
1.2.1. Estructura	
1.2.2. Composición química	
1.2.3. Propiedades mecánicas	
1.3. Técnicas de análisis	27
1.3.1. Microscopía de luz y microscopía electrónica de barrido (MEB)	
1.3.2. Microanálisis	
1.3.3. Microdureza.	
2. METODO	
2.1. Selección de los sujetos para el estudio	36
2.2. Análisis estadístico	
2.3. Procedimiento experimental	37
2.3.1. Estructura histológica del esmalte.	
2.3.2 Análisis químico	
2.3.3. Prueba de dureza.	
3. RESULTADOS	44
3.1 Resultados de la estructura histológica del esmalte	53
3.1.1. La superficie dental.	
3.1.2. Estructura interna del esmalte en sección transversal	
3.1.3. Estructura interna del esmalte en sección longitudinal	

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.2. Resultados el análisis químico	101
3.2.1. Constituyentes mayores: carbono, oxígeno, calcio y fósforo	
3.2.2. Constituyentes menores: magnesio, sodio y cloro	
3.3. Resultados del análisis de propiedades mecánicas	128
3.3.1. Microdureza	
4. DISCUSION	138
4.1. Grupos de alto riesgo	
4.2. Resultados	
Estructura del esmalte	
Composición química del esmalte	
Dureza del esmalte	
CONCLUSIONES	146
REFERENCIAS	148
ANEXOS	
1. Resumen curricular sobre el trabajo de alto riesgo a caries	
2. Artículos sobre el trabajo de tesis	

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Resumen.

Este trabajo de tesis presenta los resultados del estudio comparativo de la estructura, composición química y propiedades mecánicas del esmalte dental entre sujetos de alto riesgo y sujetos libres de caries. Los pacientes fueron seleccionados de entre los pacientes que acuden a la clínica de la Unidad de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología, que requirieron de extracciones para su tratamiento de ortodoncia. El estudio incluyó seis pacientes, cuatro jóvenes de 14 años y 2 adultos de 24 años de edad, que en base a su experiencia de caries, se calificaron como de alto y bajo riesgo. De cada paciente se obtuvieron dos premolares, los cuales fueron seccionados uno longitudinalmente y otro transversalmente. Las secciones obtenidas fueron pulidas y preparadas de acuerdo a los métodos específicos de cada una de las pruebas realizadas. De la estructura se analizaron, por medio de microscopía electrónica de barrido (MEB), la superficie vestibular, la estructura interna en el corte transversal y en el longitudinal. La composición química se obtuvo por medio de espectroscopia de energía dispersada de rayos X característicos (EDS), en el borde externo, la parte central del espesor del esmalte, y la unión amelodentinaria. De las propiedades mecánicas se analizó la dureza por medio del método de indentación estática, usando un diamante Vickers y un microscopio de luz. El análisis estadístico se realizó por medio de análisis de varianza ANOVA, usando el paquete estadístico SPSS.

Los resultados mostraron que el arreglo prismático en las muestras de sujetos de alto riesgo presenta solución de continuidad en el trayecto de los prismas, además de giros y flexiones de éstos, produciendo un espaciamiento irregular entre ellos, dando la apariencia de un tejido desordenado, mientras que en los sujetos de bajo riesgo se observó el arreglo prismático característico. En la composición química del esmalte se encontraron diferencias estadísticamente significativas en prácticamente todas las comparaciones del contenido de los elementos constituyentes, tanto en la composición total del esmalte, como en las tres zonas del espesor del esmalte que se analizaron. Dentro del rango de valores de dureza establecido para el esmalte, las muestras de alto riesgo presentaron los valores más

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

bajos y las muestras de bajo riesgo los valores más altos, las diferencias encontradas en este caso fueron estadísticamente significativas en todas las comparaciones. Por tanto se demuestra en este trabajo de tesis que existen diferencias en la estructura, composición química y propiedades mecánicas del esmalte entre sujetos de alto riesgo y sujetos libres de caries. Las diferencias identificadas son una aportación importante en el estudio del proceso de caries en los sujetos de alto riesgo, ya que las características del esmalte dental en estos sujetos pueden ser un factor biológicamente plausible en la condición de mayor susceptibilidad a la enfermedad. Así mismo, la identificación de estas diferencias es de importancia metodológica para el diseño de investigaciones futuras del proceso de caries en sujetos de alto riesgo, ya que demuestran que, deben ser consideradas en estudios, tanto etiológicos como de métodos preventivos, para evitar que se confundan la asociación y el efecto respectivamente. Sin embargo, la importancia relativa de cada una de ellas en la determinación de la condición de alto riesgo a caries, deberá ser evaluada experimentalmente para llegar a establecer la secuencia etiológica precisa de este proceso.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Abstract

The objective of this comparative study was to identify differences in hardness, chemical composition and histological structure, between samples of dental enamel taken from patients with high and low caries risk. The study included six patients, four of them were 14 years old and remaining two 24 years old.

Enamel hardness was evaluated using Vickers diamond, for chemical analysis energy dispersive X-ray spectrometer (EDS) was used and the structure of enamel was observed using a Scanning Electron Microscope (SEM).

The most important difference on high caries risk enamel was that the structure exhibited an irregular alignment of prism that produced irregular inter-prism regions, the outer surface was porous and prismatic. Moreover, high levels of concentrations of Ca, P, O and Na were found. Finally the Vickers hardness was measured between 269 – 283. However for low risk patients the Vickers hardness was measured to be between 310 – 376 ($p < 0.005$).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INTRODUCCIÓN

La caries es considerada comúnmente una enfermedad infecciosa que causa la destrucción localizada de los tejidos dentales duros por los ácidos producidos por los depósitos microbianos adheridos a los dientes. La enfermedad puede afectar al esmalte, la dentina y el cemento. La destrucción localizada de los tejidos dentales duros, las lesiones, son así los síntomas de la enfermedad (1). El carácter irreversible del daño que causa, una vez que éste se ha manifestado clínicamente, así como el alto costo y la necesidad de servicios especializados requeridos para la rehabilitación del tejido dental destruido, es lo que hace prioritaria la búsqueda de medidas para su prevención y control.

Por otra parte, es importante considerar que una gran parte de la población mundial no tiene acceso a la atención dental, ni preventiva, ni restaurativa, ni quirúrgica. La Organización Mundial de la Salud indicó que el 80% de la atención profesional de salud oral se concentraba en el 25% de la población total. Así, la disponibilidad de la atención dental es limitada para la gran mayoría de las personas (2).

Esta enfermedad es aún un problema de salud a nivel mundial (3). En países desarrollados a partir de mediados de los setenta se ha observado una importante declinación de la enfermedad, manifestada por un mayor número de niños libres de caries y una disminución en el número promedio de dientes afectados por persona en la población (4,5,6). Sin embargo, Fejerskov (7, 8) declara: "La enfermedad es ubicua en todas las poblaciones alrededor del mundo, en los niños durante las últimas décadas, la tasa de progresión ha disminuido mostrando una mayor proporción de niños de una edad específica sin signos y síntomas de la enfermedad, únicamente al estado de cavitación. Sin embargo, la prevalencia de signos y síntomas de caries activa, ya sea de lesiones pasadas o en progreso, alcanza el 100% para adultos" (9, 10). Esta situación se ha explicado por la acción del fluoruro, principal agente al que se atribuyen los cambios positivos en la tendencia de la enfermedad, que tiende a retrasar más que a evitar la aparición de lesiones cariosas (11).

Por otra parte, en países en desarrollo no se ha observado esta declinación de la enfermedad, por lo menos no en una magnitud similar a la observada en los países

desarrollados. En el caso de México no se cuenta con los datos a nivel nacional que permitan tener una información precisa de la magnitud del problema o de la tendencia que ha presentado la enfermedad. Sin embargo, de los estudios publicados realizados en diversos grupos de población (12 – 19), es evidente que aún existe una alta prevalencia y severidad de la enfermedad.

A pesar de su alta prevalencia, la caries dental no afecta por igual a todas las personas. Estudios epidemiológicos de caries de principios de los años ochenta (20), iniciaron la documentación de la distribución no proporcional de la experiencia de caries en la población a nivel mundial. Entre 1977 y 1982 la Universidad de Carolina del Norte condujo el Programa Nacional de Demostración de Odontología Preventiva (NPDDP) Y uno de sus hallazgos más relevantes, fue que entre el 60% y 70% del total de dientes con experiencia de caries se concentraba en aproximadamente el 20% de la población escolar (20). Esta tendencia en la distribución de la enfermedad, fue confirmada en otros países industrializados (4, 21). En nuestro país, un estudio realizado en el Distrito Federal con 4,410 escolares en el año de 1988, permitió identificar una proporción de 18.78% niños con alta experiencia de caries, confirmando la distribución de la enfermedad que se estaba reportando a nivel mundial (22)

De estudios epidemiológicos a nivel mundial se ha podido establecer, que la prevalencia de estos grupos de individuos mas afectados por la enfermedad comprende entre el 10% y 20% de la población (23, 24). Por otra parte los estudios han mostrado que a pesar de los grandes esfuerzos de prevención realizados en países desarrollados, estos grupos de población continúan siendo severamente afectados por la enfermedad (6, 20, 21, 25).

El panorama que presenta la caries dental a nivel mundial puede por lo tanto, ser caracterizado de la siguiente manera:

- 1.- Una declinación en la tendencia de la enfermedad en niños en países desarrollados.
- 2.- Una alta prevalencia y severidad de la enfermedad tanto en niños como en la población adulta, en países en desarrollo.

3.- La existencia de grupos de alto riesgo, tanto en países desarrollados como en países en desarrollo, en quienes la enfermedad se manifiesta de forma muy severa, afectando un alto número de dientes y ocasionando una rápida destrucción del tejido dental.

El estudio de los parámetros determinantes de la condición de alto riesgo a caries es de suma importancia debido a que: 1) Se ha establecido que esta condición afecta a una proporción importante de la población. 2) Los métodos preventivos actuales no han logrado el control de la enfermedad en éstos grupos. 3) La atención dental de estos grupos implica un alto costo debido al gran número de lesiones que presentan y al rápido progreso de las mismas. 4) En esta población se concentra el mayor número de dientes afectados por la enfermedad, por lo que si se consigue encontrar métodos que permitan prevenirla o controlarla se lograría un impacto importante en los índices poblacionales de la enfermedad. 5) El costo de las acciones de salud puede disminuir de manera importante si se destina a esta población con métodos efectivos para ellos

Mi experiencia en trabajos de investigación sobre grupos de alto riesgo (22, 26 -32), me permitió proponer la hipótesis de que en estos individuos las características del diente en sí, favorecen el avance rápido de las lesiones. El desarrollo de un programa de atención dental dirigido a estos grupos de población (33), permitió la observación, durante el trabajo clínico, de diferencias en estos sujetos en cuanto a la resistencia del tejido al corte con la fresa dental, la difusión de la lesión en el tejido y el comportamiento al gravado ácido entre otras. Estas observaciones permitieron delinear la hipótesis que fundamenta el presente trabajo: **“existen diferencias en la estructura, composición química y propiedades mecánicas del esmalte que favorecen una mayor severidad del proceso carioso en los sujetos de alto riesgo a caries dental”**.

Este trabajo aborda, por lo tanto, el estudio del esmalte dental como un factor del huésped cuyas características pueden actuar como un elemento subyacente que favorece la acción de los factores causales del proceso carioso, ocasionando una manifestación más severa de éste.

Las características del esmalte dental, su estructura, composición química y propiedades mecánicas se estudiaron comparándolos entre sujetos de alto y bajo riesgo a caries, con el objetivo de identificar diferencias, si es que estas existen, en las características del esmalte dental que puedan influir en el proceso de caries para que éste se manifieste con mayor severidad. Se utilizaron dientes premolares extraídos por razones ortodóncicas, de personas que en base a su experiencia de caries fueron calificadas como de alto y bajo riesgo a caries. Las muestras fueron cuidadosamente preparadas de acuerdo a los métodos específicos para cada técnica. Para el estudio de la dureza del esmalte se empleó el método Vickers. La estructura interna y de la superficie del diente fueron observadas por microscopía de luz y microscopía electrónica de barrido, y el análisis químico se llevó a cabo utilizando espectroscopia de energía dispersada de rayos X característicos (EDS).

Los resultados mostraron diferencias tanto en las variables cualitativas (estructura interna y de la superficie) como en las variables cuantitativas (microdureza y análisis químico), que confirman que el esmalte dental en sujetos de alto riesgo a caries presenta características que pueden influir en la mayor severidad de la enfermedad observada en estos sujetos. Sin embargo, aún falta mucho camino por recorrer en la identificación de los factores determinante y las interacciones que entre ellos se dan para llegar a la determinación de la secuencia etiológica precisa del proceso de caries en esta población.

Estos resultados son, sin duda alguna, una aportación importante a la investigación del proceso en estudio, ya que se establece la existencia de diferencias en las características del esmalte las cuales deben ser consideradas en los diseños de investigación, debido a que estas características afectarán el resultado de los estudios futuros, ya sea de métodos preventivos o factores etiológicos, que sobre el proceso de alto riesgo a caries se lleven a cabo.

La presentación escrita del presente trabajo se ha dividido en cuatro capítulos. El primer capítulo de esta tesis presenta los conceptos básicos, tanto del tema central como de los métodos y técnicas empleadas. Debido a que el estudio del riesgo en caries es un campo relativamente reciente, gran parte de los conceptos han sido concluidos, integrando diversos aspectos de estudios específicos del tema. El segundo capítulo detalla los métodos y el

proceso experimental llevados a cabo. En el tercer capítulo se describen los resultados lo más concretamente posible. La discusión trata de integrar los resultados al estado actual del conocimiento sobre el tema y se presenta en el capítulo cuatro. Finalmente se ofrecen las conclusiones y las propuestas para continuar la investigación sobre este tema.

Este trabajo fue realizado en el Instituto de Física de la UNAM, cuya infraestructura cuenta con tecnología avanzada, lo que permitió no sólo el empleo de técnicas sofisticadas como el análisis químico en zonas específicas del esmalte íntegro, sino también y no menos importante, la interacción con profesionistas de las áreas de la ciencias de Física y de Materiales, que propiciaron un enfoque diferente en el análisis del esmalte dental.

Esta tesis tuvo la fortuna de ser aceptada para su dirección por el **Doctor José Reyes Gasga**, cuyos conocimiento y experiencia, derivados de un largo trabajo de investigación de mas de 10 años, sobre esmalte dental, fueron sin duda la mayor aportación a la realización del presente trabajo.

I. Definición del problema

La caries dental, como otras patologías, no afecta por igual a toda la población, identificándose estratos polares en la distribución de la enfermedad, es decir, grupos de individuos no afectados por la enfermedad o con manifestaciones muy leves de ésta y grupos de individuos más susceptibles, en quienes la enfermedad se manifiesta con mucho mayor severidad.

Las características del esmalte dental, como su estructura composición química y propiedades mecánicas pueden ser factores determinantes en la condición de mayor susceptibilidad en los sujetos de alto riesgo a caries.

El estudio comparativo del esmalte dental de personas de alto riesgo tomando como parámetro de referencia el de personas libres de caries, nos permitió llegar a un estudio detallado de sus características y comentar sus posibles diferencias.

II. Objetivo

Identificar diferencias, si es que estas existen, en las características de estructura, composición química y propiedades mecánicas del esmalte dental entre sujetos de alto riesgo y sujetos libres de caries.

III. Hipótesis

Las hipótesis de trabajo a comprobar en el presente trabajo de tesis son las siguientes:

H1: Existen diferencias en la estructura del esmalte dental entre sujetos de alto riesgo y sujetos libres de caries, que favorecen el avance de esta enfermedad.

H2: Existen diferencias en la composición química del esmalte dental entre sujetos de alto riesgo y sujetos libres de caries, que son los que propician en avance de esta enfermedad

H3: Existen diferencias en las propiedades mecánicas, particularmente la de dureza, del esmalte dental entre sujetos de alto riesgo y sujetos libres de caries, que los expone a presentar esta enfermedad con mayor facilidad.

IV. Justificación

La existencia de grupos de alto riesgo a caries en la población, caracterizados por presentar un temprano y rápido progreso de los síntomas de la enfermedad, las lesiones cariosas, hace necesario el desarrollo de medidas de prevención y/o control de la enfermedad que permitan disminuir el impacto negativo en la salud oral de éste grupo específico de la población. Por supuesto, el desarrollo de estas medidas sólo puede provenir del conocimiento de los factores que determinan esta condición de alto riesgo. El esmalte dental es el tejido en el que se inicia el proceso de caries, y un factor importante en su desarrollo, por lo que el estudio de sus características aportará información sobre su importancia relativa en la condición de mayor susceptibilidad en los sujetos de alto riesgo a caries dental.

Capítulo 1

CONCEPTOS FUNDAMENTALES

1.1. Caries dental y alto riesgo

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la caries como un proceso patológico de origen externo, que se inicia después de la erupción y determina un reblandecimiento del tejido duro del diente evolucionando hacia la formación de una cavidad (34).

La incidencia alarmante de caries en el mundo desde principios del siglo pasado hasta los años setenta, motivó que la educación dental y por lo tanto la profesión odontológica, estuvieran principalmente ligadas al estudio de los síntomas de la enfermedad. Un conocimiento inadecuado de la etiología y patogénesis de la enfermedad condujo a que el tratamiento de la caries fuera sinónimo de la restauración de los dientes cariados. El papel dominante de los síntomas, es decir, el dienteariado y las extracciones y obturaciones aparentemente inevitables, se reflejó también en la manera de describir el patrón de la enfermedad. Así, el índice CPO (número de dientes cariados, perdidos u obturados) es una medida de síntomas sólo en término de dientes o superficies cariados, perdidos y obturados y no refleja el carácter dinámico del proceso de la enfermedad (35).

Con la declinación en la prevalencia de caries en las poblaciones jóvenes de los países industrializados a principios de los años ochenta, se pone de manifiesto la distribución no proporcional de la experiencia de caries en la población. Esta situación lleva a establecer diferencias en el comportamiento de la enfermedad entre la población y a concluir que existe una proporción importante de ésta, en la que la enfermedad se manifiesta de forma muy severa, ocasionando un alto número de dientes afectados por lesiones cariosas extensas y la pérdida temprana de órganos dentales.

Simultáneamente la investigación biológica mostró que el desarrollo de la caries implica una amplia gama de cambios, desde la disolución submicroscópica hasta alcanzar un nivel tal que permite que sea observada a simple vista. A lo que nos referimos como caries no es un evento singular, sino más bien el resultado de una acumulación de eventos, un proceso prolongado sobre un periodo de tiempo. Así el proceso de caries es un proceso dinámico de

desmineralización y remineralización resultado del metabolismo bacteriano sobre la superficie del diente, el cual con el tiempo puede resultar en una pérdida neta de mineral y subsecuentemente puede provocar una cavidad (7). Esta comprensión de la naturaleza dinámica del proceso de caries tuvo gran repercusión en la forma de estudiarla (35, 36).

Puede decirse que hasta este momento el paradigma sobre el que se basó la investigación de caries era que la lesión iniciada inevitablemente conducía de forma rápida a la destrucción total del diente. **Actualmente se ha reconocido que la enfermedad no afecta por igual a todas las personas, que existen sujetos mas afectados por la enfermedad y que la diferencia básica del comportamiento de la enfermedad en la población es la velocidad con la que las lesiones progresan (37).**

Esta importante declaración reúne los dos conceptos que fundamentan el nuevo enfoque del estudio de la caries, el enfoque de riesgo; 1) la distribución no proporcional de las lesiones cariosas, indicando una diferente probabilidad o riesgo de la severidad de la enfermedad en la población, y 2) considerar a la enfermedad como un proceso dinámico y, por tanto, con una velocidad que marca la diferencia de la manifestación de la enfermedad en la población.

Considerando estos dos conceptos, las personas con la mayor probabilidad de presentar múltiples lesiones cariosas y que éstas progresen de forma rápida hacia la destrucción total del diente son consideradas como de “alto riesgo a caries”.

Un gran número de investigaciones en la última década se han dirigido a los determinantes del riesgo a caries. Sin embargo, esta no ha sido una tarea fácil debido a que la caries es el resultado de complejas interrelaciones entre múltiples factores, por lo que en la actualidad la determinación del riesgo, se considera una ciencia en desarrollo (38).

El desarrollo de modelos matemáticos multivariados, que han permitido el análisis simultáneo de variables relacionadas con la caries, han concluido que hasta la fecha la variable más asociada a la condición de alto riesgo, o que puede identificar mejor a este grupo, es la experiencia previa de caries (20, 27, 39). Así, debido a que el conocimiento actual de la enfermedad de caries, sólo nos permite definirla con base en sus síntomas, las

lesiones, puede definirse a la población de alto riesgo a caries como: **Aquellos individuos que presentan lesiones cariosas tempranas y de progreso rápido.**

Hablar de “progreso rápido de las lesiones” implica incluir un parámetro de velocidad en la definición. Sin embargo, no es posible establecer un punto de corte para definir la velocidad del proceso en los grupos de alto riesgo, por diversas razones: 1) las observaciones deben provenir de estudios longitudinales, los cuales no son los más frecuentes en la investigación del proceso de caries. Por otra parte, la velocidad de este proceso se verá afectada por diferentes factores en las distintas poblaciones, como la edad de la población estudiada, el estado socioeconómico y factores ambientales como la presencia de fluoruros, entre otros. 2) el índice normalmente usado para medir experiencia de caries se basa en el número de dientes afectados y no toma en cuenta aspectos cualitativos de la magnitud de las lesiones que son de suma importancia en la determinación de la velocidad de la enfermedad (22, 26). En México un estudio en 1892 escolares de 6 a 8 años de edad mostró que después de 3 años de observación, los niños de alto riesgo presentaron 3.19 veces más primeros molares afectados por caries que los niños de bajo riesgo, mientras que la frecuencia de lesiones severas de caries en estos dientes fue hasta 9.5 veces mayor para los niños de alto riesgo. Estos resultados mostraron que la diferencia más importante al comparar estos grupos es la velocidad con la que las lesiones progresan. Así el incluir criterios cualitativos permite una mejor determinación de la severidad del proceso carioso (27).

Debido a que la experiencia de caries es una medida acumulativa basada en las lesiones pasadas y actuales y de su severidad, expresada en restauraciones de diferente tamaño o la pérdida de dientes, es válido considerar que al comparar la experiencia de caries de sujetos con edad similar y por tanto con similar tiempo de exposición de los dientes al medio ambiente oral, las diferencias observadas en el número de dientes afectados, pero sobre todo en la severidad de las lesiones presentes, se atribuya a una mayor velocidad del proceso de caries, y por tanto a un mayor riesgo, en los individuos que presenten una mayor severidad en el estado actual de la experiencia de caries.

Así, para el presente trabajo se define a los sujetos de alto riesgo como aquellos sujetos que presentan lesiones extensas y múltiples dientes afectados por caries.

A pesar de que el enfoque de riesgo en caries se inicia desde principios de los años noventa, ya en 1989 se realiza la 1ª Conferencia sobre evaluación del riesgo en odontología (40). Este enfoque ha trascendido en la investigación, mas a nivel poblacional que a nivel básico, por lo que prácticamente no se encuentran estudios a éste nivel sobre factores etiológicos de la condición de alto riesgo.

La investigación de los factores que determinan la condición de mayor severidad del proceso carioso en los grupos de alto riesgo, se ha centrado en los factores conocidos asociados a la enfermedad (40) Desde el modelo etiológico de caries que se basa en el modelo propuesto por Keyes en 1962 (41) la caries se considera el resultado de tres factores principales: el huésped, el agente y el medio ambiente Dada la naturaleza multifactorial de la enfermedad, mediante el empleo de análisis multivariado se han desarrollado modelos que permiten evaluar la interacción entre diversos factores (42), sin que hasta la fecha se tengan resultados concluyentes sobre los determinantes de esta condición.

El estudio de los factores etiológicos identificados en el proceso de caries no ha podido ser relacionado a la condición de alto riesgo. Pearce (43) concluye que las variables salivales como pH, capacidad buffer, concentración de calcio y fósforo y la supersaturación con respecto a hidroxapatita han sido evaluadas para riesgo de desarrollar caries sin mayor logro. Los factores microbiológicos han mostrado que esta variable por si misma, no ha tenido una asociación importante con la condición de alto riesgo. Vann Hout (44) en una revisión sobre los predictores microbiológicos de riesgo a caries encuentra que los microorganismos mas asociados a caries son el *S.mutans* y el *Lactobacilo*. Sullivan (45) en su estudio sobre incidencia de caries encuentra que los individuos que desarrollaron un considerable número de lesiones no estaban infectados o presentaban valores bajos de estos microorganismos, mientras que otros altamente infectados no presentaron lesiones.

Con respecto al huésped, el factor mas mencionado es el diente, concretamente el esmalte dental. Pero a pesar del importante papel que se le da al esmalte dental en el proceso carioso, su estructura y composición química no se toman como factores que influyan o

modifiquen el proceso. Esto se hace evidente al revisar la literatura y ver, la gran cantidad de estudios que se hacen sobre el esmalte dental, sin considerar que pueden existir variaciones en las características de éste que influyan en la respuesta al factor o método preventivo que se está estudiando.

En parte esta situación puede explicarse debido a que, a pesar de los avances tecnológicos actuales, la composición y estructura molecular del esmalte no han sido completamente resueltas (46), y no puede entonces establecerse un parámetro de normalidad de las características del esmalte. Por lo que una alternativa es considerar que el esmalte dental en los sujetos que no presentan la enfermedad o que no la presenta de forma tan severa, pueden tener características más cerca a lo normal o bien más adecuadas para resistir al medio ambiente oral.

Por lo tanto, si realmente el esmalte puede considerarse un factor en el proceso de caries en los sujetos de alto riesgo, deben identificarse diferencias al comparar las características del esmalte entre los sujetos que muestran manifestaciones de la enfermedad con diferente severidad.

Por lo que se consideró que el mejor diseño para dar respuesta a la hipótesis propuesta, era un estudio comparativo sobre las características estructurales, químicas y mecánicas del esmalte entre estos sujetos.

No existen en la literatura modelos etiológicos específicos para la condición de alto riesgo a caries. Si bien se asume que se trata del mismo proceso de caries, en las personas de alto riesgo este proceso se desarrolla con mayor velocidad. Por lo tanto es lógico pensar que existan otros factores que determinen esta mayor velocidad del proceso, ya sea factores que no se han identificado y que modifiquen directamente el proceso o bien factores que influyan en los factores ya conocidos modificando el efecto de éstos.

El modelo conceptual propuesto por Keyes ilustra bien los mecanismos biológicos para el desarrollo de caries. Este modelo se basa en la información obtenida de investigaciones biomédicas experimentales, posteriormente confirmadas a través de estudios epidemiológicos y ha sido usado para el control de la caries en países industrializados. Pero para la investigación futura, particularmente en grupos e individuos de “alto riesgo” quienes continúan siendo severamente afectados por la enfermedad, a pesar de todos los

programas realizados, existe una importante necesidad de modelos alternativos que puedan explicar los determinantes de esta condición de “alto riesgo”.

Dentro de la odontología se han propuesto varios modelos conceptuales de diferente complejidad basados ya sea en la filosofía biomédica o en la filosofía psicosocial. Estos conceptos, sin embargo, no son contradictorios sino más bien complementarios y la combinación de ambos resulta una importante contribución a la explicación del proceso de caries (47).

Una aproximación socioecológica a los determinantes del proceso de caries dental es el modelo propuesto por Eriksen y Bjertness (47). En este modelo se combinan los determinantes biológicos y psicosociales en un contexto holístico dinámico. Según este autor una limitación común a la aproximación multifactorial es que algunos de los factores agrupados son conceptuales y no han sido suficientemente probados a nivel científico. Estos pueden ser así intelectualmente estimulantes pero no muy clarificadores con respecto a la importancia relativa con el estado de salud o enfermedad oral, por lo que su valor diagnóstico es limitado.

Con este fundamento, aun cuando su modelo es holístico, el autor sólo considera aquellos factores que han sido estudiados.

Para una visión más completa de los factores que intervienen en el proceso de caries, este modelo puede complementarse con los factores considerados en el modelo propuesto por Burt (37) el cual coincide también con los tres círculos del modelo biomédico de Keyes e incluye en estos círculos a los factores psicosociales, pero a diferencia del modelo de Eriksen y Bjertnes no los considera como factores externos que influyen dinámicamente en los factores biológicos internos. La combinación de estos modelos se presenta en la figura 1 y es el modelo conceptual que servirá de base para el desarrollo del presente trabajo.

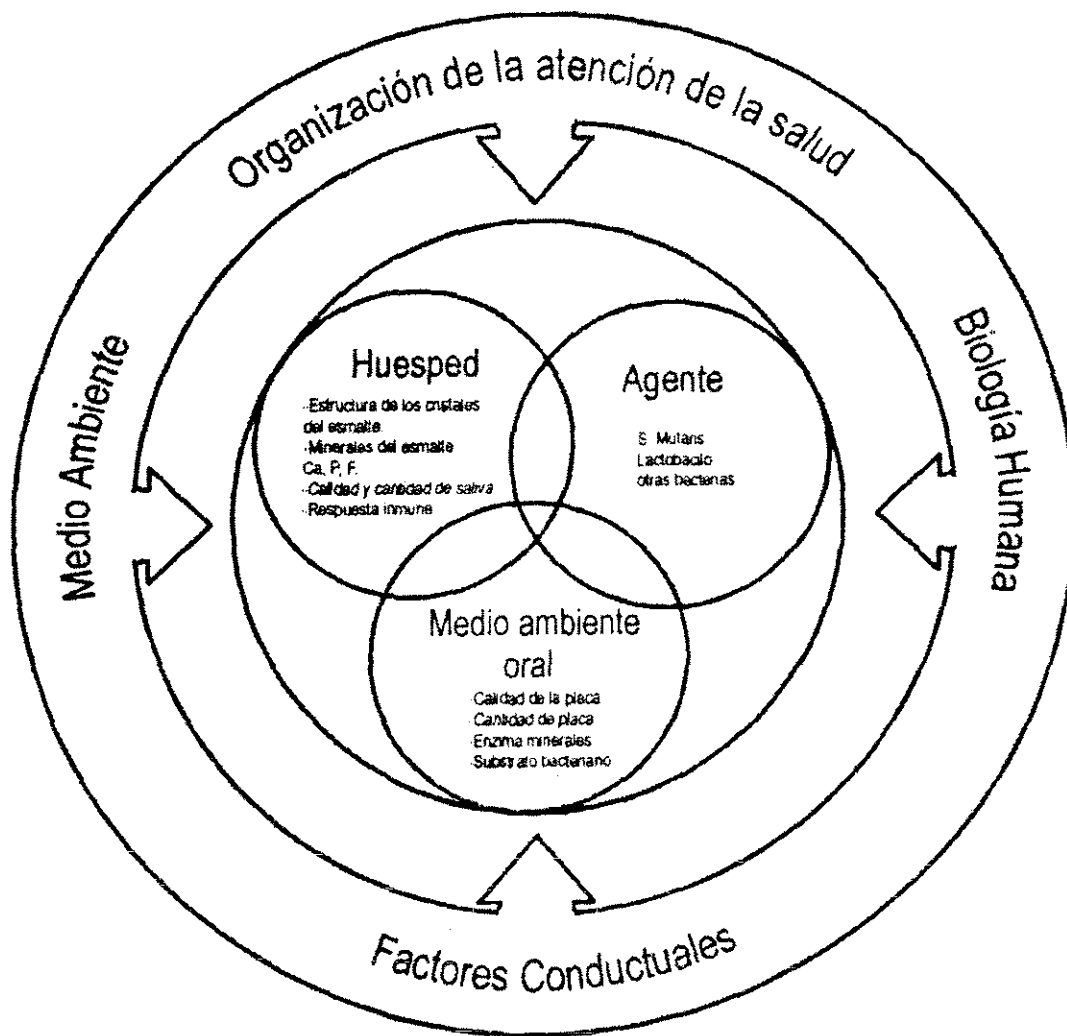


Figura 1 Modelo conceptual que sirve de base para el presente trabajo

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1.2 Esmalte dental

1.2.1. Estructura

El esmalte forma una cubierta protectora de grosor variable sobre la superficie completa de la corona. En las cúspides de los molares y premolares alcanza un espesor máximo de 2 a 2.5 mm. adelgazándose a nivel del cuello. La unidad histológica básica del esmalte dental en los mamíferos es el prisma y cada prisma comprende un gran número de cristales de hidroxiapatita.

En sección longitudinal, el esmalte se observa formado por prismas de 3 a 6 μm de diámetro. La mayoría de los prismas parece atravesar el espesor completo del tejido, su dirección sigue el camino del ameloblasto durante el desarrollo, en las regiones de la cúspide y el borde incisal los prismas corren perpendiculares a la superficie del diente. En las superficies laterales la dirección de los prismas, desde la unión amelodentinaria a la superficie es inclinada, en el esmalte interno los prismas siguen un camino ondulado.

En sección transversal la forma de los prismas varía de acuerdo a la técnica empleada para preparar el tejido y a la orientación de la sección o superficie observada. En la mayoría de las áreas del esmalte humano los prismas aparecen con forma de ojo de cerradura; con la cola de un prisma cayendo entre las cabezas de dos prismas inferiores. Sin embargo, no todo el esmalte humano muestra un patrón en ojo de cerradura, comúnmente se observan tres formas: En el patrón 1 los prismas parecen completamente circulares, este patrón se encuentra más frecuentemente cerca de la unión amelodentinaria. En el patrón 2 los prismas están arreglados en columnas longitudinales. En el patrón 3 los prismas están alineados en columnas pero están alternados para dar la forma de ojo de cerradura (48).

Existe también el esmalte aprismático, la superficie del esmalte es frecuentemente aprismática, puede haber también una muy delgada capa aprismática inmediatamente adyacente a la unión amelodentinaria. El esmalte aprismático difiere del esmalte prismático en que en el primero sus cristales se alinean paralelos y el último muestra, en el límite de los prismas, cambios abruptos en la orientación de los cristales.

En algunas zonas los prismas pueden aparecer rodeados de un material al que se denomina sustancia interprismática, anteriormente se pensó que ésta formaba una vaina orgánica alrededor del prisma. Es ahora claro que la región interprismática es también cristalina pero da un diferente efecto óptico debido a que los cristales en esta zona se inclinan de 40° a 60°

con respecto a los cristales dentro del prisma. La sustancia interprismática es de hecho muchas veces la cola de un prisma adyacente a la cabeza de otro.

Las diferentes reacciones del centro y de la periferia del prisma a los agentes desmineralizantes son una evidencia que favorece el punto de vista que estas dos regiones tienen diferentes propiedades físicas y/o químicas. Los ácidos diluidos atacan principalmente el centro del prisma. Los agentes quelantes atacan principalmente la frontera o el límite de los prismas. Usando ácidos fuertes una gran variedad de patrones de desmineralización pueden ser producidos sobre una misma superficie dental. En el patrón 1 se ve atacado preferencialmente el centro del prisma. En el patrón 2 se ataca preferencialmente el límite de los prismas y el patrón 3 muestra un grabado que no parece relacionarse a la morfología del esmalte. La ausencia de un patrón común de grabado con ácidos fuertes puede indicar variación regional en la estructura y propiedades de los prismas (48).

Líneas incrementales y bandas de Hunter-Schreger.

Existen dos tipos de líneas incrementales en el esmalte, como resultado de la aposición sucesiva de capas de tejido durante la formación de la corona: las estriaciones transversas y las estrías de Retzius. Las estriaciones transversas son marcadores de periodos cortos vistos sobre cada prisma de forma individual. Las estrías de Retzius son marcadores de periodos largos, éstas corren oblicuamente a través del espesor del esmalte.

Observándose al microscopio con luz transmitida, reflejada o polarizada o por campo oscuro o por contraste de fase, las estriaciones transversas pueden ser vistas atravesando el prisma en ángulo recto a su eje longitudinal. Estas pequeñas líneas representan probablemente incrementos diarios de crecimiento durante la formación del esmalte. En el esmalte de dientes deciduos el intervalo entre estriaciones transversas es aproximadamente 5 μm . En el diente permanente el intervalo varía de 2.5 μm a 7 μm , con los valores pequeños encontrados cerca de la unión amelodentinaria y en la superficie del esmalte. Las estriaciones transversas no se han visto con microscopio electrónico de transmisión. Con microscopio electrónico de barrido, se han observado fracturas de los prismas que muestran variaciones en amplitud a intervalos regulares correspondiendo a las estriaciones transversas descritas con microscopio de luz. Las estriaciones transversas pueden estar

también relacionadas a diferencias en composición química de la fase orgánica de la formación del esmalte durante el ciclo circadiano.

Aunque las estriaciones transversas se tiñen intensamente con colorantes orgánicos en secciones parcialmente desmineralizadas, no se ha establecido ninguna variación en su composición química (48).

Las estrías de Retzius

Son una serie de líneas oscuras irregularmente espaciadas que corren oblicuamente a través del esmalte, atravesando los prismas en dirección de la unión amelodentinaria, estas líneas sobre el borde incisal y la cúspide no alcanzan la superficie dental. Las estrías en las superficies laterales usualmente alcanzan el borde externo del esmalte para formar las periquimatas. Las estrías de Retzius están separadas entre 20 μm y 80 μm y su amplitud puede variar de 4 μm a 15 μm . Hay líneas incrementales marcando la posición del esmalte en desarrollo a intervalos aproximadamente semanales. Existen aproximadamente siete estriaciones transversas entre estrías consecutivas.

El patrón de las estrías varía de un individuo a otro, pero es similar en diferentes dientes de un mismo individuo. Esto sugiere que un factor sistémico es responsable de su desarrollo. El esmalte de dientes deciduos tiene menos estrías que el de dientes permanentes.

En sección transversal las estrías de Retzius se observan como anillos concéntricos muy similares a los anillos de crecimiento en un árbol.

Las estrías de Retzius son menos pronunciadas y aún pueden estar ausentes en el esmalte formado prenatalmente. El disturbio del nacimiento resulta en la formación de una estría particularmente exagerada, la línea neonatal. Después de la línea neonatal, los prismas cambian su espesor y su dirección (48)

Bandas de Hunter-Schreger

Los prismas alcanzan la superficie dental a un ángulo de aproximadamente 60° y no siguen un curso recto desde la unión amelodentinaria a la superficie, sino que hace unas cuatro o cinco curvas antes de dirigirse en forma recta a la superficie, su dirección refleja el movimiento de los ameloblastos durante la formación del esmalte. El cambio en la

dirección y arreglo de los prismas es responsable de la apariencia histológica característica del esmalte conocida como bandas de Hunter- Schreger y esmalte nudoso

Las bandas de Hunter-Schreger se observan como amplias bandas claras y oscuras alternadas, estas se encuentran en la mitad o dos tercios del esmalte interno. Las bandas son el resultado de variación en el curso de grupos adyacentes de prismas. Los mecanismos fundamentales, durante el desarrollo del esmalte, necesarios para dirigir a los ameloblastos a pasar en diferentes capas unos entre otros no se conocen.

Funcionalmente, los cambios en la dirección de prismas entre diferentes capas puede incrementar la fuerza del tejido, haciéndolo menos propenso a la fractura y mas resistente al uso.

En las regiones de la cúspide e incisal pueden encontrarse marcados cambios de dirección de los prismas, aquí se ha sugerido que hay cambios espirales en la dirección del prisma, formando lo que se conoce como esmalte nudoso. Este esmalte nudoso únicamente se observa donde el corte no pasa a través de la cúspide. En otros cortes, en lugar de apariencia nudosa es posible alinear el plano de sección y la dirección de los prismas muestra bandas de Hunter-Schreger (48).

La unión amelodentinaria y estructuras asociadas.

El análisis de la superficie del esmalte en contacto con la dentina, presenta ondulaciones las cuales ajustan en las depresiones de la dentina. Las estructuras asociadas con la unión amelodentinaria son penachos, husos adamantinos y lamelas o laminillas del esmalte.

Penachos.

En secciones pulidas, estructuras con apariencia de penachos son observados en el tercio interno del esmalte, con sus bases en la unión amelodentinaria. Estas estructuras parecen viajar en la misma dirección de los prismas y están onduladas en la vaina del prisma. Los penachos son hipomineralizados y son así evidentes en secciones de esmalte desmineralizadas. Estos penachos se presentan a intervalos de aproximadamente 100 μm a lo largo de la unión amelodentinaria. Cada penacho tiene una amplitud de algunos prismas. Se ha sugerido que los penachos son prismas parcialmente mineralizados, con más matriz

orgánica que otras partes y con exagerado material interprismático. Debido a su orientación vertical pueden ser mejor observadas en sección transversal (48).

Lamelas o laminillas del esmalte

Las lamelas son láminas hipomineralizadas las cuales usualmente corren a través del espesor total del esmalte. Ocasionalmente, están restringidas a la periferia, igual que los penachos se observan mejor en sección transversal del diente. Las lamelas son más estrechas y largas que los penachos. Las lamelas surgen, ya sea porque grupos de prismas no son mineralizados completamente o debido a fracturas que aparecen en el esmalte (durante el desarrollo o bien después de la erupción) en las cuales se acumula material orgánico. Las lamelas son menos comunes que los penachos y son solitarias o irregularmente ordenadas. Pueden extenderse hasta la dentina y, a veces penetrar en ella. En cortes por desgaste estas estructuras pueden confundirse con fisuras ocasionadas por el desgaste del espécimen.

Husos adamantinos.

Son estructuras cilíndricas con forma de palo que se extienden de la superficie de la dentina hasta 10 a 40 μm dentro del esmalte. Están particularmente debajo de las cúspides y bordes incisales. A diferencia de los penachos, no están alineadas con el prisma y se ven mejor en sección longitudinal del diente. Algunos de los husos adamantinos parecen continuarse con los túbulos dentinarios y consecuentemente se piensa que son formados por el proceso odontoblástico (48).

La superficie del esmalte.

La superficie del esmalte ha recibido particular atención debido a su importancia en la iniciación de la caries dental y por la adhesión de materiales plásticos restaurativos.

Física y químicamente la superficie del esmalte difiere marcadamente de la subsuperficie.

La capa más externa del esmalte puede ser aprismática debido al arreglo paralelo de los cristales del esmalte. Las estrías de Retzius emergen a la superficie del esmalte donde se relacionan con una serie de surcos, las periquimatas.

El diente permanente recientemente erupcionado muestra un patrón ondulado de anillos concéntricos paralelos a la unión cemento-esmalte. Las elevaciones son conocidas como líneas de imbrincación o de Pickerill y los surcos entre ellas son las periquimatas. En los dientes deciduos, las periquimatas son poco frecuentes. Las periquimatas son rápidamente eliminadas por la atrición o por abrasión y se encuentran con mayor frecuencia en áreas protegidas.

En algunas áreas, particularmente las cervicales, donde el reducido epitelio del esmalte persiste por algún tiempo después de la erupción, pequeños puntos son vistos dentro de las periquimatas, estos representan la impresión de los procesos de Tomes de los ameloblastos y son de 1 a 15 μm de profundidad

Agujeros y capuchones del esmalte

En áreas limitadas de la superficie del esmalte (particularmente sobre las superficies laterales) pueden observarse pequeñas elevaciones de tamaño y distribución irregulares. Las elevaciones son de 10 a 15 μm de amplitud y se conocen como capuchones o proyecciones sobresalientes de la superficie, se piensa que pueden resultar de la incorporación en el tejido, de material no mineralizable, durante el último estado de su desarrollo. Los agujeros focales o puntos profundos aislados parecen ser formados cuando los capuchones del esmalte son removidos por abrasión (48)

Estructura cristalina

El esmalte está formado por prismas cuya sección transversal muestra un diámetro de 3.6 μm para el esmalte del diente deciduo y 5.6 μm para el esmalte del diente permanente. Estudios del esmalte por microscopio electrónico de transmisión (MET) han mostrado que los prismas están formados por pequeños cristales de dimensiones nanométricas, elongados en sección longitudinal y con forma cercana a la hexagonal en sección transversal. Imágenes de campo claro, obtenidas por TEM reportaron para estos cristales, diámetros de 51 nm y longitudes de 600 nm (para algunos cristales la longitud alcanzó 800 nm). Con el empleo de técnicas de alta resolución, se encontró, que existe una sustancia amorfa entre los granos, que probablemente pudiera ser remanente de materia orgánica. (49)

1.2.2. Análisis químico

Desde 1926, usando difracción de rayos X y análisis químico, la fase mineral del esmalte se identificó como fosfato de calcio con estructura de apatita, idealizada como $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Sin embargo en la actualidad, debido a la no estequiometría y a la presencia de elementos minoritarios y traza, la composición exacta y la estructura de la fase mineral del esmalte permanece sin resolver. (46)

Químicamente las apatitas tienen composiciones que son variantes de la fórmula $\text{D}_5\text{I}_2\text{M}$, donde D es un catión divalente, I es un anión compuesto tetrahedral trivalente y M es un anión monovalente. La unidad básica del cristal de apatita contiene dos unidades de la fórmula $\text{D}_5\text{I}_2\text{M}$. Debido a que sustituciones iónicas pueden suceder en varios sitios dentro de la unidad básica, la estequiometría de la estructura de la apatita es convencionalmente expresada en términos de los contenidos de la unidad celular completa. El compuesto mineral del esmalte es frecuentemente descrito como forma impura de hidroxiapatita. $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.

Las apatitas biológicas se caracterizan por su relación molar calcio/fósforo. Para la hidroxiapatita pura la relación molar es 1.67 igual que para la fluorapatita y clorapatita debido a que las sustituciones se dan en los grupos hidroxilo. Las variaciones en la composición de aniones monovalentes no afecta la relación molar Ca/P, por el contrario la sustitución de otros cationes divalentes por el calcio, afectan la relación molar calcio/fósforo, disminuyéndola. Por ejemplo, si un anión divalente, el fosfato ácido reemplaza al ión fosfato trivalente, los dos aniones tienen una geometría tetrahedral pero para mantener el balance de la carga, un ión potasio monovalente reemplaza a uno de los iones calcio, disminuyendo así la relación molar Ca/P. En el caso de la incorporación de carbonato a la hidroxiapatita, un ejemplo de la sustitución posible es que un anión divalente de carbonato sustituye a un fosfato trivalente, el balance de la carga es mantenido por el reemplazo del ión calcio con un catión monovalente de sodio. El sodio, el potasio, fosfato ácido y carbonatos son iones encontrados en las apatitas biológicas (46).

El análisis químico indica que el esmalte tiene una composición excesivamente compleja. El contenido de calcio y fósforo del esmalte es usualmente menor que el encontrado en las apatitas de fosfato de calcio puro, pero es la relación molar Ca/P menor a la usualmente

encontrada en el esmalte la que hace que se considere al esmalte como una apatita deficiente en calcio.

Mientras la mayor parte de fosfato contenido en el esmalte corresponde a fosfato trivalente, el contenido de fosfato ácido divalente en el esmalte sano es de aproximadamente 5% en peso, es probable que los requerimientos de balance de carga debido a esta sustitución sean en parte responsables de la relación Ca/P menor a la ideal en el esmalte. Aún cuando se ha propuesto un número de mecanismos plausibles de sustitución que pudieran contribuir a la “deficiencia de calcio” en el esmalte, el mecanismo correcto de sustitución no ha sido probado experimentalmente.

El esmalte contiene apreciables cantidades de carbonato, es por esto que algunas autoridades prefieren caracterizar al esmalte como una apatita carbonatada, evitando así las implicaciones de simplicidad y homogeneidad de composición que podrían ser erróneamente asumidas cuando se refiere al mineral del esmalte como hidroxiapatita. La composición del mineral del esmalte es mucho más compleja que la que se representa por su fórmula, ya que un gran número de componentes principalmente cationes que han sido detectados en el esmalte en cantidades trazas, no son considerados, además del agua que es otro componente de importancia. El agua es un componente significativo del esmalte, pero poco se sabe acerca del sitio que ocupa esta molécula de agua (46).

Es importante enfatizar que una unidad básica puede no presentar una composición tan compleja, el esmalte debe estar compuesto por un variedad de composiciones simples. La no uniformidad en la composición del esmalte implica variaciones de unidad celular a unidad celular o de cristal a cristal. Actualmente se conoce que la composición química varía de un individuo a otro, de un diente a otro e igual muestra variaciones dentro de un mismo diente y dentro de una sección dada del esmalte. Aparentemente la composición elemental del esmalte maduro depende de la concentración de iones presentes en los diferentes estados de desarrollo y de la historia ambiental del diente maduro. La concentración de algunos componentes varía con la distancia a la superficie del diente. Por ejemplo la concentración de fluoruro es usualmente mayor en la superficie y decrece a medida que se acerca a la unión amelodentinaria. La concentración de carbonato sigue un patrón inverso y algunos otros iones como el estroncio presentan una distribución uniforme. Así el análisis químico indica que el esmalte no es una sustancia simple, sino que contiene

una gran variedad de constituyentes menores que están distribuidos en varios patrones dentro del mineral.

La hidroxiapatita estequiométrica, con una relación molar Ca/P de 1.67, no se presenta en los sistemas biológicos. Las apatitas biológicas se describen como apatitas deficientes en calcio, con una relación molar Ca/P menor a 1.67 para esmalte y dentina y mayor a 1.67 para hueso.

El análisis químico de la fase inorgánica del esmalte muestra la presencia de elementos minoritarios (presentes en concentraciones de 0.1 a 6.5 de porcentaje en peso) y elementos traza (en concentraciones de partes por millón) además de los elementos mayoritarios, calcio y fósforo. También se ha observado un patrón de distribución distintivo de algunos elementos, incrementándose o disminuyendo de la superficie del esmalte hacia la unión amelodentinaria. La asociación de los elementos minoritarios con la apatita del esmalte está sujeta a debate, se considera que algunos pueden estar como sustituciones en la red de la apatita, algunos pueden ser primariamente absorbidos en la superficie del cristal de la apatita y otros presentes en fases no apatíticas. Se considera también que estos elementos afectan las propiedades de las apatitas biológicas. (50)

En la estructura de la apatita del esmalte el carbonato puede ocupar dos posiciones, puede sustituir al grupo hidroxilo, denominándose apatita carbonatada tipo A, o bien puede sustituir al grupo fosfato, denominándose apatita carbonatada tipo B. El ión carbonato es mayor que el ión hidroxilo, lo que ocasionará una expansión del eje a cuando se presenta esta sustitución, mientras que la sustitución del ión carbonato por el fosfato, de mayor tamaño, producirá una contracción del eje a (51).

El contenido medio de carbonato del esmalte permanente es de 2.15, otros reportes han dado valores de 2.1 a 2.8 de porcentaje en peso (51). La distribución del contenido de carbonato en el esmalte presenta un gradiente, con un incremento del carbonato en la parte profunda del esmalte (52). Expresado como porcentaje del contenido total de carbonato del esmalte, el 10.3% corresponde al carbonato tipo A (mínimo 7%, máximo 12.7%) Elliot y col (53) reportaron 10 a 12% del carbonato total del tipo A.

Cuando se compara con la estructura química, los cambios que ocurren cuando el ión carbonato reemplaza al pequeño grupo hidroxilo puede asumirse que el carbonato estará

menos fuertemente unido en la posición A que en la posición B. Por lo tanto existe la posibilidad de que las consecuencias relacionadas a la sustitución tengan alguna significancia química. Sin embargo sólo aproximadamente el 10% del carbonato total del esmalte se encuentra en posición A, esto parece una cantidad muy pequeña para tener una significancia clínica. (51)

El contenido de carbonato del esmalte dental varía dependiendo del estado de maduración, con mayor cantidad de carbonato en el esmalte recientemente formado del diente recién erupcionado que en el diente maduro (54). La maduración posteruptiva del esmalte es causada por periodos de ataque ácido y remineralización, que resulta en un reemplazo de los iones carbonato. (55).

La asociación del carbonato con las apatitas biológicas ha sido sujeto de controversia por mucho tiempo. La incorporación de carbonato en las apatitas sintéticas (tipo B, CO_3 por PO_4 y Na por Ca) mostró causar un decremento en la cristalinidad e incremento en la solubilidad. La diferencia en el tamaño del cristal de las apatitas de esmalte dentina y hueso, puede ser parcialmente atribuido a las diferencias en su contenido de carbonato: el esmalte presenta alrededor de 3.5; la dentina 5.7 y el hueso 6.4 de porcentaje en peso. La diferencia en solubilidad también puede ser parcialmente atribuida a la diferencia en su concentración respectiva de carbonato. (46)

Magnesio

La naturaleza de la asociación del Mg con la fase inorgánica del esmalte y su contribución a las propiedades de las apatitas biológicas y sintéticas no es clara. Se ha sugerido que el magnesio está principalmente asociado con la matriz orgánica, que está principalmente unido a la superficie del cristal de la apatita biológica y también que se encuentra en una fase no apatítica como una fase dolomítica. El concepto inicial de que el carbonato está presente en una fase separada de carbonato de calcio ha sido reintroducido recientemente como fase dolomítica $(\text{Ca, Mg}) (\text{CO}_3)_2$ y/o whitlockita con sustituciones de Mg, otra sugerencia es que el Mg está incorporado en la apatita en una cantidad muy limitada.

El Mg ha mostrado inhibir la remineralización. In vitro el Mg ha mostrado suprimir la cristalización de hidroxiapatita, promover la formación de fosfato dicálcico dihidratado a un pH neutral; estabilizar el fosfato de calcio amorfo e incrementar la solubilidad de las

apatitas sintéticas. El Mg y el carbonato han mostrado tener efectos sobre la cristalinidad y solubilidad de apatitas sintéticas. Así la menor cristalinidad y mayor solubilidad de las apatitas de hueso y dentina comparadas con el esmalte puede ser parcialmente atribuida a su mayor concentración de Mg y carbonato (46, 56).

Las concentraciones de Mg y carbonato pueden ser relevantes en el proceso de caries, ya que el primer cambio cariogénico detectable en la química del esmalte involucra la pérdida de mineral rico en Mg y carbonato. (57)

Cloro

A pesar de la gran abundancia de cloro en los fluidos biológicos, la incorporación de este elemento a las apatitas biológicas es muy limitada, la mayor cantidad que existe en el esmalte es en promedio de 0.3% en peso. (46)

El contenido de agua en el esmalte es de 3% en peso o 11% en volumen, el agua está parcialmente asociada con el componente orgánico y con el cristal de apatita. Ambos componentes se asume que juegan un papel importante en la disolución y remineralización de apatitas biológicas ya que permiten la difusión y almacenaje de iones involucrados en estos procesos.

1.2.3 Propiedades mecánicas

La dureza del esmalte según la escala de Moh, basada en la dureza del diamante (número 10 en la escala de Moh) oscila entre los números 5 y 8

El número de dureza Knoop es variable, describe un intervalo de 200 a 500 unidades Knoop. (58)

Densidad

Se ha demostrado que los valores de densidad van disminuyendo desde la superficie del esmalte hasta la unión amelodentinaria. Sin embargo, este cambio en el valor de densidad ocurre en realidad dentro de un límite muy estrecho 3.00 a 2.84 mg/ml. La densidad entre los dientes varía, la de los incisivos superiores es mayor a la de los premolares e incisivos inferiores y los molares presentan valores intermedios. Los dientes temporales presentan la menor densidad.

Color

Siendo el esmalte semitranslúcido, su color dependerá del espesor de la sustancia adamantina y presentará matices diferentes según la estructura subyacente. Así en los sitios donde el esmalte es más grueso y más opaco su color será grisáceo o blanco azulado, o sea que refleja su color inherente. Cuando el esmalte es delgado, su color será blanco amarillento reflejando la dentina subyacente amarilla.

Con frecuencia el esmalte aparece salpicado de manchas blancas o parduscas, estas probablemente reflejan cambios locales del esmalte como hipocalcificaciones debajo de la superficie.

Resistencia a la tensión y compresibilidad

El esmalte presenta un módulo de elasticidad elevado (19×10^6 psi) esto indica que es quebradizo y que su resistencia a la tensión es realmente baja (1100 psi) en cambio la dentina es un tejido fácilmente compresible (40 000 psi).

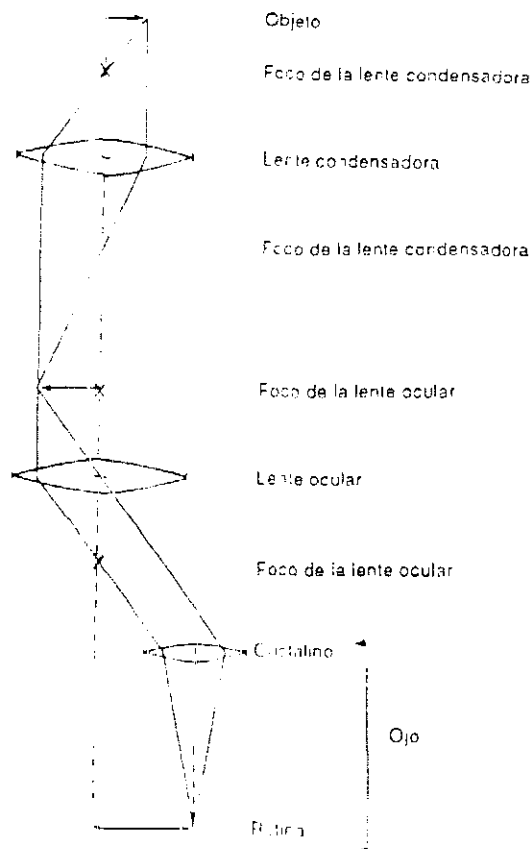
Permeabilidad

En los primeros experimentos se utilizaron colorantes orgánicos para demostrar la permeabilidad del esmalte, se observó que el esmalte era permeable en grados variables y que el paso se hacía principalmente a través de la zona que rodea al prisma (vaina del prisma). También se encontró colorante en los defectos o grietas o lamelas, así como en los penachos del esmalte, todas estas estructuras con contenido orgánico relativamente abundante. Aunque todavía se desconoce el mecanismo de difusión, estas y otras evidencias muestran que los colorantes orgánicos pueden penetrar el esmalte, especialmente a través de las unidades estructurales hipomineralizadas o ricas en contenido orgánico. (58)

1.3.- Técnicas de análisis (conceptos)

1.3.1. Microscopía de luz (ML) y microscopía electrónica de barrido (MEB)

El primer instrumento de detección con el que cuenta el ser humano es su propio aparato visual. El ojo humano es un aparato óptico de gran complejidad con resolución de aproximadamente 0.1 mm. Es decir, objetos separados entre sí, por una distancia menor a ésta, no pueden ser distinguidos por el ojo humano, existiendo variaciones personales. Si necesitamos observar algo con resolución menor de milímetros estamos obligados a recurrir a un instrumento óptico que nos ayude



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 2. Diagrama de la trayectoria seguida por los rayos de luz en un microscopio óptico. Tomado de Microscopía electrónica (59).

El proceso físico de la formación de la imagen en el microscopio electrónico es exactamente el mismo que se tiene en el microscopio óptico. La figura 2 muestra la trayectoria seguida por los rayos luminosos en el microscopio óptico. El objetivo forma una

imagen real, invertida y aumentada del objeto, la cual reside en el espacio sobre el plano focal de la lente ocular. Los rayos que divergen de cada punto de esta imagen, emergerán paralelos del ocular. El ocular aumenta la imagen intermedia aún más, esta imagen es captada por el ojo, el cristalino actúa como una lente convergente para formar la imagen en la retina.

En 1878 Ernest Abbe anunció que el microscopio óptico había ya alcanzado un límite de resolución y que éste no podía incrementarse mediante el perfeccionamiento técnico de las lentes. También hizo notar la necesidad de una forma de radiación, con longitud de onda más pequeña, que originaría un microscopio muy diferente al microscopio óptico.

El microscopio electrónico consiste fundamentalmente de un cañón de electrones (su fuente de iluminación), lentes condensadoras, lente objetiva, lentes intermedias y lente proyectora. La amplificación de la imagen se lleva a cabo de la siguiente manera: 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 para producir la imagen final en la pantalla o en la placa fotográfica.

Cuando el haz de electrones interactúa con la muestra, se producen varios tipos de señales, que permiten hacer una caracterización estructural y química de ésta. Estas señales son: electrones retrodispersados, secundarios, absorbidos, Auger, transmitidos y rayos X característicos. Los electrones que no atraviesan la muestra, son la base para la microscopía de barrido, estos son: retrodispersados y secundarios. Los electrones absorbidos dan información sobre la resistividad de la muestra. Los electrones Auger y los rayos X característicos permiten información sobre la composición química de la muestra. Los electrones que atraviesan la muestra, transmitidos y difractados, son los que usa la lente objetiva para formar la imagen de la muestra en el microscopio electrónico de transmisión.

Durante la década de los setenta surgió una serie de técnicas relacionadas con la microscopía electrónica. Entre ellas apareció el llamado microscopio electrónico de barrido. El microscopio electrónico de barrido es uno de los más versátiles instrumentos para el examen y análisis de las características microestructurales de objetos sólidos, la razón fundamental de utilidad del MEB es la alta resolución que puede ser obtenida cuando se examinan objetos voluminosos. Valores de resolución del orden de 5 nanómetros son usualmente alcanzados por instrumentos comerciales. Otra importante característica del

MEB es la apariencia tridimensional de la imagen del espécimen, la cual se debe a la gran profundidad de campo del MEB así como al efecto de relieve de sombras o sombreado de contraste de electrones secundarios.

Los componentes básicos del MEB son: el sistema de lentes, el cañón de electrones, el colector de electrones, el tubo de rayos catódicos visual y de registro y la electrónica asociada con ellos.

El MEB opera barriendo la muestra con un haz electrónico de sección transversal pequeña y de alta energía. La superficie de la muestra es bombardeada por los electrones del haz, esta interacción permite la emisión de electrones. Los electrones emitidos en un punto, que son recolectados por medio de detectores apropiados y utilizados para modular la polarización de la rejilla de un tubo de rayos catódicos (monitor de TV). De esta manera se establece una correspondencia uno a uno entre la cantidad de electrones detectada y la intensidad del punto correspondiente a la pantalla del tubo. Al barrer la muestra esta operación se repite, generando una imagen punto a punto de la muestra. Es decir la imagen observada en la pantalla de televisión del MEB es un mapa de las intensidades de los electrones emitidos por la superficie de la muestra.

Cuando el haz de electrones impacta la muestra, se generan varios tipos de señales, provenientes tanto de la superficie como del volumen de la muestra, puesto que el haz electrónico experimenta varias colisiones dentro del material, antes de perder completamente su energía. El volumen de colisiones bajo la superficie de la muestra, semeja una botella esférica, este volumen se incrementa con la energía del haz y decrece con el número atómico del elemento o elementos que forman a muestra. Las emisiones características de los elementos del interior de la muestra, son bastante diferentes de las emitidas por los elementos de la superficie. Los electrones secundarios están confinados al volumen cercano al área de impacto del haz permitiendo que se obtengan imágenes a relativamente alta resolución. Los electrones retrodispersados provienen de una región que se encuentra a $0.5 \mu\text{m}$ por debajo de la superficie, a diferencia de éstos, los electrones secundarios solo logran penetrar de 5 a 10 nm por debajo de la superficie de la muestra (59, 60).

1.3.2. Microanálisis

El microscopio electrónico de barrido y la microsonda son dos poderosos instrumentos que permiten la observación y caracterización de materiales orgánicos e inorgánicos heterogéneos y de superficies a una escala de micras. En ambos instrumentos el área a ser examinada, o el microvolumen a ser analizado son irradiados con un haz electrónico finamente enfocado, el cual puede ser estático o desplazarse a través de la superficie del espécimen.

En el microanálisis con la sonda electrónica frecuentemente referido como microsonda electrónica, la radiación primaria de interés son los rayos X característicos los cuales son emitidos como resultado del bombardeo de electrones. El análisis de los rayos X característicos puede brindar información de la composición tanto cualitativa como cuantitativa de regiones de un espécimen de zonas tan pequeñas, como de micras de diámetro.

El desparrame del haz electrónico dentro de la muestra se debe principalmente a la colisión múltiple que sufren los electrones con los átomos de la muestra mientras pierden su energía. Algunas de estas colisiones son elásticas y, en tales casos, los electrones del haz pasan a través de la muestra sin pérdida significativa de energía. Sin embargo la mayoría son colisiones inelásticas, por lo que la distribución de electrones emitidos tiene un pico muy grande en la región de las energías de 0 a 50 eV.

La colisión puede resultar en algunos casos en la emisión de algún electrón de los átomos de la muestra. Cuando un electrón de una capa interna es sacado por un electrón de alta energía del haz, el átomo puede regresar a su estado base o a algún otro estado de baja energía, por dos caminos distintos: un electrón de las capas superiores puede ocupar el hueco en la capa interna emitiendo un fotón, o emitiendo otro electrón de una capa superior. La emisión de fotones produce un espectro característico de rayos X, mientras que los electrones emitidos son conocidos como electrones Auger. Ambos efectos son muy importantes en el análisis microestructural, debido a que sus energías son características de los elementos que los emitieron. Por lo tanto la medida de esas energías permite el análisis químico de la muestra, y la medida de la intensidad de la emisión nos da un análisis químico cuantitativo (59, 60)

1.3.3. Microdureza

Dureza

El conocimiento de las propiedades mecánicas del diente y los tejidos de los cuales está formado es importante para ayudar a entender su comportamiento ante las fuerzas masticatorias, procedimientos restaurativos y principalmente bajo condiciones de enfermedad.

De entre las pruebas mecánicas, la prueba de dureza es la de mayor valor y la más ampliamente usada para evaluar las propiedades de los materiales, su principal valor es la relación que existe entre el valor de dureza y otras propiedades del material.

Existen diversos métodos para probar la dureza de un material, pero los de más amplio uso y de mayor desarrollo teórico son los de indentación estática. En donde un indentador, ya sea una esfera, un cono o una pirámide son forzados sobre la superficie del material, y el peso por unidad de área de impresión se considera la dureza del material.

La dureza no es una propiedad fundamental de un material, sino que está relacionada con las propiedades elásticas y plásticas. Los valores de dureza son arbitrarios y no hay estándares de dureza absolutos. La dureza representa un valor cuantitativo solo para condiciones específicas de carga aplicada, tiempo de aplicación y forma del indentador. Por lo que el valor de dureza obtenido en una prueba determinada sirve solo como comparación entre materiales o cambio de propiedades de un material derivado de tratamientos realizados en el mismo (61- 64)

La prueba de dureza generalmente se realiza imprimiendo en la muestra, la cual está en reposo sobre una plataforma rígida, un marcador o indentador de geometría determinada, bajo una carga estática conocida que se aplique directamente o por medio de un sistema de palanca. Dependiendo del sistema de prueba, la dureza se expresa por un número inversamente proporcional a la profundidad de la indentación para una carga y marcador especificados. Existen dos categorías dentro de esta prueba, la dureza que utiliza cargas mayores de 1 Kg y la microdureza, desafortunadamente, este término es engañoso ya que podría referirse a pequeños valores de dureza cuando en realidad significa el uso de impresiones pequeñas. Las cargas de prueba están entre 1 y 1000 gr. Hay dos tipos de marcadores empleados para la prueba de microdureza, el marcador Knoop y el Vickers.

El marcador Knoop tiene forma piramidal y produce impresiones de forma rómbica, la razón entre la diagonal larga y la diagonal corta es de 7:1. La forma piramidal empleada tiene ángulos longitudinales de $172^{\circ} 30'$ y ángulos transversales de 130° . La profundidad de impresión es de $1/30$ de la longitud de la diagonal larga. El número de dureza Knoop se obtiene de dividir la carga entre el área de impresión.

El marcador Vickers es un marcador piramidal de diamante de base cuadrada con un ángulo incluido de 136° entre las caras opuestas. Como resultado de la forma del marcador, la impresión sobre la superficie de la muestra será un cuadrado, la longitud de las diagonales del cuadrado es medida por medio de un microscopio equipado con un micrómetro ocular que contiene filamentos móviles. La distancia entre los filamentos se indica en un contador calibrado en micras, esta medida es utilizada para obtener el número de dureza de tablas ya elaboradas que presentan los valores calculados de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$H_v = 1.85 L / d^2$$

Donde L es la carga aplicada en Kg y d es la longitud de la diagonal al cuadrado

Algunos de los factores que influyen en la exactitud de este método son:

- i) Condiciones del marcador de muestra. Los marcadores deben revisarse en busca de cualquier señal de astillado, ya que cualquier daño al indentador producirá errores en el número de dureza.
- ii) Exactitud de la carga o esfuerzo aplicado. El probador debe aplicar cargas dentro del intervalo establecido con errores mínimos. Las cargas mayores a la cantidad recomendada no deben utilizarse para obtener así pruebas exactas.
- iii) Cargas o esfuerzos aplicados con impacto. El impacto produce lecturas inexactas y puede dañar el marcador, deben utilizarse tasas de descenso de carga lentas.
- iv) Condiciones de la superficie de la muestra. La superficie de la muestra sobre la cual se va a tomar la lectura de dureza debe ser plana y representativa del material en buen estado.

- v) Espesor de la muestra. El espesor de la muestra recomendado es por lo menos diez veces la profundidad de la impresión.
- vi) Forma de la muestra. La superficie de la muestra debe ser plana y perpendicular al eje vertical del indentador. Una muestra larga debe sujetarse de tal forma que no se ladee, deben prepararse bases planas paralelas en lados opuestos de la superficie de muestra
- vii) Localización de la impresión. Las impresiones deben estar al menos $2 \frac{1}{2}$ veces la longitud de la impresión, del borde de la muestra y separadas entre sí, al menos 5 veces esta medida.
- viii) Uniformidad del material. Si hay variaciones estructurales y químicas en el material, a mayor área de impresión más exacta será la lectura de dureza promedio. Para obtener una dureza promedio confiable para el material es necesario tomar muchas lecturas.

El indentador Vickers es el más sensible de los probadores de dureza. Tiene una sola escala continua para todos los materiales y el número de dureza es virtualmente independiente de la carga. Debido a la posibilidad de usar cargas ligeras pueden probarse secciones más delgadas que de cualquier otra prueba y la impresión cuadrada es la más fácil de medir con exactitud. Usar cargas muy ligeras permite probar partes muy pequeñas y secciones muy delgadas. Como a menor tamaño de la indentación el terminado de la superficie debe ser mejor se necesita tener bastante más cuidado para preparar la superficie de prueba. (61)

La aplicación dental de la determinación de los valores de dureza por microindentación fue iniciada por Hodge quien reportó valores de dureza para dentina. Knoop, Peters y Emerson en 1939 reportaron valores de dureza para apatitas naturales y algunos metales. Souder y Schoonover en 1943 reportaron valores de dureza para esmalte y Gustafson y Kling en 1948 también usaron microindentación para determinar la dureza del esmalte. (65)

Actualmente dentro de la investigación odontológica, la prueba de microdureza se considera un método útil principalmente para estudios de desmineralización y remineralización

El valor de dureza del esmalte desde sus primeras determinaciones presentó una gran variabilidad local (65); Craig (66) en un extenso estudio de dureza del esmalte encontró una gran variación en los valores de dureza de una sección a otra del diente y aún dentro de una misma sección.

En la actualidad, los estudios que utilizan evaluaciones de microdureza de esmalte dental, continúan mostrando una variación muy amplia en los valores de dureza obtenidos en una misma zona de la muestra, esto es evidente por el alto valor en la desviación estándar reportado.

Esta variación tan amplia en los valores hace difícil establecer una conclusión sobre la dureza del esmalte, especialmente en estudios comparativos, en donde la aceptación o rechazo de la hipótesis propuesta depende de las diferencias observadas.

Entre los factores que pueden influir la variabilidad del valor está la confiabilidad de la medición. Actualmente aún cuando la prueba tiene gran uso en investigación no se han encontrado en la literatura estudios dirigidos al análisis de los factores que afectan la precisión y por tanto la confiabilidad de este método. Cabe señalar que de los estudios que utilizan la evaluación de dureza, muy pocos reportan el valor de pruebas de confiabilidad en la medición de ésta.

Entre los factores que afectan la confiabilidad de la medición de dureza está la selección de la carga, especialmente cuando se emplea el diamante Knoop, ya que diamante Vickers es virtualmente independiente de la carga empleada. (61)

Utilizando indentador Knoop, Collys (67) encontró que el valor de dureza del esmalte decrecía al aumentar la carga. Esta disminución en el valor de dureza se atribuyó a la dificultad para leer los extremos terminales de la indentación, obteniéndose lecturas mayores de la longitud y por tanto un menor valor de dureza. La influencia de ésta limitación técnica es mas importante en indentaciones pequeñas producidas por el empleo de cargas menores a las recomendadas. Así mismo una carga más alta que la recomendada dará por resultado fractura alrededor de la indentación con lo que también se afecta la medición. De acuerdo con este autor un peso adecuado para esmalte dental es aquel que produzca una indentación mayor o igual a 100 micras (50 o 100 gr).

Otro factor es la estructura de la muestra. Una circunstancia de especial consideración al usar la prueba de microdureza, es que el fundamento teórico de esta prueba fue desarrollado para materiales, especialmente para metales y su aplicación a materiales cerámicos, con los que podría haber una semejanza con el esmalte dental por estar constituido por hidroxiapatita, presenta restricciones especialmente por la fragilidad y el tipo de enlaces que presenta, covalentes, iónicos y combinaciones de ambos, a diferencia de los metales en los cuales los enlaces débiles y no direccionales permiten por si mismos la interpretación de los datos casi exclusivamente en términos de dislocaciones de flujo y facilidad para las deformaciones plásticas (64) Sin embargo la principal consideración es que la indentación se hace sobre un tejido con características propias diferentes a las de un material.

La superficie de la muestra puede llegar a hacerse más dura por el procedimiento de pulido requerido para lograr una superficie aceptable para la indentación. Seleccionar una mayor carga para obtener una mayor profundidad que aminore los factores de la superficie, puede producir resultados erróneos de dureza, debido a la fragilidad del material, puede producirse fractura alrededor de la indentación y la energía es expandida sobre la propagación de la fractura (64).

La prueba de microdureza es un método relativamente sencillo, esta cualidad puede inducir a su empleo sin un riguroso cuidado en su manejo

Capítulo 2

MÉTODO

Se llevó a cabo un estudio comparativo de la estructura, composición química y propiedades mecánicas del esmalte dental de premolares extraídos por razones ortodóncicas de sujetos de alto riesgo y sujetos libres de caries

2.1 Selección de los sujetos para el estudio

Los sujetos para estudio fueron seleccionados de pacientes recibidos en la Unidad de Postgrado e Investigación de la Facultad de Odontología de la UNAM, remitidos para tratamiento a la Clínica de Ortodoncia, que requirieran de extracciones de premolares y que aceptaran participar en el estudio.

El criterio para la selección de los pacientes de bajo y alto riesgo a caries se basó en la experiencia previa de caries. Los pacientes de alto riesgo presentaron lesiones extensas y múltiples dientes afectados por caries, o con antecedentes de ésta, como obturaciones o dientes perdidos. Los de bajo riesgo, no presentaron dientes con caries o con antecedentes de ésta, o bien, presentaron lesiones u obturaciones pequeñas. La selección se hizo de la siguiente forma:

- 1) Con el fin de obtener grupos homogéneos, en cuanto a la exposición de los dientes al medio ambiente oral, se seleccionaron dos categorías de edad, de 12 a 16 años y 20 a 24 años, de ambos sexos. Doce pacientes quedaron incluidos.
- 2) Se realizó a cada paciente una historia clínica, que incluyó preguntas sobre su estado de salud, antecedentes personales y familiares sobre caries dental y atención odontológica recibida, y un examen oral registrando características de acumulación de placa dentobacteriana, saliva y encía. El estado de caries se registró conforme al criterio de magnitud de lesiones (26).
- 3) Con base en la severidad del estado de caries registrado durante el examen oral, a los pacientes se les clasificó en uno de cuatro grupos de riesgo. Para el estudio se seleccionaron tres pacientes del grupo 1, de bajo riesgo y 3 del grupo 4, de alto riesgo. Los otros pacientes, presentaron un estado de caries intermedio que no correspondió a los criterios de bajo o alto riesgo.

2.2 Variables

- Estructura del tejido del esmalte. Variable cualitativa que describe las características del arreglo prismático del esmalte
- Composición química del esmalte. Variable cuantitativa, porcentaje atómico de los elementos identificados en el esmalte por medio de análisis de EDS.
- Dureza del esmalte. Variable cuantitativa, grado de dureza del esmalte, determinado por el método de indentación estática empleando un indentador Vickers y expresado en número de dureza Vickers.

2.3 Análisis estadístico

El análisis estadístico de las variables cuantitativas del estudio se realizó por medio de ANOVA utilizando el paquete estadístico SPSS. La asociación de las variables estudiadas con la condición de alto riesgo se evaluó por medio de las diferencias de los valores promedio de las determinaciones para cada prueba.

2.4 Procedimiento experimental

De cada paciente se obtuvieron dos premolares, y uno de éstos, premolar A, fue cortado en sentido vestíbulo lingual, en la parte central del diente, para obtener dos secciones longitudinales. Una de estas secciones fue embebida en resina acrílica de dos componentes, dejando libre la superficie interna del espécimen, sección A1, figura M1a. La figura M1b muestra la imagen de la muestra incluida. La otra sección también fue embebida en un cilindro de resina acrílica y, posteriormente cortada transversalmente a nivel de la cúspide y el tercio medio del diente. La sección A2, corresponde al corte transversal a nivel de la cúspide (figura M1a). La figura M1c muestra la imagen de la sección transversal a nivel de la cúspide.

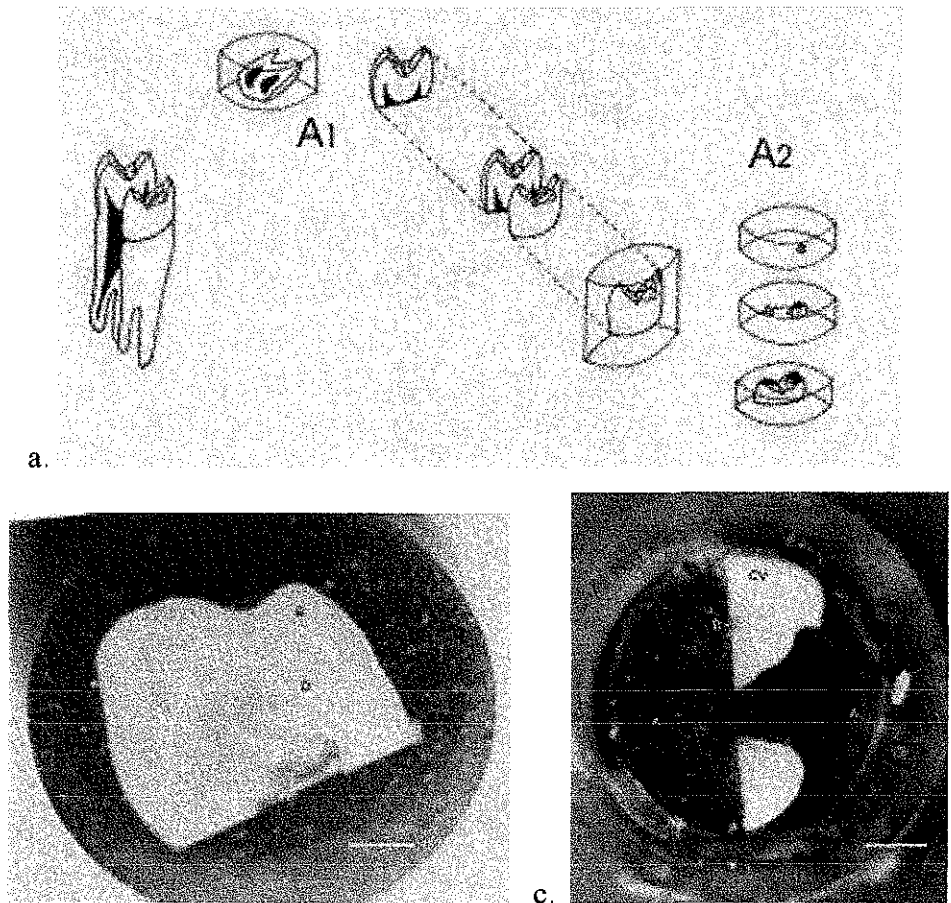


Figura M1. Sección del diente A. a) Corte longitudinal en sentido vestibulo-lingual. b) sección A1 del diente embebido en resina, c) Muestra a nivel de la cúspide, sección A2. E=esmalte, D=dentina, CV=cúspide vestibular. La barra equivale a 2mm.

El segundo premolar, premolar B, fue cortado mesiodistalmente en la parte central, para obtener dos secciones longitudinales (Figura M2a). La sección correspondiente a la cara vestibular del premolar, sección B1, fue empleada para el análisis de la superficie externa del diente, y la otra, sección B2, se utilizó para la determinación de la densidad. La figura M2b presenta las muestras de la superficie vestibular de los premolares montadas sobre el portamuestras.

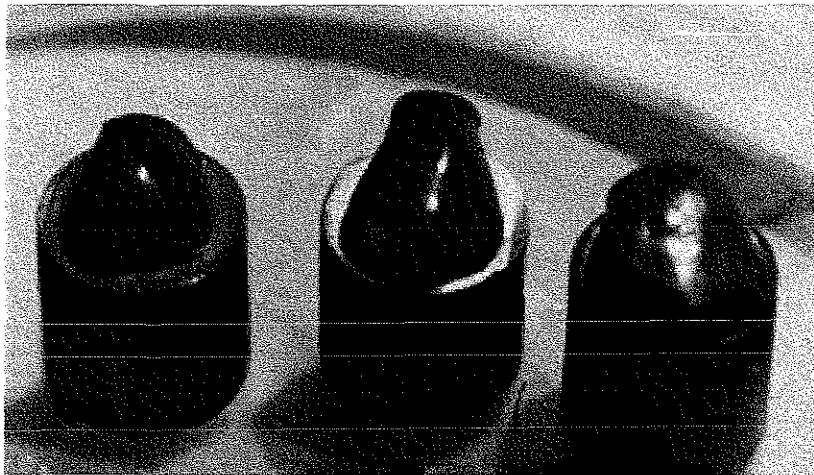
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Premolar B

Sección B1



a.



b.

Figura M2. Sección del premolar B a) Corte mesio-distal. La sección vestibular (B1) fue usada para el estudio de la superficie. b. Muestras colocadas sobre el portamuestras y recubiertas con una película delgada de carbón. Esta preparación no recibió ningún tratamiento antes de ser recubierta para observación. La barra equivale a 5 mm.

Los cortes se realizaron con una cortadora Jean Wirts Cutto 1 con un disco de diamante de 7.6 cm. x 0.15mm. (3" x 0.006"), usando baja velocidad y agua.

Las secciones A1 y A2 fueron pulidas mecánicamente, con una pulidora marca Buehler Mod. Minimet y discos de carburo de silicio de números: 1 200 y 4 000 posteriormente se terminó el pulido con paño y polvo de alúmina de 0.05 μ m.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.3.1 Estructura histológica del esmalte

El estudio comparativo de la estructura histológica del esmalte se realizó por medio de microscopía electrónica de barrido (MEB) tomando para cada diente las mismas zonas y con la misma amplificación. Se analizaron tres aspectos:

- a) Superficie externa. Para el estudio de la superficie externa se utilizó la cara vestibular del premolar (sección B1) sin tratamiento alguno, no se pulió o expuso a ácido. El espécimen fue colocado sobre un portamuestras, dejando libre la superficie vestibular del diente, posteriormente, se recubrió con una película de carbón en una evaporadora Ernst F Fullmam, para poder ser observado por MEB. En la parte central de la superficie vestibular se tomaron microfotografías a nivel supracervical, parte media y borde oclusal (Figura M3).

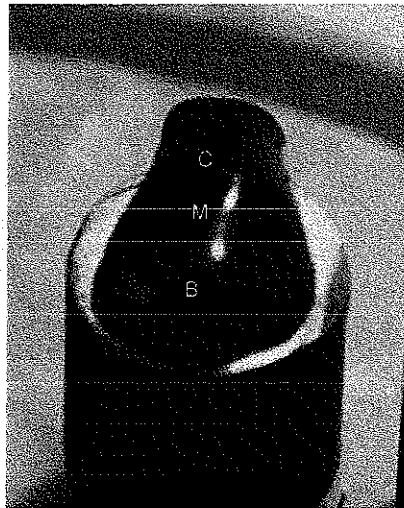


Figura M3. Sección B1 montada en portamuestras. La superficie vestibular fue estudiada por MEB en tres zonas de la parte central de la superficie, C) zona supracervical, M) zona central y B) borde oclusal.

- b) Corte longitudinal (sección A1). Los especímenes una vez pulidos, fueron expuestos a ácido fosfórico al 35%, durante 60 segundos, con el fin de revelar su estructura mineral. Para observarlos en MEB fueron recubiertos con una película de carbón empleando una evaporadora Ernest F Fullmam. Se tomaron micrografías de la estructura del esmalte en el borde externo, la parte media y la unión amelodentinaria. Las zonas de referencia utilizadas fueron la cúspide y la parte media de la superficie vestibular y la zona del surco. (Figura M4)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

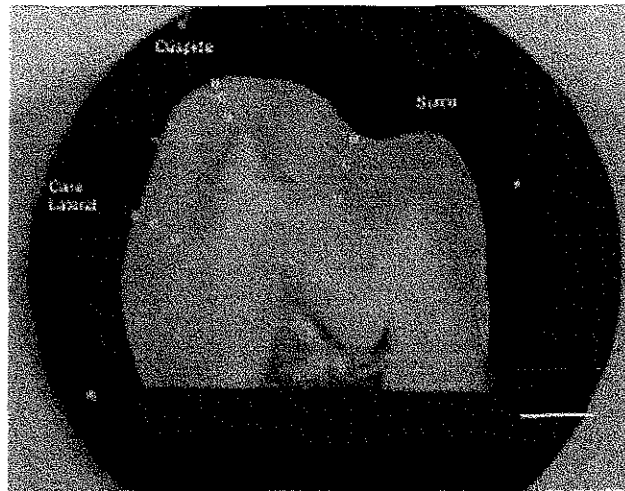


Figura M4. Sección A1. Zonas donde se tomaron micrografías de MEB para el análisis de la estructura interna del esmalte. De cada zona se estudió el borde externo B, la zona central entre el borde y la unión amelodentinaria C y la unión amelodentinaria U. La barra equivale a 2mm

c) Corte transversal (sección A2). Después del pulido, los especímenes fueron expuestos a ácido fosfórico al 35% durante sesenta segundos, con el fin de revelar su estructura. Para observarlos en MEB fueron recubiertos con una película de carbón empleando una evaporadora Enest F Fullmam. Se tomaron fotografías en la unión amelodentinaria, la parte media del espesor del esmalte y el borde externo. (Figura M5)

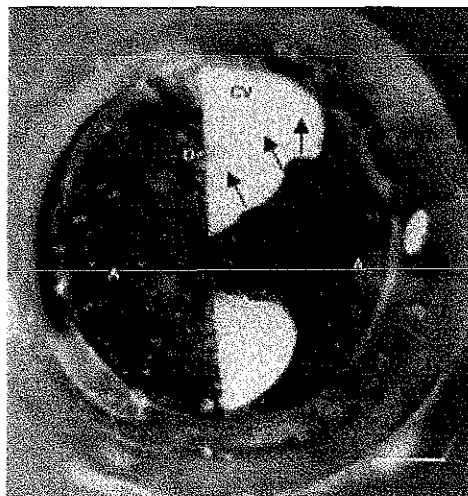


Figura M5 Sección A2. Sección transversal a nivel de la cúspide. Las observaciones de la estructura del esmalte en sentido transversal se hicieron en tres zonas de la cúspide vestibular CV. Las flechas indican estas zonas. Cerca de la unión con la dentina D, en la parte media y en el borde externo. La barra equivale a 2 mm.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Para la preparación de las muestras y la observación del acabado de éstas se utilizaron los microscopios de luz de la marca ZEISS modelo Axiotech. El microscopio electrónico de barrido usado fue el SEM - JEOL modelo JSM 5 200.

2.3.2 Análisis químico

El análisis químico se realizó mediante espectrometría por dispersión de energía de rayos x característicos (EDS). Se empleó un microscopio electrónico Jeol JSM.6400, con un sistema de EDS integrado de la marca NORAN. La amplificación fue 2 000X a 15 KV. Para este estudio se utilizó el corte longitudinal del diente. La zona estudiada fue el tercio medio de la cara vestibular. Se hicieron determinaciones en el borde externo, la parte media, y unión amelodentinaria, figura M6. Para cada sitio hicieron ocho mediciones y se obtuvo el promedio y la desviación estándar.

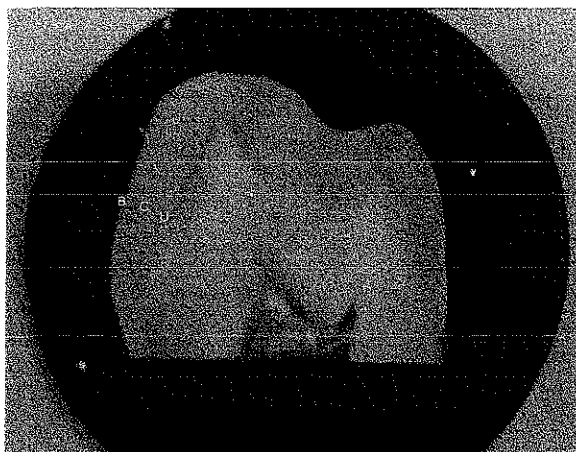


Figura M6. sección A1. Las letras indican las zonas tomadas para el análisis químico mediante EDS. B) borde externo, C) zona central del espesor del esmalte y U) unión amelodentinaria.

2.3.3 Prueba de dureza

Las secciones pulidas A1 y A2, fueron empleadas para la prueba de dureza. En la sección A1, corte longitudinal, se hicieron mediciones de dureza en la cúspide y la parte media de la superficie vestibular, del borde externo a la unión amelodentinaria. Para el corte transversal, se hicieron mediciones de dureza en sentido vestibulo lingual cerca de la parte central del diente, pasando por la unión amelodentinaria y dentina.

Se empleó un microdurímetro Matsuzawa Mod. MHT2 con indentador piramidal de diamante tipo Vickers, con microscopio integrado de una amplificación total de 400X, provisto con dos lentes con características estándar, uno de 10X para la observación y uno de 40X para la medición. El equipo cuenta con alta resolución y alto contraste que ofrecen un campo visual vital para la medición. La longitud de las diagonales de la indentación, de forma cuadrangular, fueron leídas con la escala micrométrica ajustada al ocular del instrumento. El peso seleccionado fue 25 g., el tiempo de descenso de la carga fue de 20 seg. Las mediciones fueron hechas por un solo observador, para evaluar la confiabilidad de las observaciones se utilizó la prueba de Kappa, obteniéndose un valor de 0.90.

El criterio para considerar una indentación aceptable fue: definición de los bordes de la indentación, uniformidad en la forma de las diagonales (geometría) y libre de interferencias en el área probada (111) Figura M7.

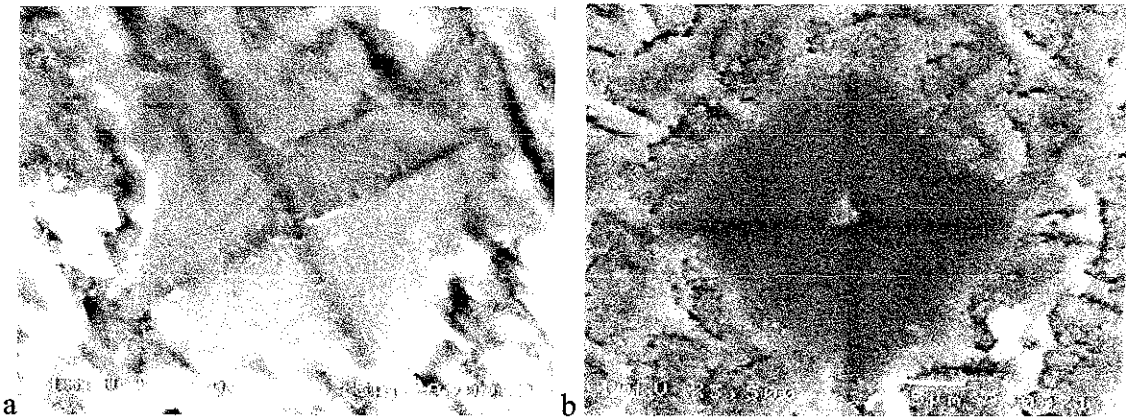


Figura M7. Micrografía de SEM que muestra indenaciones aceptables, a en sección longitudinal de esmalte, b en sección transversal.

De acuerdo a las especificaciones del manual de manejo del microdurímetro, las mediciones nunca estuvieron cerca del borde del espécimen o de otra indentación a una distancia menor a 2.5 veces la dimensión de la diagonal.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Capítulo 3

RESULTADOS

El grupo de estudio quedó conformado por 6 pacientes, como se comentó en la sección anterior y la experiencia de caries de los paciente seleccionados se presenta en el Cuadro 1. Así mismo, este cuadro presenta la calificación de riesgo que se dio a cada paciente en base a su experiencia de caries.

Cuadro 1

Experiencia de caries y calificación de riesgo en pacientes seleccionados para el estudio.

Paciente	Edad	Experiencia de caries				Calificación de riesgo
		Careados	Perdidos	Obturados	COPD	
1 LG	13	0	0	0	0	Bajo riesgo 1BR
2 MR	13	0	0	0	0	Bajo riesgo 2BR
4 MM	14	3	0	6	9	Alto riesgo 4AR
5 LP	14	12	0	0	12	Alto riesgo 5AR
3 DC	24	0	0	8	8	Bajo riesgo 3BR
6 BB	24	0	3	8	11	Alto riesgo 6AR

Los paciente 1BR y 2BR no presentan lesiones cariosas, ni antecedentes de las mismas como dientes obturados o perdidos, figura R1(a – d). El paciente 4AR presenta en tres dientes lesiones cariosas que a la exploración se clasificaron como tipo 2, con presencia de tejido reblandecido, y, en 9 dientes presenta obturaciones, la del molar inferior se calificó como 3 debido a que involucró mas de dos tercios de la corona del molar, figura R2 a y b. El paciente 5AR presentó 12 dientes con lesiones cariosas, todas involucrando dentina, los cuatro primeros molares presentaron lesiones cariosas profundas, figura R2 c y d.

La figura R3 presenta el estado oral de los pacientes adultos incluidos en el estudio. Se pueden observar la presencia de obturaciones y en el caso del paciente de alto riesgo la pérdida de dientes permanentes.

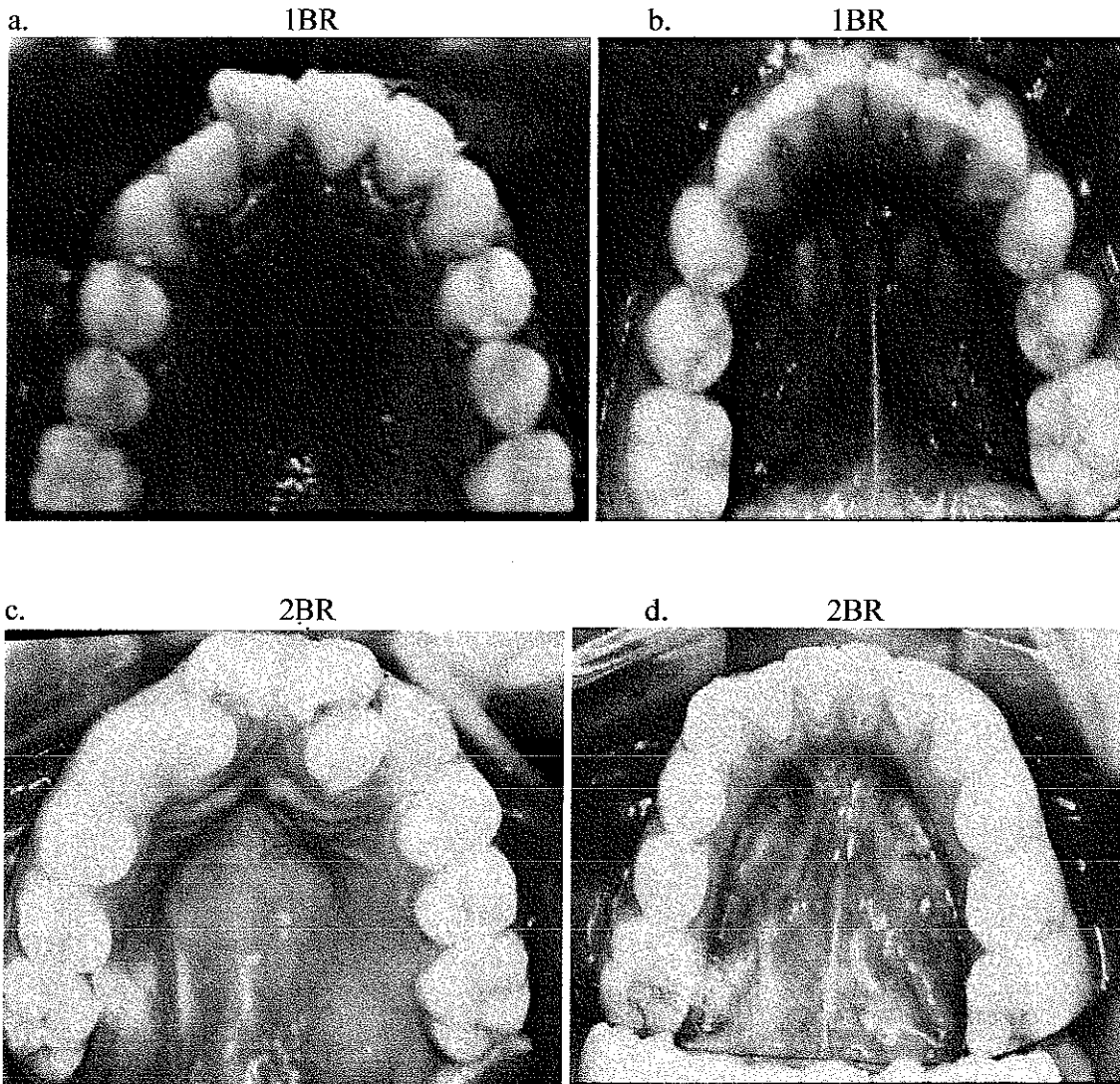


Figura R1. Aspecto oral de los pacientes jóvenes de bajo riesgo incluidos en el estudio. a y b arcada superior e inferior del paciente 1BR. c y d arcada superior e inferior del paciente 2BR. No se observan lesiones cariosas ni obturaciones.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

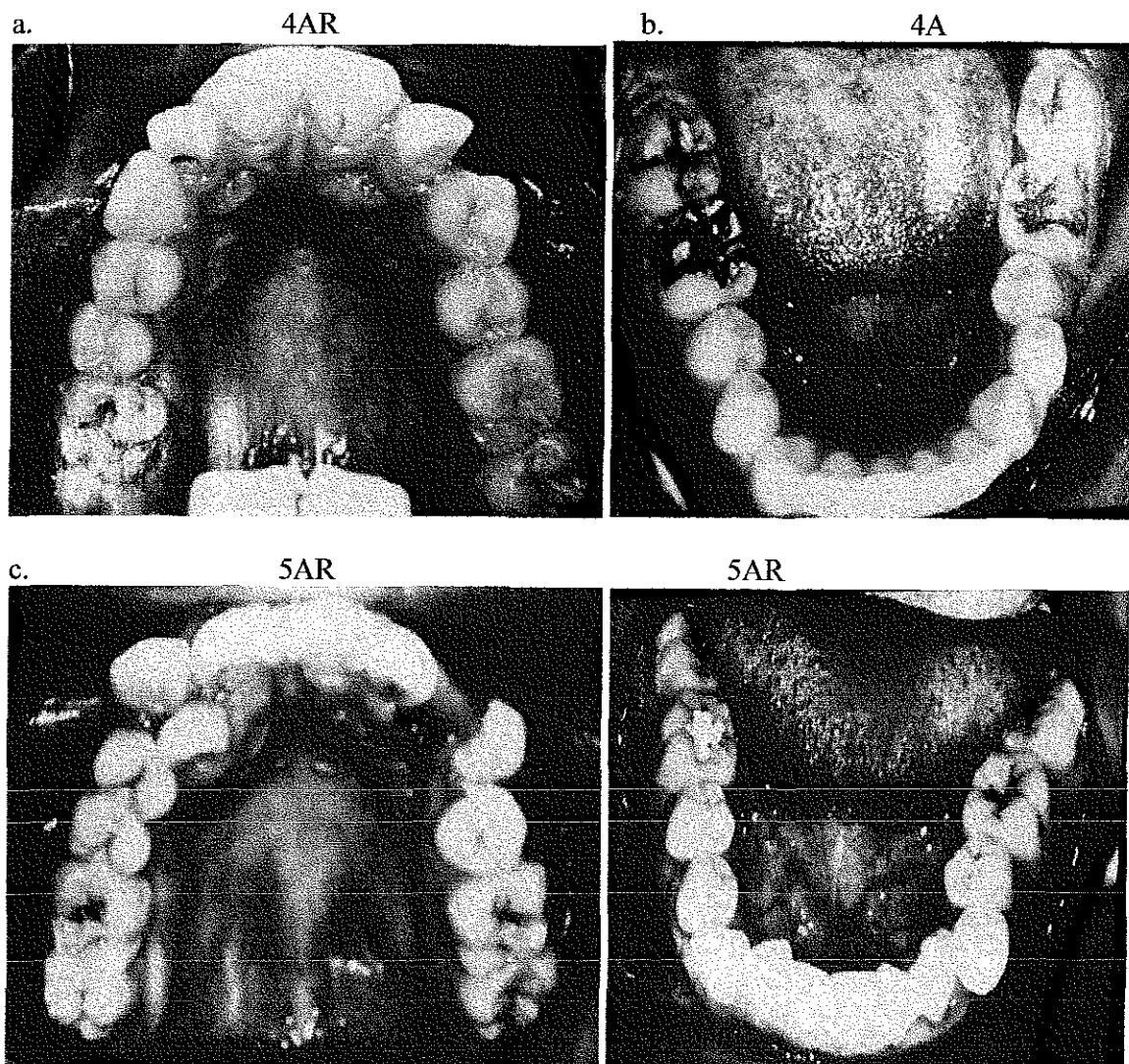


Figura R2. Aspecto oral de los pacientes jóvenes de alto riesgo incluidos en el estudio. a. Arcada superior del paciente 4AR, se observan obturaciones en primer molar y lateral derechos, caries inicial en el primer premolar derecho, primer molar izquierdo y central derecho. b. Arcada inferior del mismo paciente, presenta obturación de primeros y segundos molares, la restauración en el primer molar de lado derecho cubre más de dos tercios de la corona. c. Arcada superior del paciente 5AR, presentó lesiones cariosas en primeros y segundos molares de ambos lados, en premolares del lado derecho e incisivo lateral izquierdo y resto radicular del canino temporal izquierdo. d. Arcada inferior del mismo paciente, se observan lesiones de caries en primeros y segundos molares y segundo premolar izquierdo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En los pacientes adultos la calificación de riesgo se basó en la severidad de las lesiones cariosas debido a que es difícil encontrar personas de edad adulta sin antecedentes de caries. Aún cuando los dos pacientes presentan un alto número de dientes con antecedentes de caries, CPO, 8 para 3BR y 11 para 6AR, el estado oral es muy diferente. El paciente 3BR presenta obturaciones pequeñas, que involucran sólo la superficie oclusal y no ha perdido ningún diente. El paciente 6AR, ha perdido tres primeros molares y presenta obturaciones mayores, en cuatro dientes la obturación cubre dos superficies (figura R3).

Información adicional se obtuvo de la radiografía panorámica de los pacientes adultos, esta se presenta en la figura R4. En R4a, puede observarse que el paciente 3BR no ha perdido dientes ni presenta tratamiento endodóntico, y que las obturaciones no son profundas. Por otra parte, R2b muestra la radiografía del paciente 6AR; puede observarse la inclinación mesial de los segundos molares inferiores debido a la pérdida, seguramente a edad muy temprana, de los primeros molares, especialmente el derecho donde ya no se observa espacio entre el premolar y el segundo molar. El primer molar superior del mismo lado, se encuentra aún presente (en la figura R3 se observa que ya fue extraído) con una destrucción indudablemente debida a caries.

La figura R5a presenta la sección longitudinal del premolar de la paciente 3BR, se puede observar que la obturación sólo involucra parte del esmalte dental. Esto indica que la lesión cariosa presentada antes de la obturación era muy pequeña. La obturación del premolar del paciente 6AR (figura R3b) muestra dentina con caries bajo la obturación, la cual se encuentra fracturada.

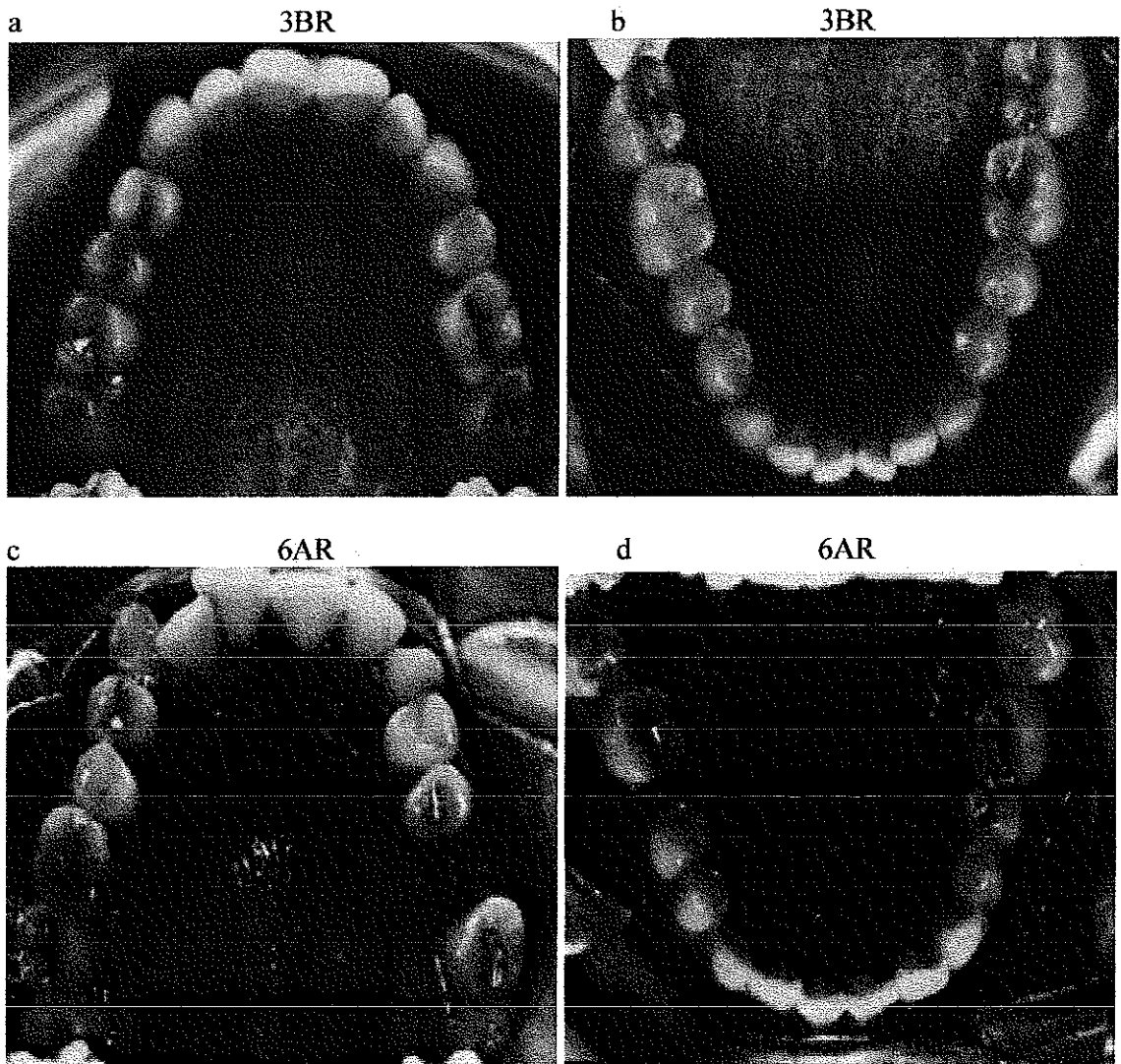


Figura R3. Aspecto oral de los pacientes adultos incluidos en el estudio. a. Arcada superior del paciente de bajo riesgo 3BR presenta obturaciones de primeros y segundos molares de ambos lados y de premolares del lado derecho. b. arcada inferior del mismo paciente se observan obturaciones de segundos molares y primer molar del lado izquierdo. c. arcada superior del paciente de alto riesgo 6AR se observan obturaciones en segundos molares, premolares y la extracción reciente del primer molar del lado izquierdo, d. Arcada inferior del mismo paciente, se han perdido los primeros molares, los segundos molares y segundo premolar izquierdo están obturados.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

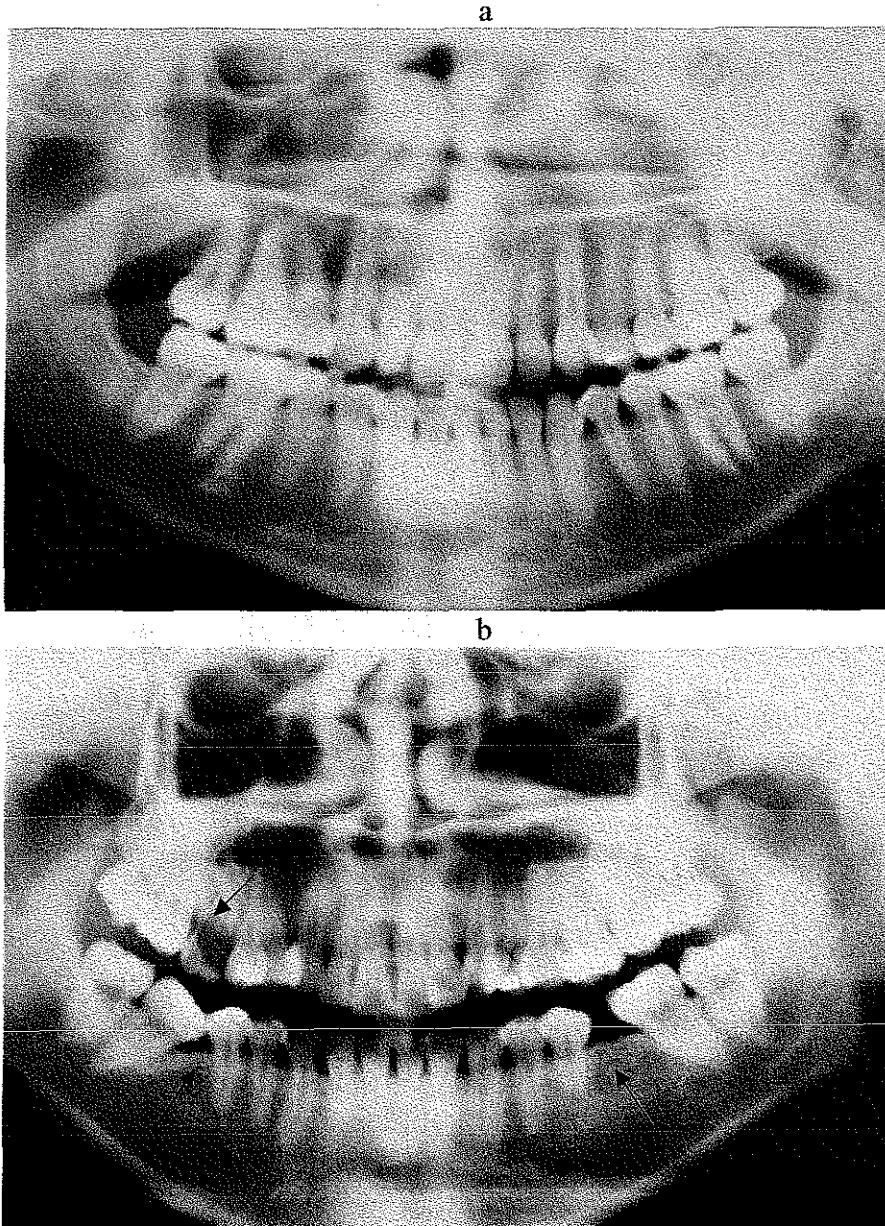


Figura R4 Radiografía panorámica de los pacientes adultos. a. paciente 3BR, se observa que las restauraciones son poco profundas y no presenta tratamiento endodóntico en ningún diente. b. paciente 6AR, en el maxilar superior se observa el primer molar derecho del lado izquierdo destruido. Las inclinaciones de los segundos molares inferiores, debidas a la pérdida de los primeros molares

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

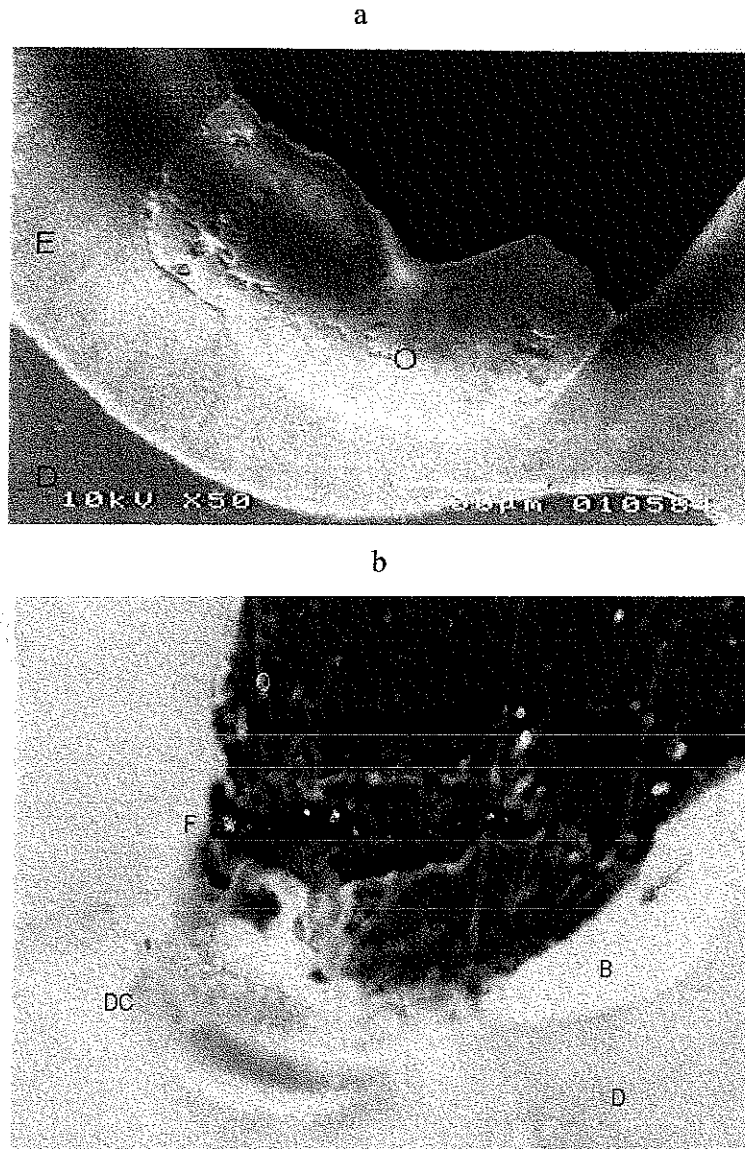
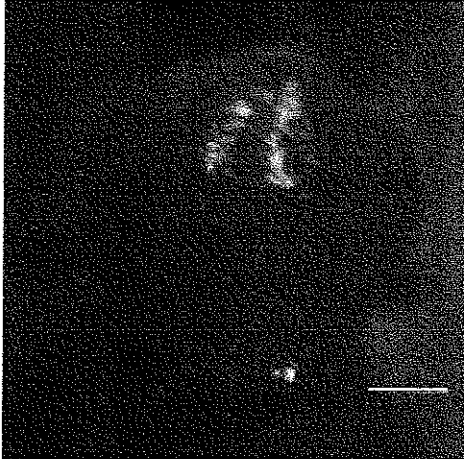


Figura R5. Sección longitudinal de los premolares obturados de los pacientes adultos 3Br y 6AR
 a) Micrografía de MEB de la sección longitudinal del premolar del paciente 3BR, la obturación solo involucra esmalte y el tejido bajo la obturación se encuentra sano. E esmalte, O obturación, D dentina. b) Micrografía de microscopio de luz de la sección longitudinal del premolar del paciente 6AR, la obturación se encuentra fracturada y la coloración de la dentina indica caries bajo la obturación. DC dentina con caries, B base, F fractura.

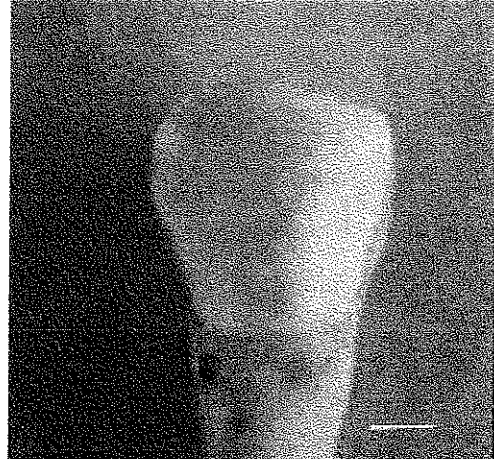
TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

La figura R6 presenta el aspecto de los dientes de cada paciente sin ningún tratamiento salvo el de limpieza con agua destilada, antes de ser preparados para el estudio. Los dientes de los pacientes de bajo riesgo 1BR, 2BR y 3BR presentaron en general una superficie mas pulida, con mas brillo y mas homogénea que los pacientes de alto riesgo. El diente del paciente adulto 3AR presentó la superficie mas pulida de los tres de bajo riesgo. En los pacientes de alto riesgo el color no fue homogéneo, además presentaron zonas blancas parduscas no delimitadas y en general menor brillo o aspecto pulido de la superficie que los dientes de los pacientes de bajo riesgo. El diente del paciente 5AR fue el que presentó el mayor daño de la superficie dental. En el paciente 4AR el color es mas uniforme y las zonas blanquecinas menos marcadas. El diente del paciente 6AR presentó una zona blanca pardusca en la región cervical y ligero cambio de coloración en el resto de la superficie.

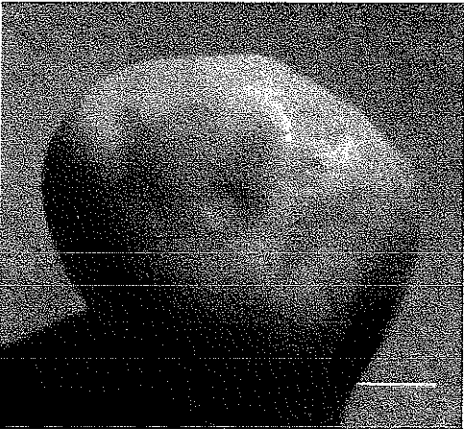
a. 1BR



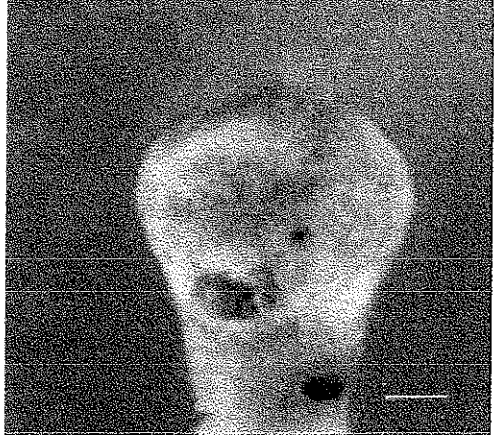
d. 4AR



b. 2BR



e. 5AR



c. 3BR



f. 6AR

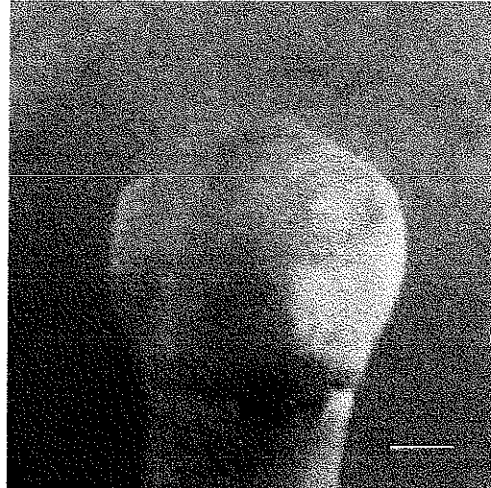


Figura R6. Aspecto de los dientes de los pacientes incluidos en el estudio antes de ser sometidos a ningún tratamiento. La barra equivale a 2 mm.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.1. Resultados del estudio de la estructura del esmalte dental

3.1.1. La superficie dental

En las figuras R7 a R12 se presentan las micrografías obtenidas con microscopio electrónico de barrido de la superficie vestibular de los premolares estudiados. Se presenta de cada paciente, el aspecto de la zona cervical, media y borde oclusal. La imagen de la izquierda presenta la superficie a baja amplificación y la derecha una zona amplificada para mostrar el detalle comentado indicado por el recuadro

Para el paciente 1BR, figura R7a se observa, en la zona cervical, presencia de periquimatas muy tenues, en la zona media la anatomía característica de la superficie casi ha desaparecido y la amplificación permite ver la presencia de pequeños orificios en la zona del surco. En el borde oclusal ya no se observa anatomía característica y la superficie presenta rayas ocasionadas por el desgaste.

Para el paciente 2BR (figura R8) en la zona cervical se observan periquimatas más marcadas que para el paciente 1BR, las huellas en los surcos no llegan a ser orificios según se observa en la amplificación. La zona media se observa ligeramente rayada por el desgaste, y, ya sin anatomía característica, lo mismo se observa a nivel del borde oclusal.

El paciente 4AR (figura R9) presenta tanto en la zona cervical como en la zona media orificios de diversos tamaños y formas, más abundantes en la zona cervical, la zona media presenta lo que parecen terminaciones prismáticas. El borde oclusal presentó menos orificios que las zonas superiores y en la amplificación se puede observar mejor la estructura de prismas. La figura R9d presenta una zona del borde oclusal cercana a la zona de observación, aquí se observa claramente la estructura prismática de la superficie de esta muestra. En ésta imagen se observa de cierta manera la evolución del proceso de disolución del esmalte. Todo parece indicar que se inicia en las zonas o áreas interprismáticas, las cuales corresponden a zonas de alta energía, y por lo tanto de inicio de ataque preferencial. Después la disolución avanza hacia la zona prismática, tal y como se observa en las áreas indicadas por las flechas.

La superficie dental del paciente 5AR se presenta en la figura R10. En la zona cervical se observan periquimatas. Es importante mencionar que esta zona se encontró severamente dañada, con zonas aparentemente desmineralizadas, como se puede observar en la figura

R6e. Las fotografías para el estudio de la zona cervical de la superficie, fueron tomadas de una pequeña zona intermedia no dañada.

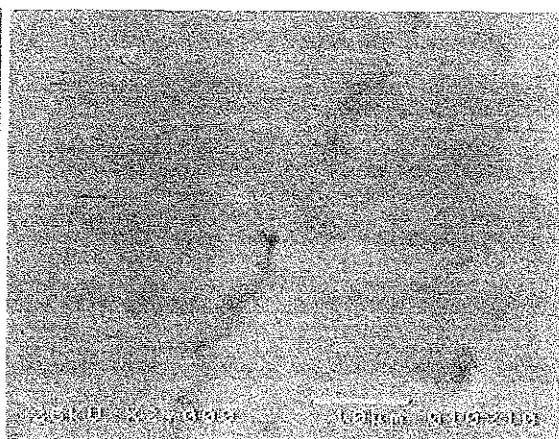
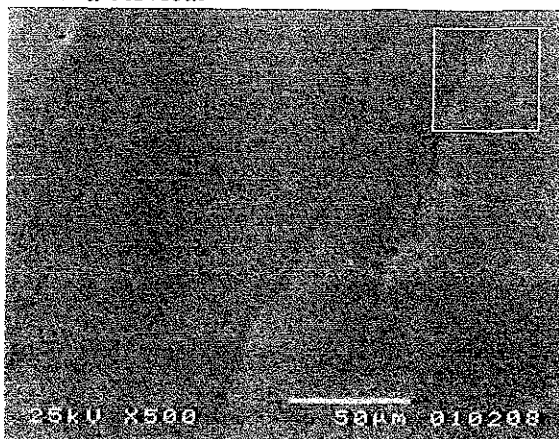
La zona media muestra orificios que parecen coincidir con las huellas o impresión dejada por los procesos de Tomes. Esta situación es más evidente en el borde oclusal, el cual presenta menos orificios que la zona media. La zona presenta una terminación prismática con un patrón de prismas circulares. Las figuras R10d y R10e muestran ampliaciones de la zona media y oclusal respectivamente, se puede apreciar mejor la terminación prismática. En la figura R10d se observa la zona interprismática formada por gránulos, el centro de los prismas se encuentra deprimido o sin contenido apreciable. En R10e la zona interprismática se observa formada por gránulos de mayor tamaño que los de la zona media y los centros de los prismas presentan también contenido de gránulos.

En la muestra 3BR (figura R11) las tres zonas de la superficie son homogéneas, el tejido está completamente cerrado y ya sin anatomía característica, se observan rayas debidas al desgaste.

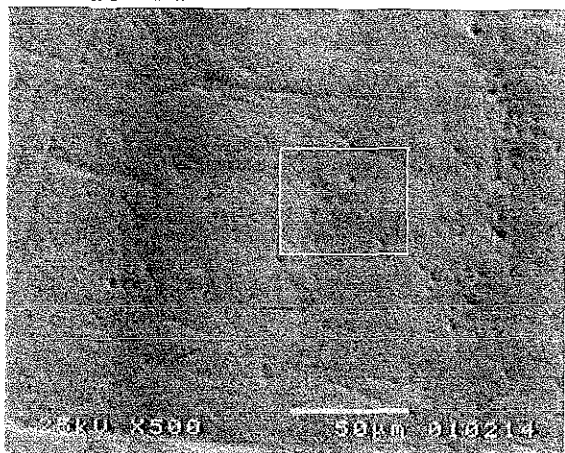
Para el paciente 6AR, (figura R12) en la zona cervical se observa aún, ligeramente características de las periquimatas, con huellas de los procesos de Tomes y orificios coincidiendo con algunas de estas. La parte central se observa ligeramente ondulada con orificios en lo que correspondería al surco o periquimata. El borde oclusal se observa más cerrado y con menos orificios que la zona media, la superficie no presenta daño debido al desgaste.

Puede resumirse que en general la superficie dental de las muestras de alto riesgo, presentaron un esmalte más poroso. En los pacientes jóvenes, muestras 4AR y 5AR los prismas en la superficie se observan sin necesidad de proceso de preparación alguno.

a. Zona cervical



b. Zona media



c. Zona del borde oclusal.

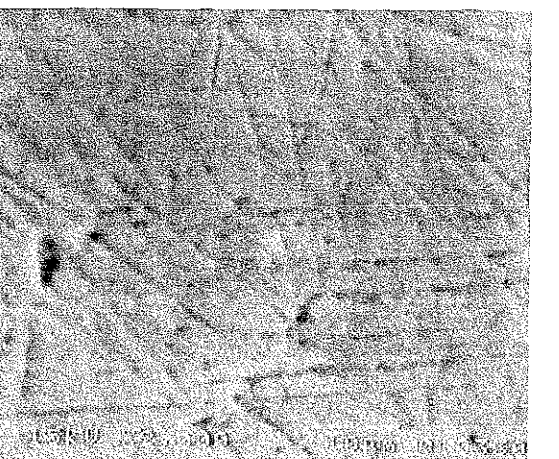
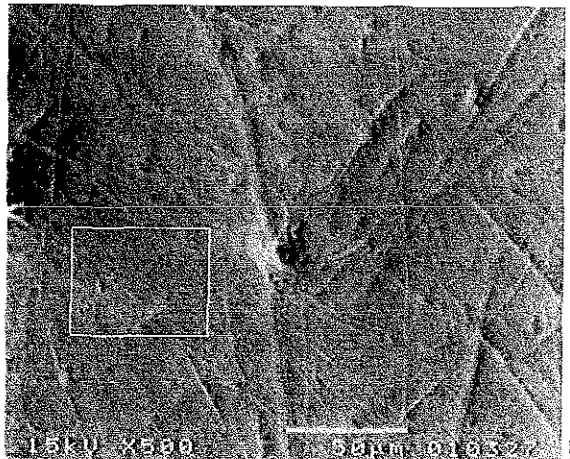
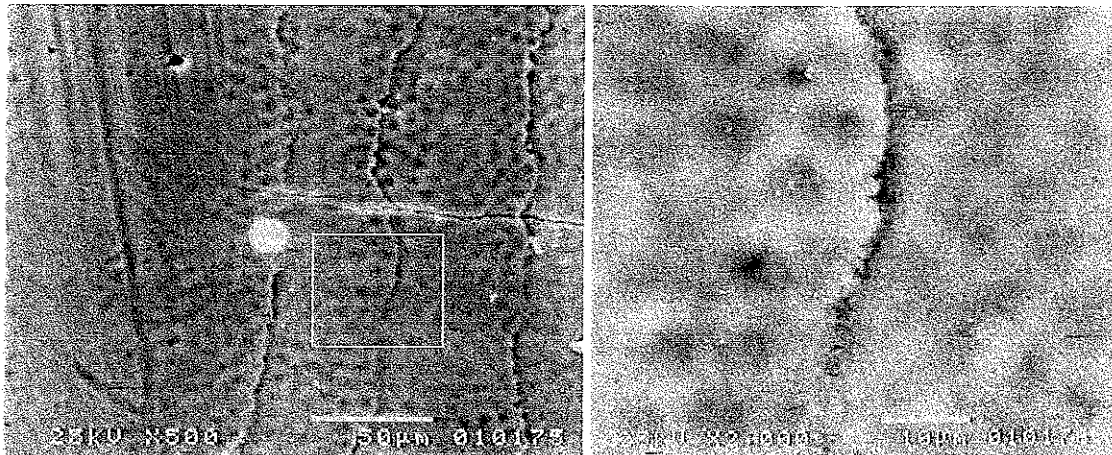


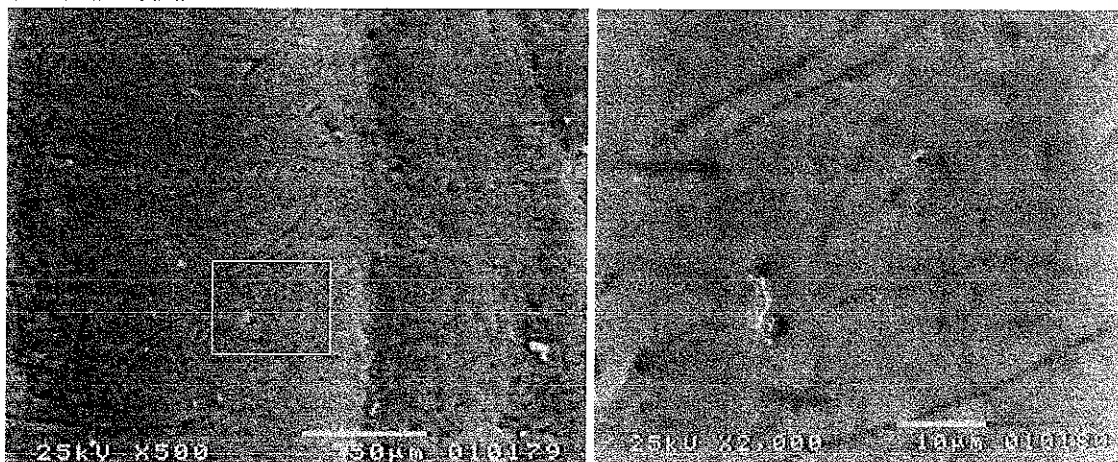
Figura R7. Micrografías de MEB de la superficie de la muestra 1BR a) Zona cervical, b) zona media y c) zona del borde oclusal. Obsérvese que en general la morfología es la normal de la superficie del esmalte. Nótese la densidad de orificios que se presentan en la zona media y oclusal.

INSTITUTO
FALLA DE ORDEN

a. Zona cervical



b. Zona media



c. Zona borde oclusal

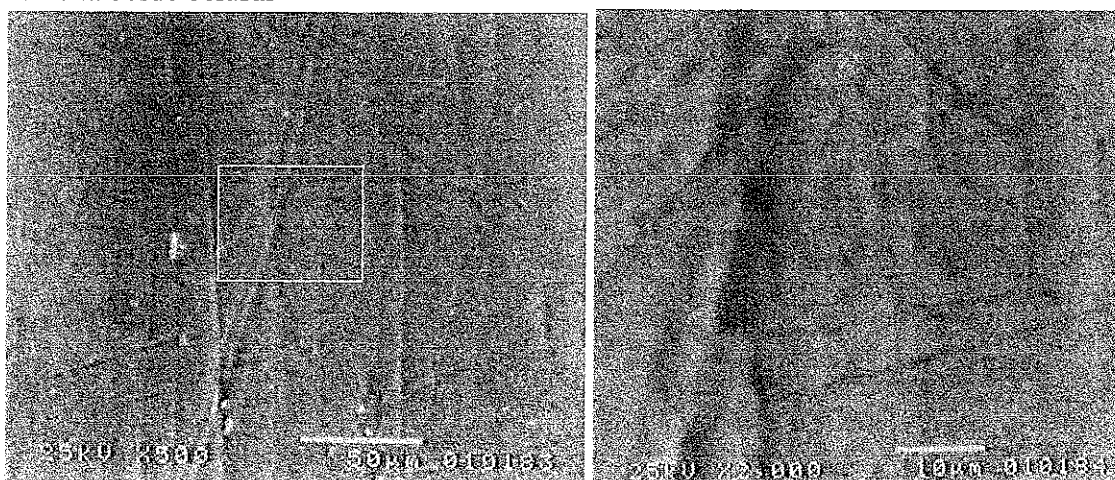
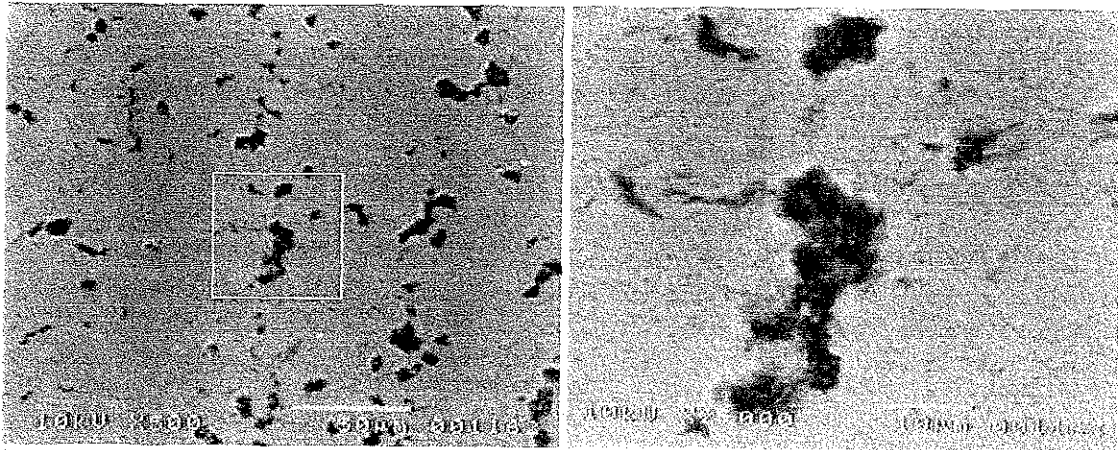


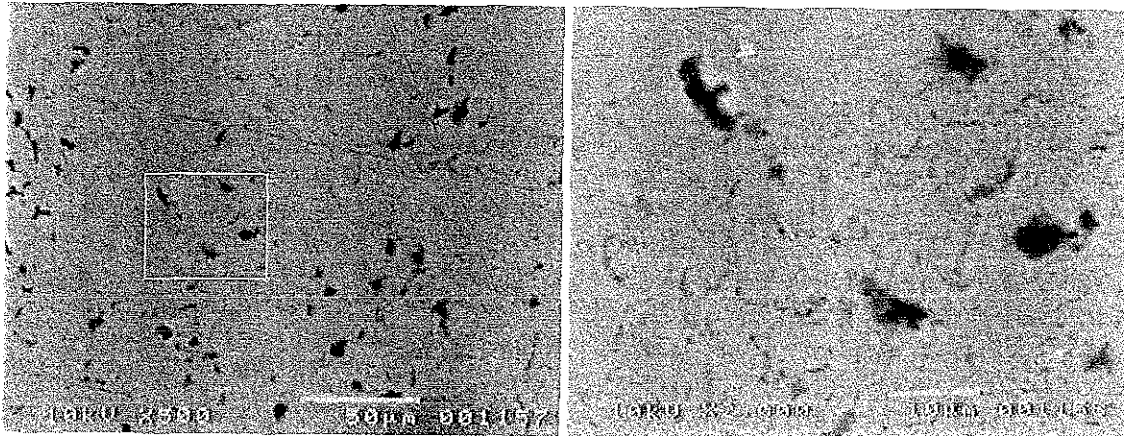
Figura R8. Micrografías de MEB de la superficie de la muestra 2BR. a) Zona cervical, b) zona media y c) zona del borde oclusal. Obsérvese la morfología de la superficie y la densidad de orificios que se presentan estas imágenes. Estas se consideran normales en la superficie del esmalte sano.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

a. Zona cervical.



b. Zona media.



c. Zona oclusal

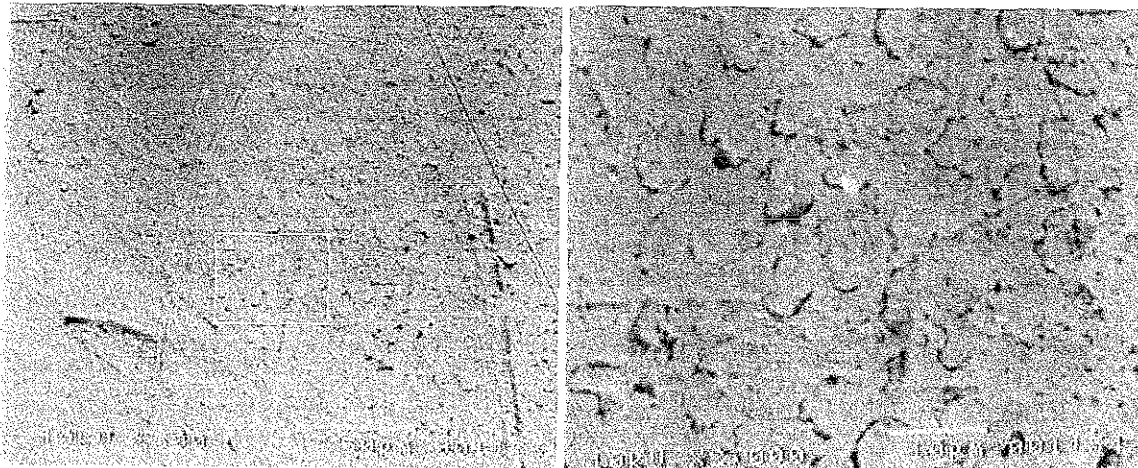


Figura R9. Micrografías de MEB de la superficie de la muestra 4AR a) Zona cervical, b) zona media y c) zona del borde oclusal. Obsérvese que la densidad de orificios ha aumentado considerablemente. En la zona media y oclusal se observan regiones prismáticas sin proceso alguno para revelarlas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

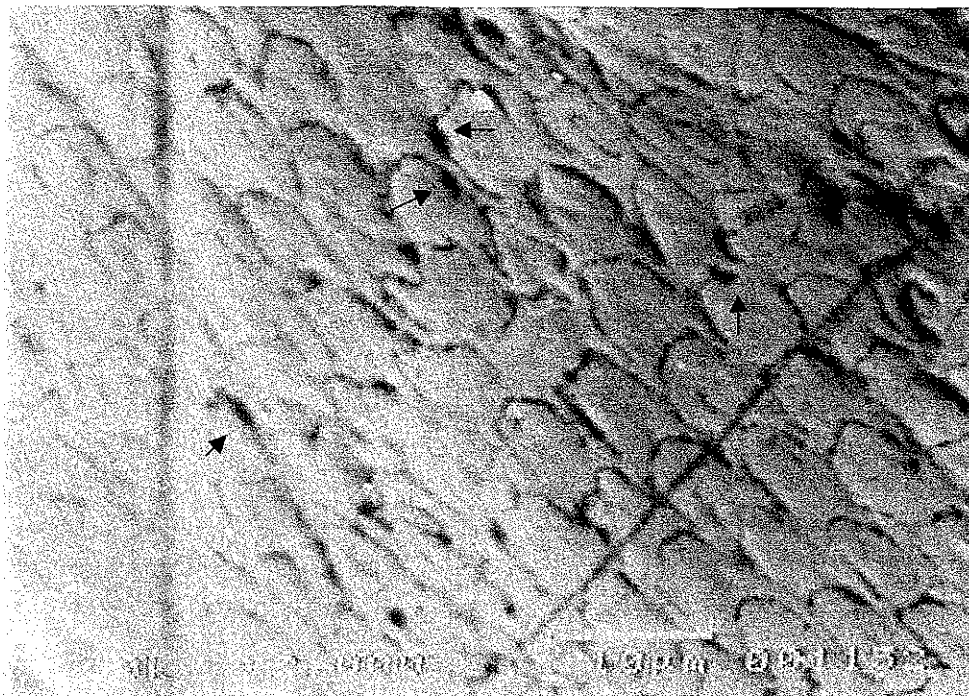
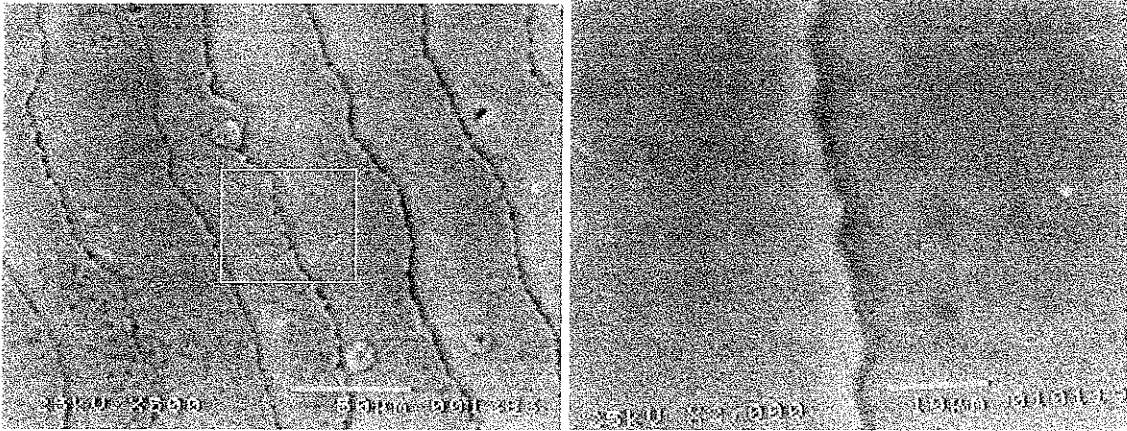


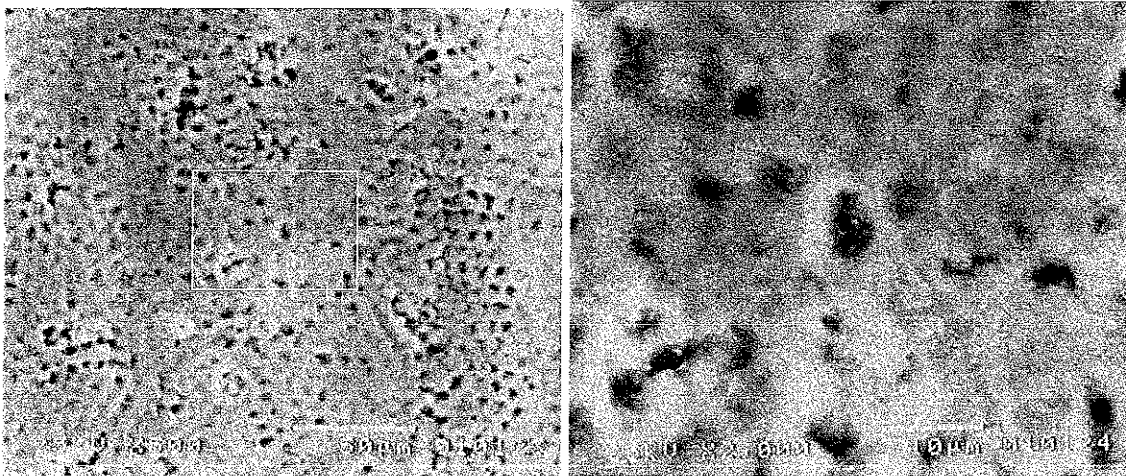
Figura R9d. Zona del borde incisal , cercana a la zona de observación de la figura R8c. Se observa claramente la estructura prismática de la superficie sin necesidad de proceso de preparación alguno como comúnmente se debe llevar a cabo en el esmalte sano para la observación de las estructuras prismáticas. Nótese la presencia de orificios tanto en zonas interprismáticas como prismáticas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

a. Zona cervical



b. Zona media.



Zona borde oclusal.

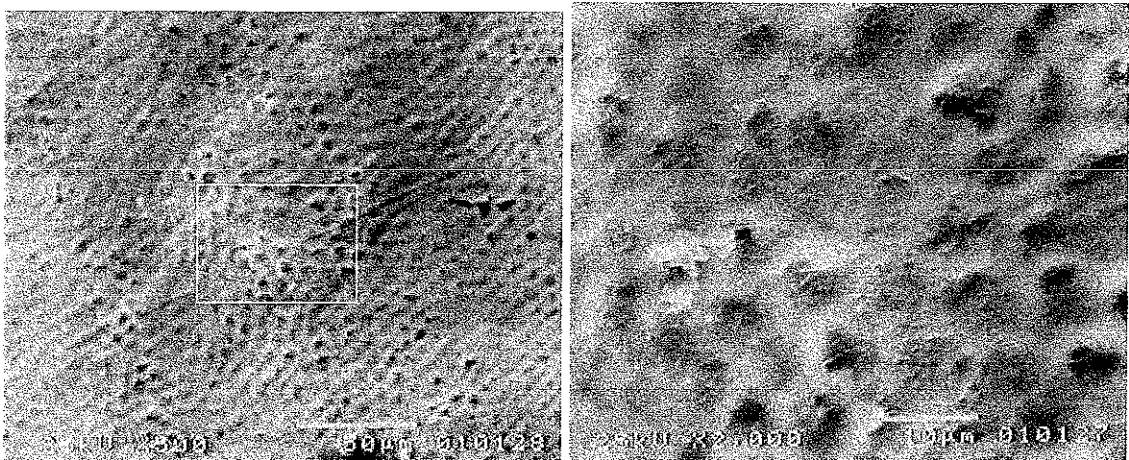


Figura R10. Micrografías de MEB de la superficie de la muestra 5AR a. Zona cervical, b zona media y c. zona del borde oclusal. Obsérvese que la densidad de orificios se ha aumentado considerablemente en este caso. En la zona media y oclusal se observan regiones prismáticas. La ampliación de c, permite observar la presencia de gránulos dentro de los prismas.

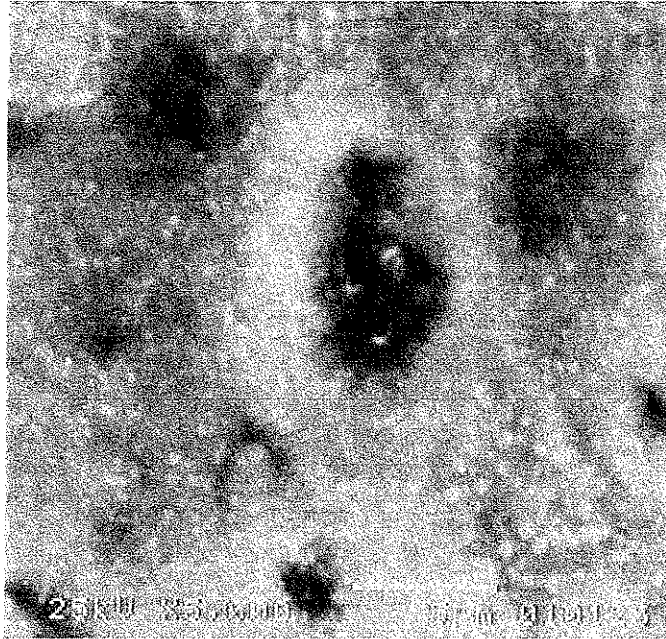


Figura R10d. Micrografía de MEB. Amplificación de la imagen de la zona media presentada en R10b, que permite observar que los orificios corresponden al centro de los prismas, la zona interprismática se observa formada por gránulos de diferentes tamaños

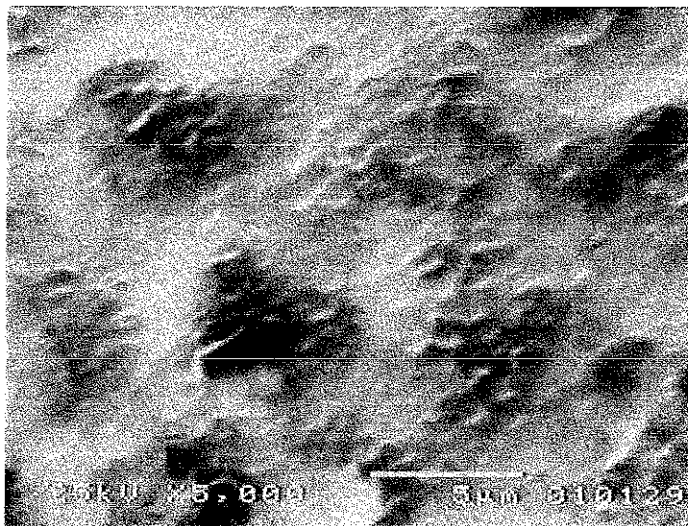
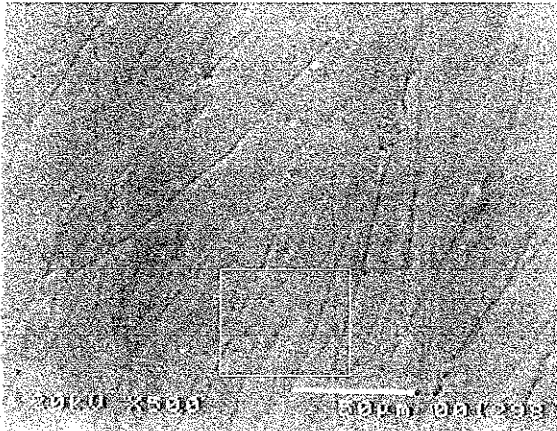


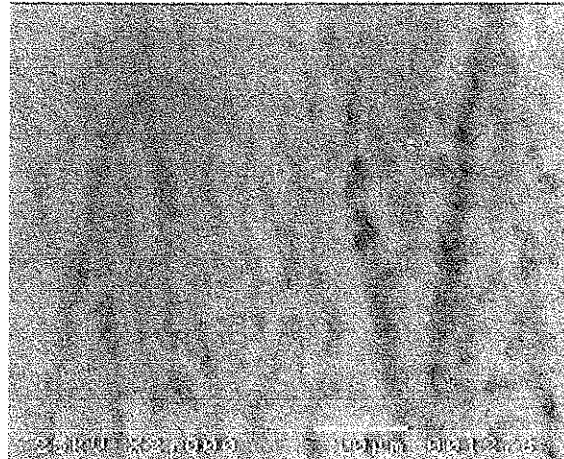
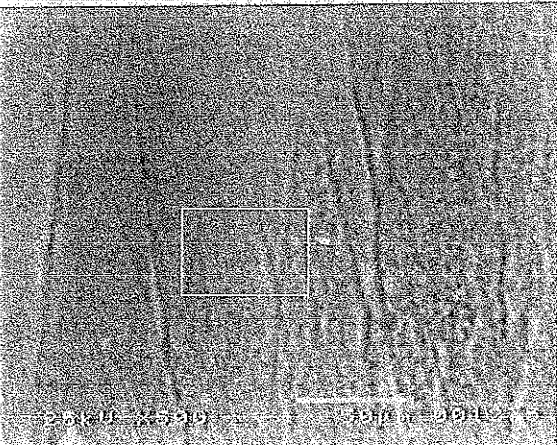
Figura R10e. Micrografía de MEB. Amplificación de la imagen de la zona del borde oclusal presentada en R10c, se observa una estructura prismática, los centros de los prismas están deprimidos, aquí a diferencia de la zona media, en algunos prismas se observa contenido de gránulos. La zona interprismática se observa formada por gránulos de mayor tamaño que los de la región media.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

a. Zona cervical 3BR



b. Zona media 3BR



c. Zona del borde 3BR

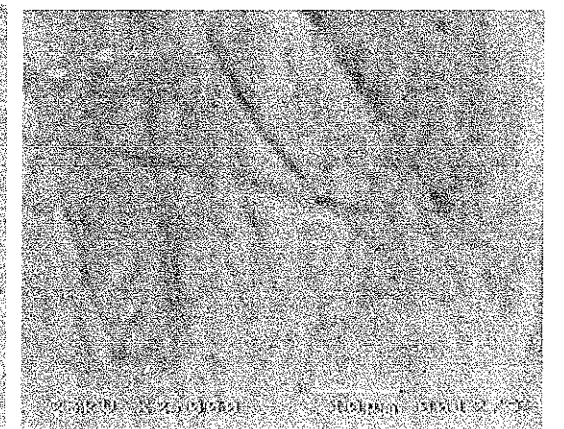
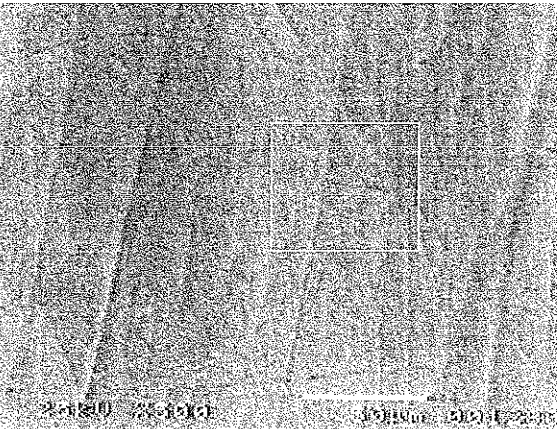
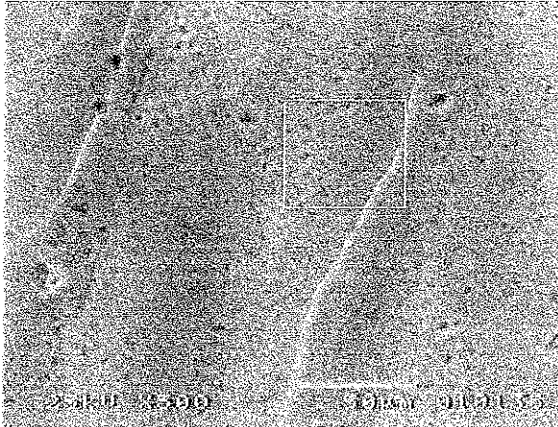


Figura R11. Micrografías de MEB de la superficie de la muestra 3BR. a) Zona cervical, b) zona media y c) zona del borde oclusal. Al igual que en las imágenes correspondientes a los pacientes jóvenes de bajo riesgo, R7 y R8 se observa la superficie del esmalte sano. Nótese la prácticamente ausencia de orificios. La anatomía característica casi ha desaparecido lo que se considera un cambio normal debido a la edad.

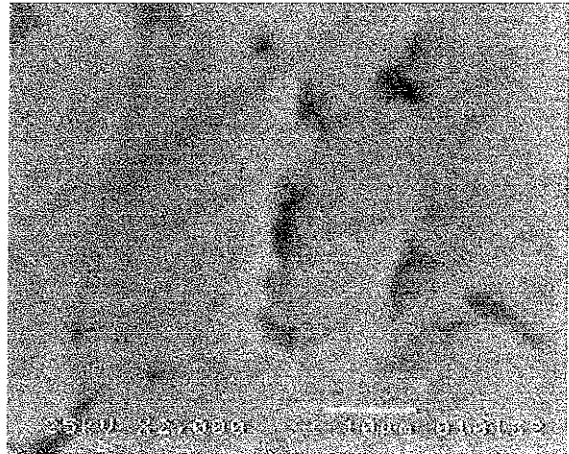
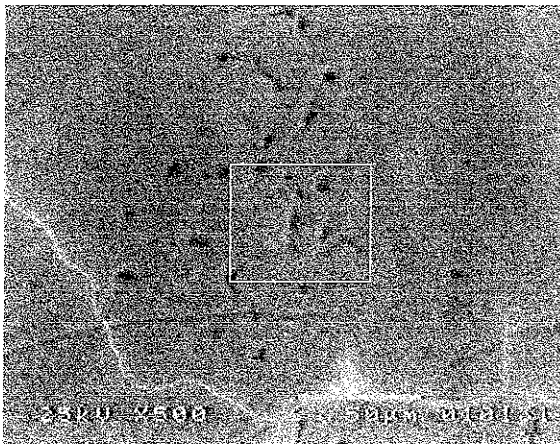
1000 20.0kV X1.00k 10.0um
1000 20.0kV X1.00k 10.0um
1000 20.0kV X1.00k 10.0um

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

a. Zona cervical



b. Zona media



c. Zona borde oclusal

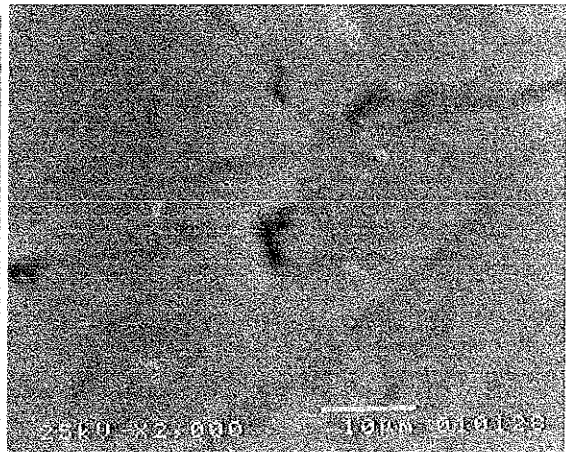


Figura R12 Micrografías de MEB de la superficie de la muestra 6AR. a Zona cervical, b. zona media y c. zona del borde oclusal. Al igual que en la imágenes correspondientes a los pacientes jóvenes de alto riesgo, R9 y R10 la densidad de orificios es alta. La anatomía característica casi ha desaparecido, en la zona cervical está más marcada con relación a la muestra 3BR mostrada en la figura R11a.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.1.2. Estructura interna del esmalte en sección transversal

La sección transversal de los dientes en que se analizó la estructura interna del esmalte se presenta en la figura R13. En este caso las muestras previamente embebidas en resina acrílica fueron pulidas hasta alcanzar un terminado espejo. La zona del corte para todas las muestras fue proporcionalmente similar en todos los especímenes, con el fin de poder hacer comparaciones de las observaciones de la estructura interna del esmalte. Sin embargo, como se observa en la figura, la zona en todas las muestras tiene una muy diferente proporción de dentina, esto se debe a las dificultades que presenta la anatomía del diente para hacer un corte que pase justo por la parte media de la dentina, aún cuando el corte se hizo en la parte media de la corona. Las diferencias entre las muestras en cuanto al tamaño de la corona, la orientación del tejido dentinario, la diferente proporción del espesor del esmalte, con respecto al tamaño de la corona y la respuesta del tejido al tratamiento de pulido, contribuyeron a esta diferente proporción de dentina. La profundidad de la zona de observación con respecto al espesor del esmalte es comparable en el grupo de jóvenes, así como en los adultos, figura R13. Como se puede observar en esta figura, no se observan diferencias claras entre las muestras del grupo de bajo riesgo con las del grupo de alto riesgo. Estas muestras se emplearon también para la medición de dureza que se reportará posteriormente.

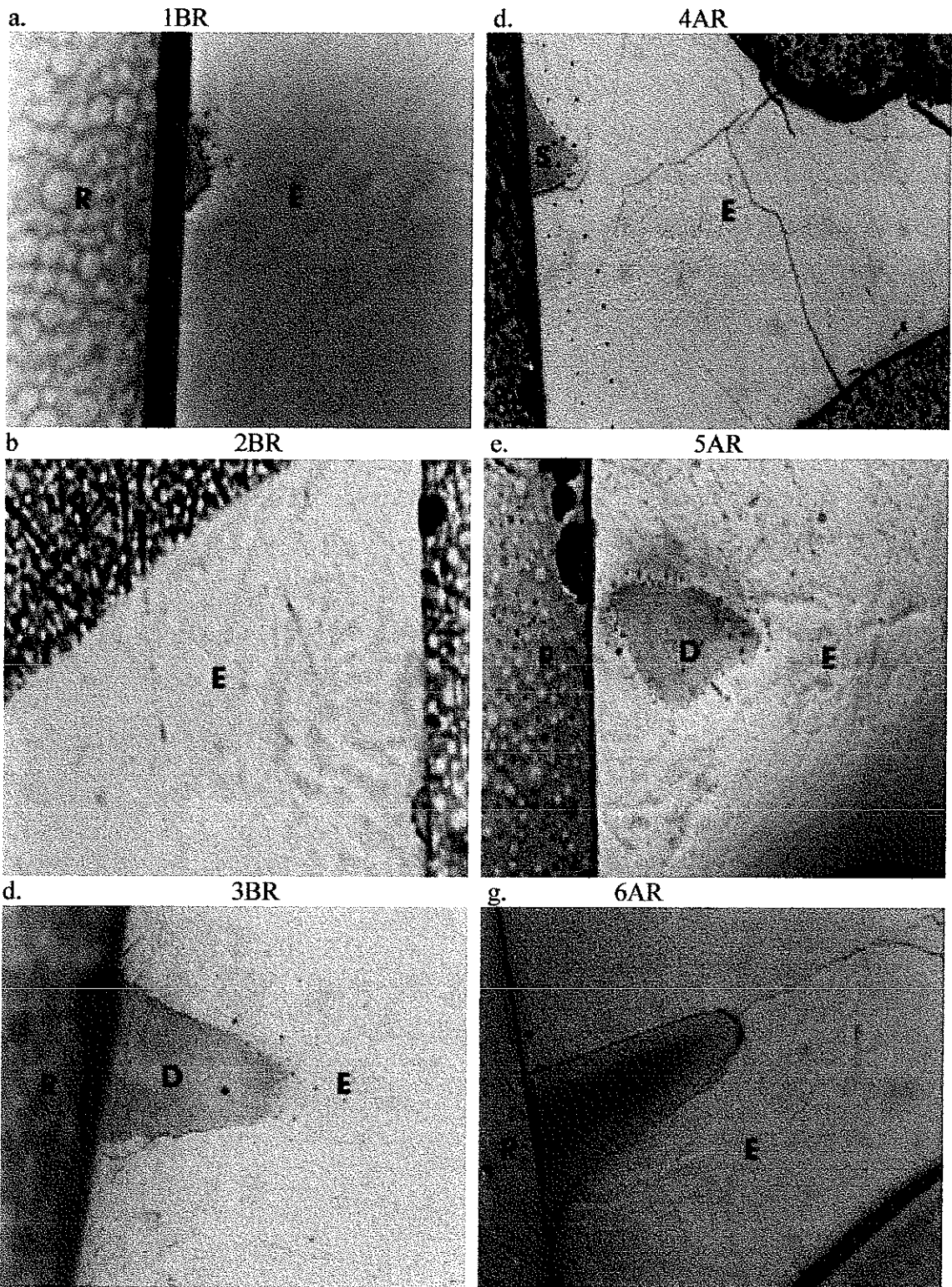
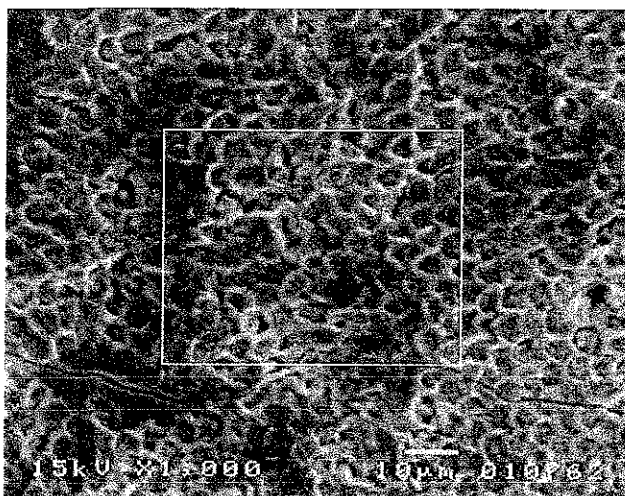


Figura R13. Micrografías de microscopia de luz donde se presenta el aspecto de la sección transversal de los premolares del estudio. E esmalte, D dentina, R resina.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La estructura interna del esmalte en el corte transversal se observó por MEB. Aunque el proceso de preparación y ataque para revelar la estructura, que se le aplicó a las muestras fue el mismo, resultaron diferentes tipos de morfologías en cada caso. La muestra 1BR presentó un patrón de grabado, con ataque preferencial del centro de los prismas, y la superficie observada fue uniforme (figura R14a). Se observan orificios o conductos en la superficie, figura R 14. Es decir, en este caso se disolvió la parte inorgánica del esmalte en forma preferencial.

a.



b.

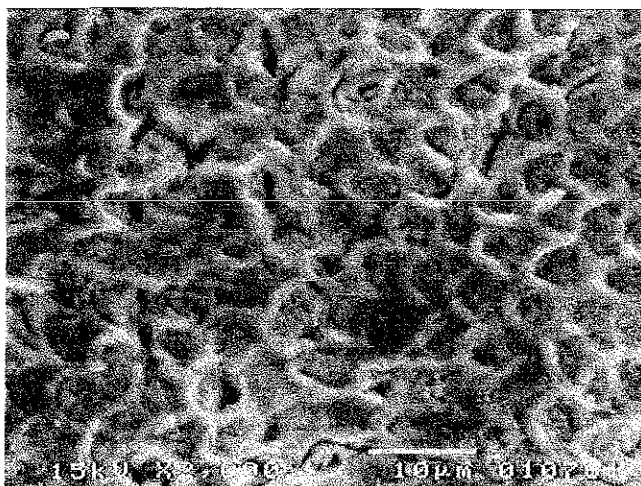


Figura R 14. Micrografía de MEB de la estructura interna del esmalte en corte transversal justo abajo del borde oclusal en la cúspide vestibular de la muestra 1BR. El recuadro en (a) indica la zona ampliada en (b).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La muestra 2BR, presentó un aspecto de prismas muy ordenado y homogéneo sobre la superficie de observación, (figura R 15a). El grabado ácido correspondió al de ataque preferencial del borde de los prismas en este caso, (figura R 15b).

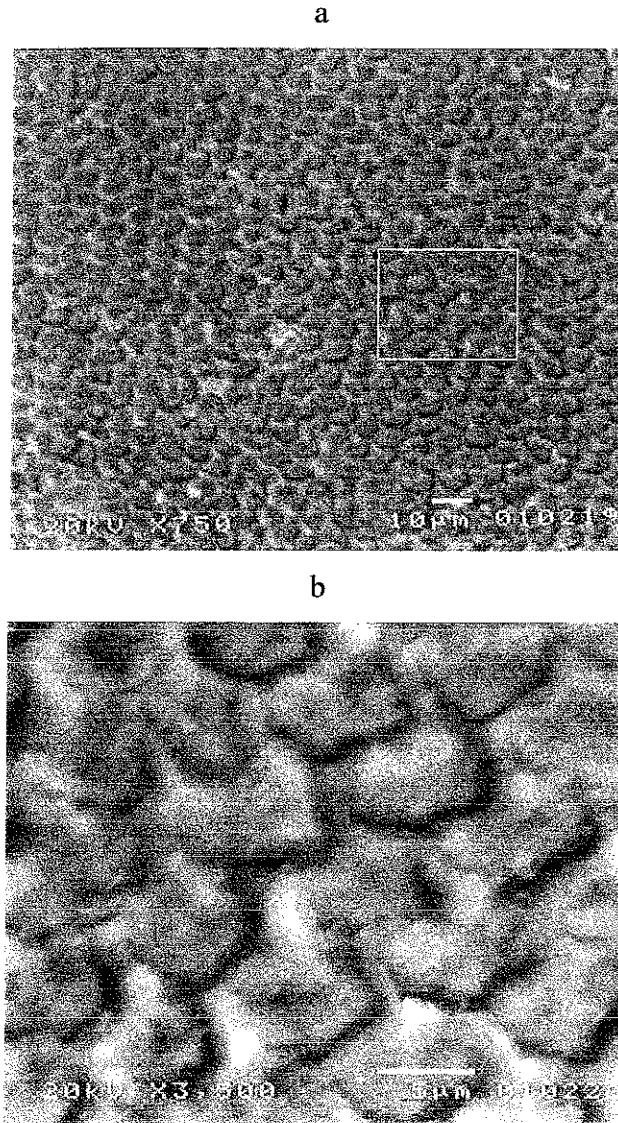
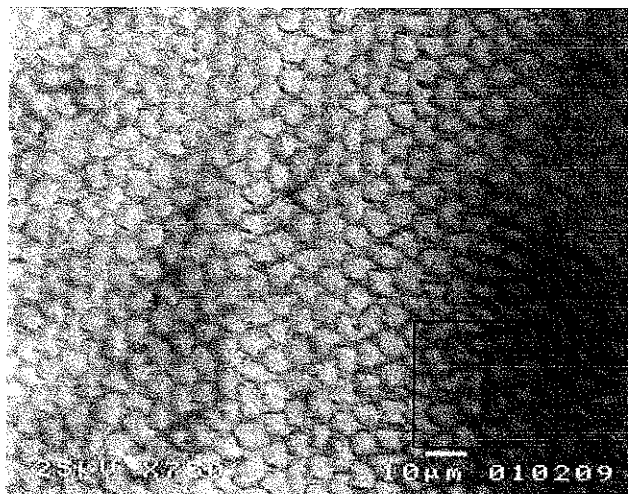


Figura R15. Micrografía de MEB de la sección transversal de la muestra 2BR. a) Se observa un tejido ordenado, uniforme en la superficie. b) Corresponde al recuadro marcado en (a). El patrón de grabado ácido mostró ataque preferencial del borde de los prismas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La sección transversal de la muestra 4AR presenta un tejido uniforme en la superficie de la muestra (figura R 16a). El patrón de grabado ácido que presentó esta muestra no está bien definido. Se observan en esta figura, orificios entre los prismas, (figura R 16b), indicando que la disolución del esmalte se inició de forma interprismática hacia los prismas.

a



b

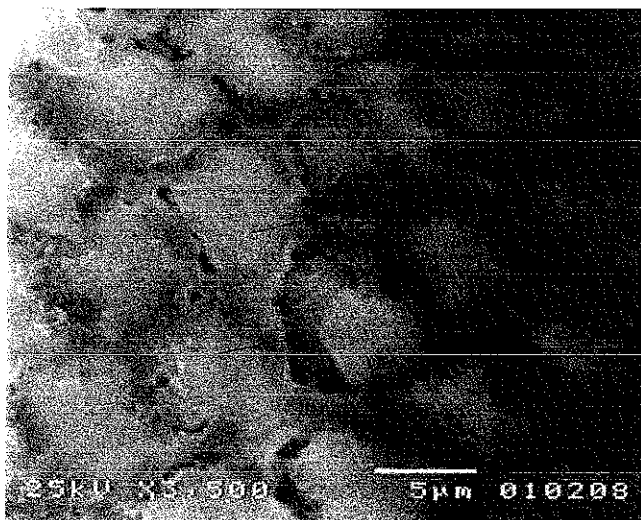


Figura R16. Micrografía de MEB de la sección transversal de la muestra 4AR. Obsérvese que el grabado ácido fue en la región interprismática y la disolución del prisma se inició en los bordes y continuó hacia los prismas (indicado por las flechas). La zona más oscura en el lado derecho de la imagen, presenta una mayor disolución interprismática.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La muestra 5AR presentó en el corte transversal, líneas incrementales y un patrón de grabado ácido con ataque preferencial del borde de los prismas, con amplios espacios entre éstos, indicando una mayor disolución que la mostrada de la figura 15 a del paciente de bajo riesgo 2BR. Aquí fue posible observar un conducto coincidiendo con la línea incremental.

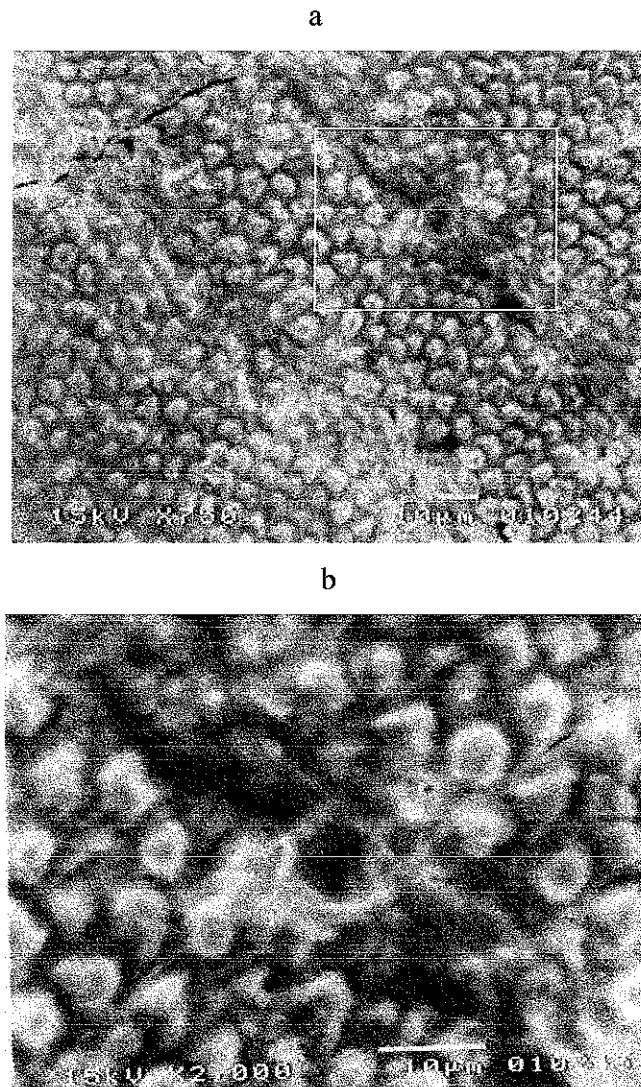
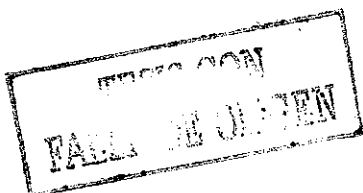


Figura R17. Micrografía de MEB de la sección transversal de la muestra 5AR. a) imagen a baja amplificación. b) amplificación del recuadro mostrado en (a). El ataque ácido fue interprismático, se observa mayor separación entre los prismas indicando una mayor disolución.



La figura R18. muestra el aspecto de la sección transversal de la muestra 3BR. Se observa un patrón preferencial de ataque al borde de los prismas. La superficie en la muestra fue homogénea. Se observa también ataque en algunos prismas.

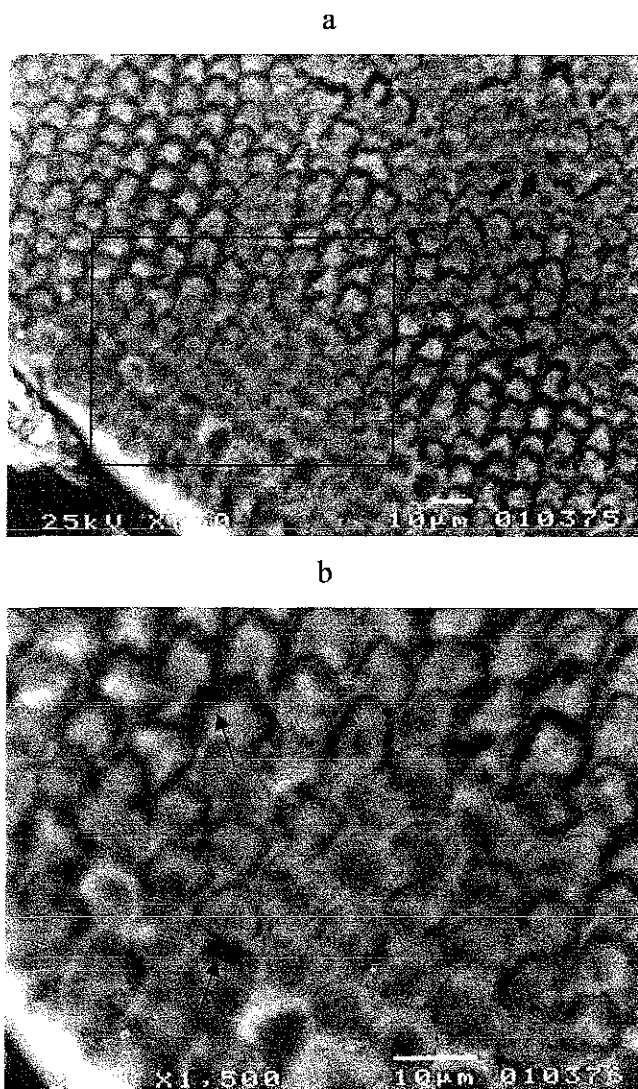


Figura R18. Aspecto de la sección transversal de la muestra 3BR en donde se observa el tipo de disolución que se presentó. El recuadro en (a) indica la zona ampliada en (b). Las flechas indican la presencia de disolución prismática.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La muestra 6AR. Presentó un patrón de ataque preferencial en el centro del prisma, la superficie de la muestra presenta un aspecto homogéneo (figura R19). La imagen a mayor resolución permite observar cristalitas que conforman el prisma del esmalte dental. Algunos prismas se observan con mayor ataque, indicados por las flechas.

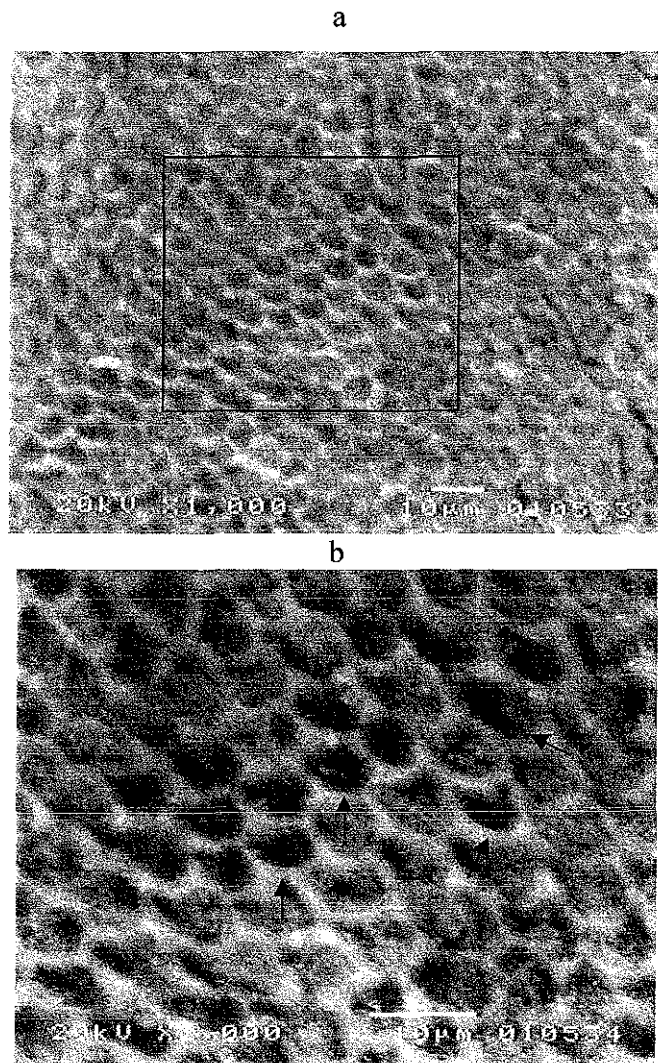


Figura R19. Aspecto de la disolución presentada en la sección transversal de la muestra 6AR. a. Se observa una superficie de la muestra uniforme. b. La mayor ampliación del recuadro mostrado en (a) que permite distinguir granos dentro de los prismas. Obsérvese el proceso de disolución prismático que se presentó en este caso.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

En general en las secciones transversales de las muestra no se encontró un comportamiento diferente entre las muestras de alto y bajo riesgo. Las muestras 1BR y 6AR mostraron un patrón de disolución por ácido con ataque preferencial al centro del prisma, mientras que en las muestras restantes se observó un patrón de ataque preferencial a la periferia del prisma. Es importante señalar que si bien no se observaron diferencias en cuanto al patrón preferencial de ataque ácido, las muestras de alto riesgo presentaron el patrón de ataque de forma más intensa. La zona derecha de la imagen de la figura 4AR (zona mas oscura, figura R 16) presenta una mayor separación de los prismas, debido a que la disolución de las zonas interprismáticas fue mayor, el aspecto el esta zona es similar al observado en la muestra 5AR (figura R17b). Estas zonas, con espacios interprismáticos mas atacados no se observan para las muestras 2BR y 3BR (figuras R 15 y R18 respectivamente). Así mismo si se compara el patrón de disolución del centro del prisma, en las muestra 1BR (figura R14 b) y la muestra 6AR (figura R19 b) se observa en esta última, mayor número de prismas donde el centro parece haber sido totalmente disuelto por el ataque ácido

3.1.3. Estructura del esmalte en sección longitudinal

La estructura del esmalte en la sección longitudinal se analizó en la cúspide, la cara lateral del diente y el surco, se registraron tres regiones, cerca de la unión amelodentinaria, la parte central del espesor del esmalte y el borde externo de la superficie.

De acuerdo a la estructura característica del esmalte en sección longitudinal, la descripción de la trayectoria de los prismas en estas regiones puede resumirse de la siguiente forma: La estructura cerca de unión amelodentinaria, donde la dirección de los prismas, presenta un entrelazado de grupos de prismas, que da el aspecto característico de bandas de Hunter Shreger, puede observarse también ondulaciones o cambio en la dirección de los prismas. La parte central del espesor del esmalte donde los cambios en la dirección de los prismas son menos pronunciados, no se presenta entrelazado en el trayecto de éstos y el cambio en dirección parece ser mas individual que en grupos de prismas. Finalmente en el borde externo, la dirección de los prismas sigue un camino recto, con ligeras ondulaciones, los prismas parecen estar mas espaciados y las ondulaciones o cambio de dirección son menos intensos y menos frecuentes. La observación de estas direcciones se verán influenciadas por

el tratamiento de la muestra, como por ejemplo la dirección del corte, la zona observada, el procedimiento de pulido y ataque para revelar la estructura entre otros. Con estas consideraciones se describe la organización del tejido, en las muestras estudiadas en base a las observaciones de la unidad estructural del esmalte, el prisma.

La muestra 1BR en la zona de la cúspide presentó a nivel de la unión amelodentinaria un arreglo ordenado de prismas, se observan ondulaciones ligeras y no se observa entrecruzamiento de los prismas, figura R20, la zona central presenta prismas cortados en una dirección inclinada con respecto al plano de corte, los prismas parecen entrecortados, la zona es uniforme. La zona del borde externo presenta prismas bien alineados, la trayectoria de estos no presenta solución de continuidad. La amplificación de la zona del borde mostrada en la figura R20d, permite observar mejor la continuidad y dirección de los prismas, en la amplificación de la zona mostrada en la figura R20e se observa que los espacios oscuros que marcan la división de los prismas se hacen mayores cuando el prisma se contrae o se flexiona. Se observan también que algunos de los prismas presentan zonas oscuras dentro del área del prisma que dan la apariencia de orificios.

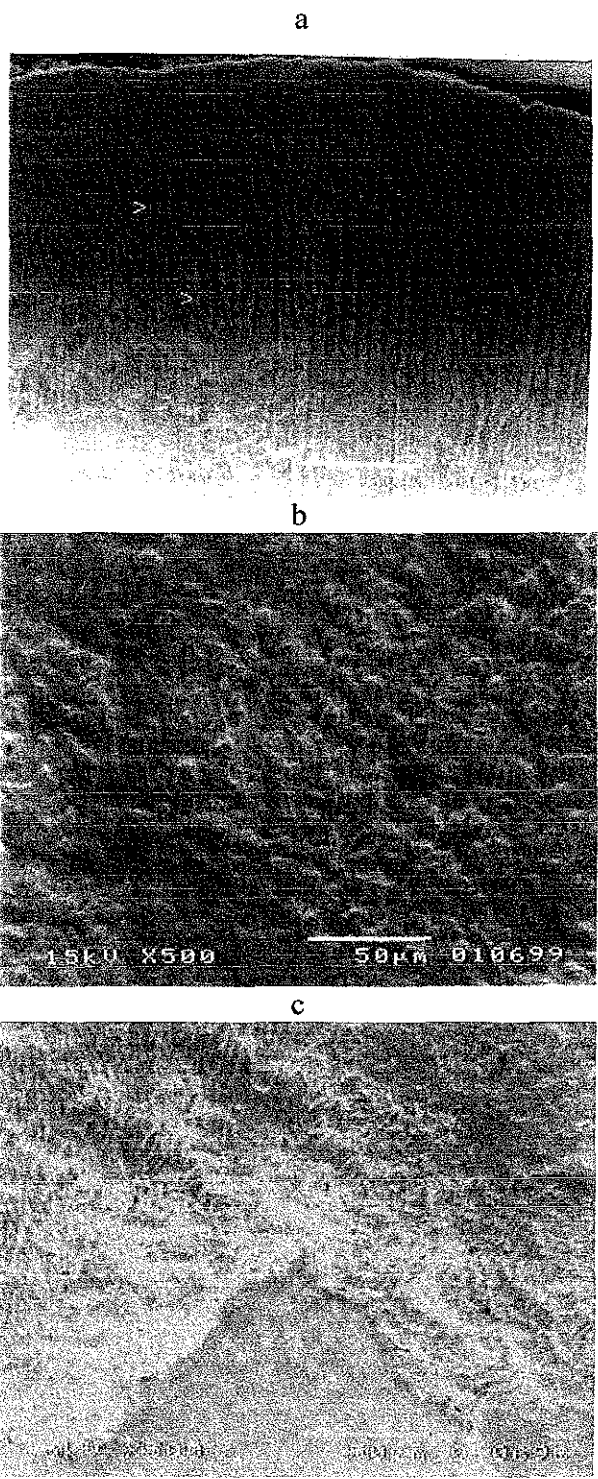
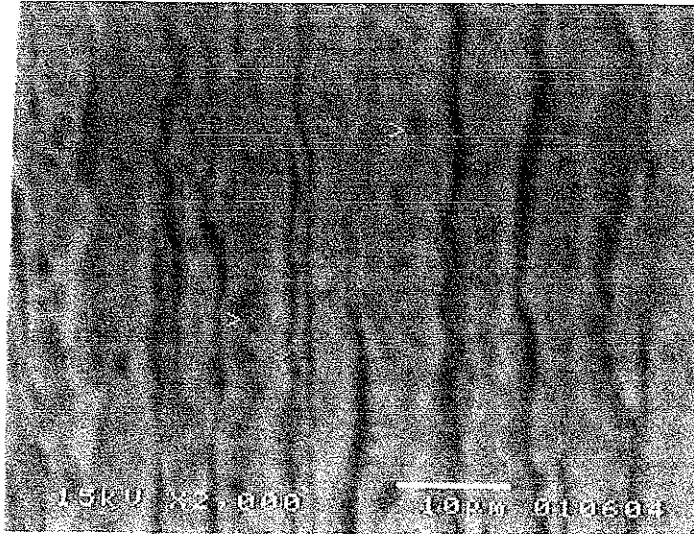


Figura R20. Micrografías de MEB de la muestra 1BR, que corresponden a la estructura interna del esmalte en la zona de la cúspide. a) borde externo, b) parte media y c) unión amelodentinaria.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



La figura R20d presenta las fotografías de MEB de la muestra 2BR. en el borde de la cúspide. Los prismas presentan un trayecto recto hasta el borde y se aprecian perforaciones pequeñas, indicadas por las flechas.

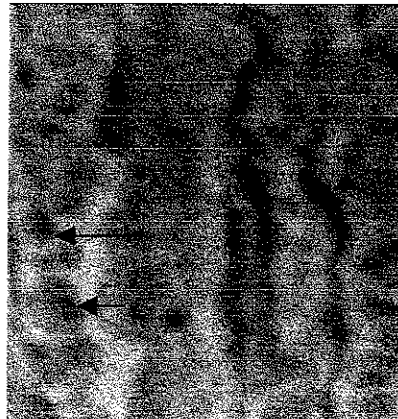


Figura 20e. Muestra una ampliación de la zona izquierda de la figura 20d, se pueden observar perforaciones en los prismas, señalados por las flechas en el lado izquierdo de la imagen. La flecha en el lado derecho, señala un espacio oscuro dejado por la flexión del prisma.

El surco oclusal de esta muestra presentó en el borde externo una zona no prismática que da la apariencia de capas sobrepuestas. En la figura R21a se puede apreciar la zona prismática y las flechas indican la zona no prismática del borde. La ampliación mostrada en R21c muestra la ausencia de estructura prismática en esta zona.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

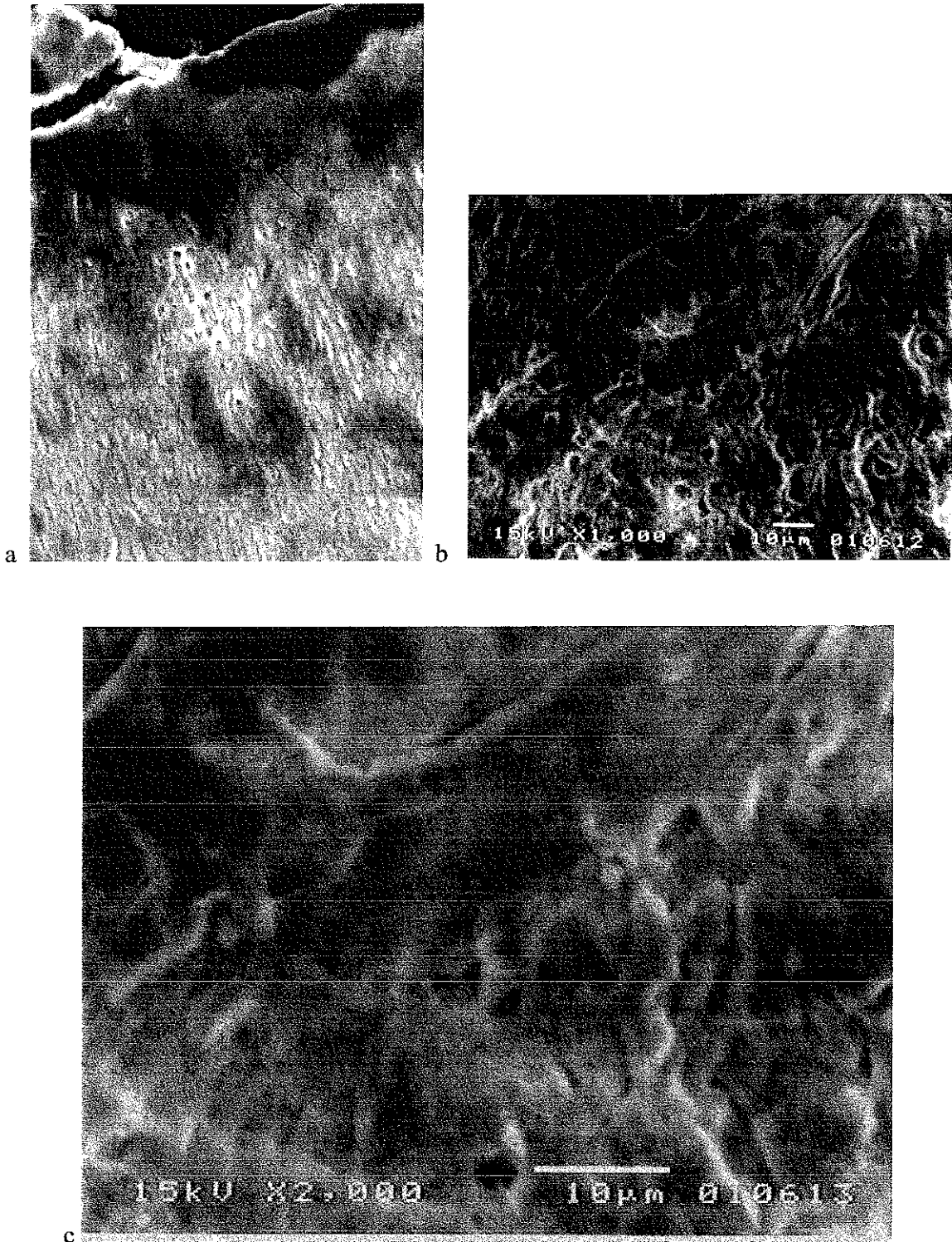
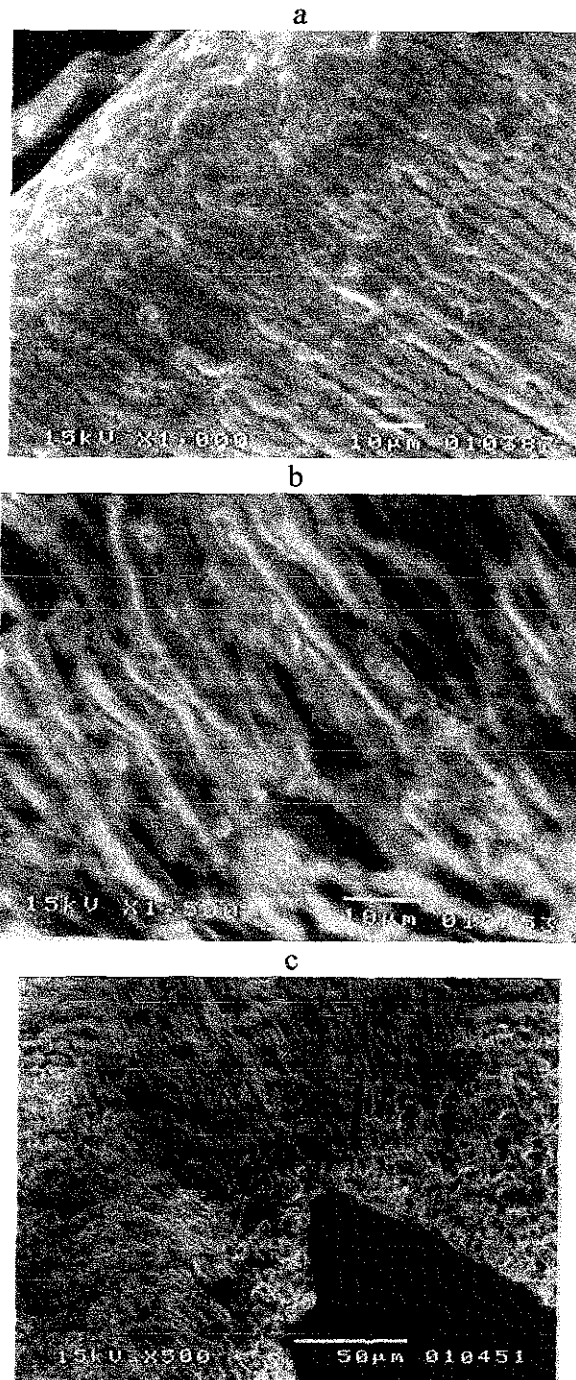


Figura R21 Micrografía de MEB de la zona del surco de la muestra 1BR a. Se observa estructura prismática en la zona interna y el borde externo presenta una estructura no prismática 500X. b. Presenta el borde del surco con una estructura que semeja capas sobrepuestas. c. La zona a mayor amplificación que permite ver que el borde externo no presenta estructura prismática, en la parte inferior derecha se observa parte de la estructura prismática.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La muestra 2BR presentó en la unión amelodentinaria los prismas con ondulaciones, no entrecruzados. En la zona media presenta también ondulaciones con los prismas definidos, se observan cambios de dirección por grupos de prismas. El borde externo de esta muestra presentó prismas alineados.

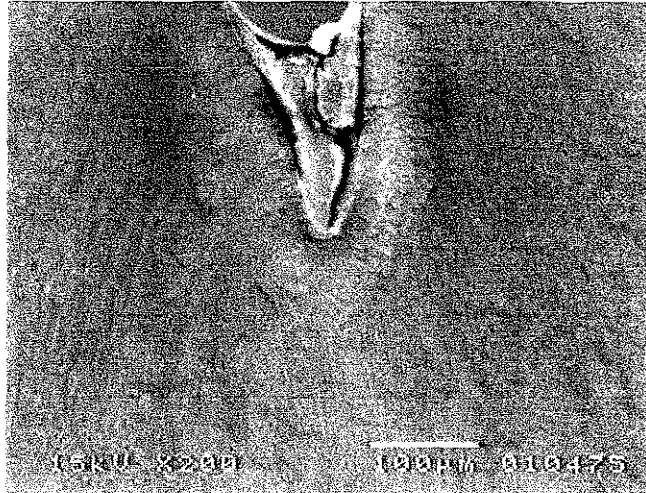


TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

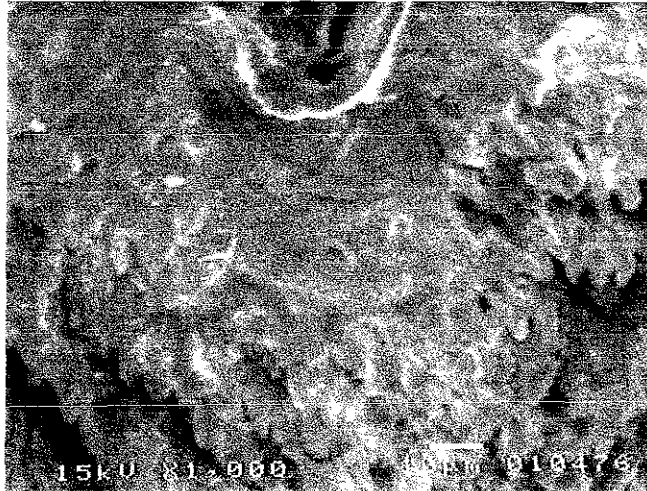
Figura R22. Estructura interna del esmalte en la cúspide de la muestra 2BR. a. zona del borde, b. Parte media de la cúspide, c. zona de la unión amelodentinaria.

El surco de esta muestra permite observar mejor la estructura de capas sobrepuestas que se observó en la muestra 1BR, la figura R23 muestra el aspecto del borde externo del surco.

a



b

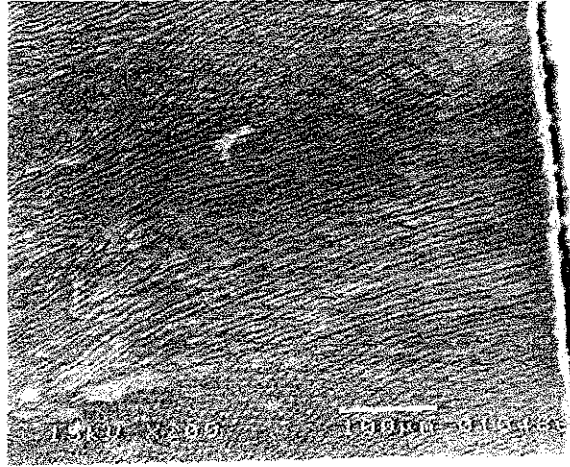


TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

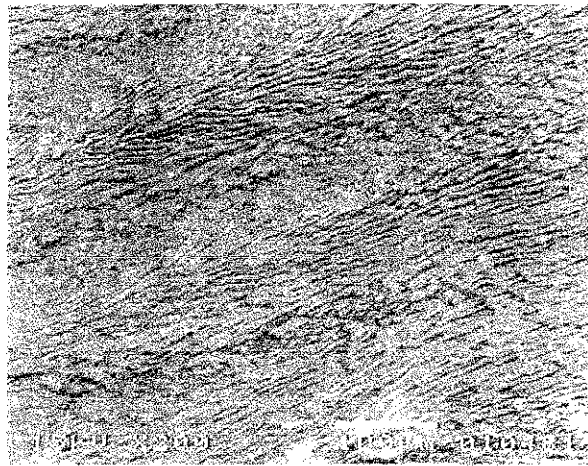
Figura R23. Micrografía de MEB de la zona del surco de la muestra 2BR. Se observa que el borde externo del surco presenta una estructura no prismática que semeja un tejido de capas sobrepuestas.

La estructura interna del esmalte en la cara vestibular se presenta en la figura R24 en la unión amelodentinaria se observan prismas en dirección longitudinal y transversal que corresponden a la estructura característica que forma las bandas de Hunter Schreger. En la parte media de la zona se observa que continúa esta estructura característica que se prolonga hasta el borde de la superficie. El tejido en el diente se homogéneo con estructura prismática bien definida.

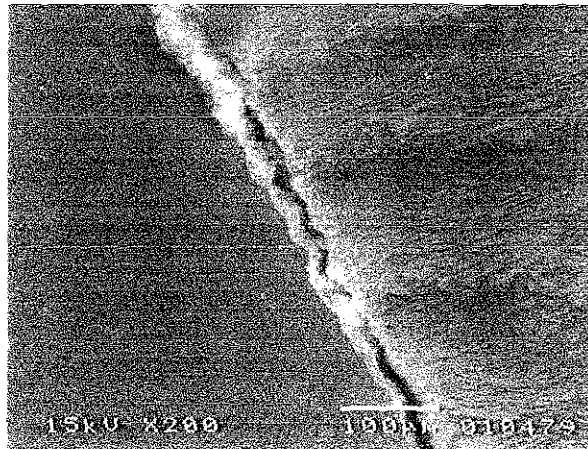
a



b



c



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura R24. Micrografías de MEB de la estructura interna del esmalte en la cara vestibular. a) Borde externo, b) Zona media c) Zona de la unión amelodentinaría. Se observa una estructura prismática bien definida con arreglo característico de bandas de Hunter Schreger que se prolonga desde la unión con la dentina hasta el borde externo.

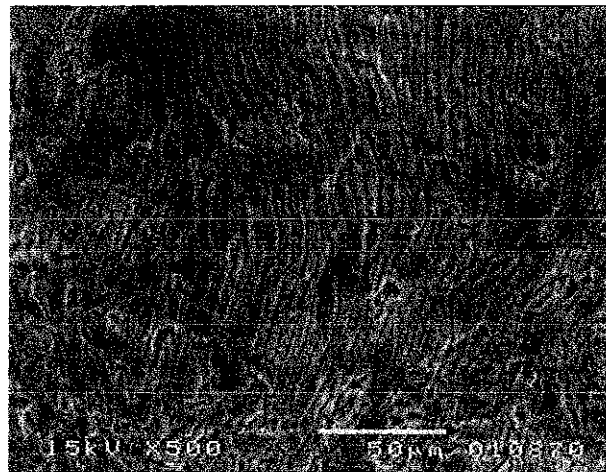
La muestra 4AR presentó en la cúspide, una estructura interna del esmalte no homogénea, se observan regiones con diferente arreglo dentro de cada zona. La zona de la unión, la parte media y el borde, se presentan en la figura R25. Las zonas claras observadas en la zona del borde externo corresponden a los bordes de la solución de continuidad de los prismas, según se observa en la ampliación mostrada en R26b. La figura R27 a. muestra la zona media a menor ampliación, se puede observar que presenta zonas muy oscuras y diferentes arreglos de los prismas. Las zonas izquierda y derecha de esta figura (27 a) se amplifican, para mostrar mejor estos diferentes arreglos, en las figuras R27b y R27c respectivamente. La zona del lado izquierdo de la imagen se amplifica en la figura 27b. El arreglo es muy desordenado y no característico. La zona del lado derecho de la imagen, presentó una estructura más cercana a la normal pero con solución de continuidad de los prismas y espacios interprismáticos más amplios e irregulares que los observados en las muestras de bajo riesgo. Una ampliación de la zona señalada por la flecha en esta figura, se presenta en la figura 27d. Se observa que los espacios oscuros entre los prismas son más amplios e irregulares que los de las muestras de bajo riesgo, debido a que los giros y contracciones de los prismas son más pronunciados y más frecuentes. Se puede observar un prisma con un giro completo de 180° .

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

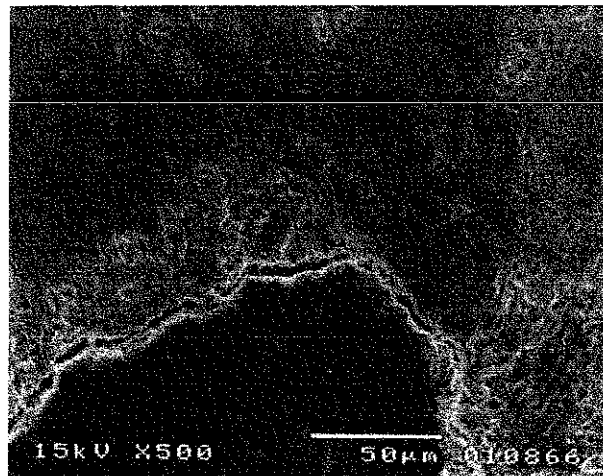
a



b



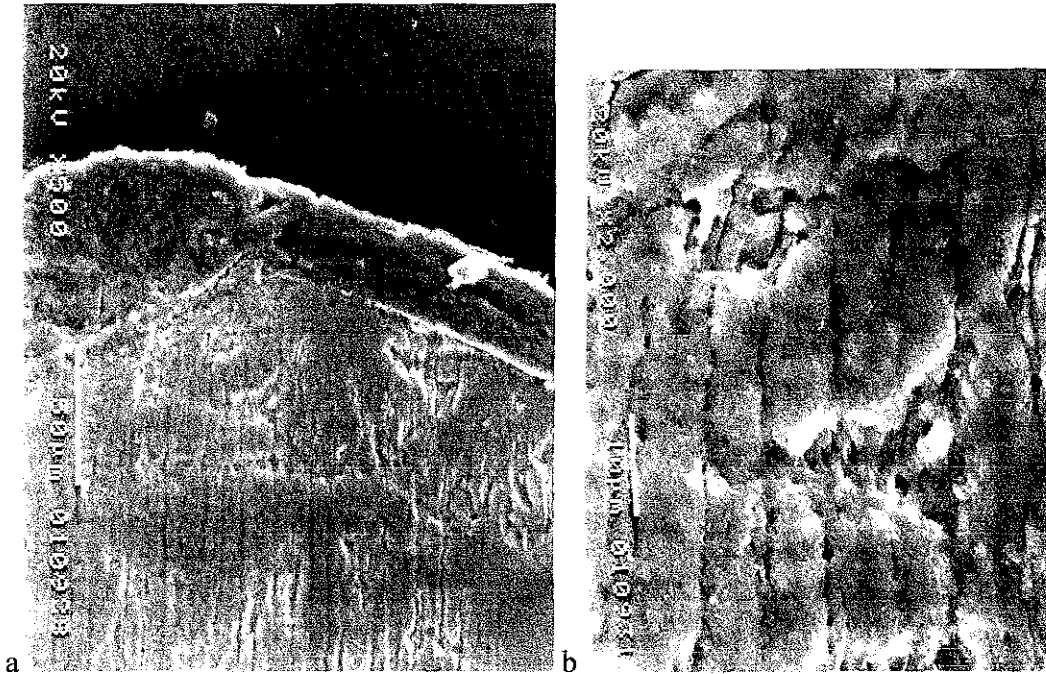
c



TESIS CON
ALLA DE ORIGEN

Figura R25. Micrografía de MEB de la estructura interna del esmalte en la cúspide de la muestra 4AR. El tejido no es homogéneo las zonas mas oscuras presentan otra estructura. a) Borde externo b) parte media c) unión amelodentinaria.

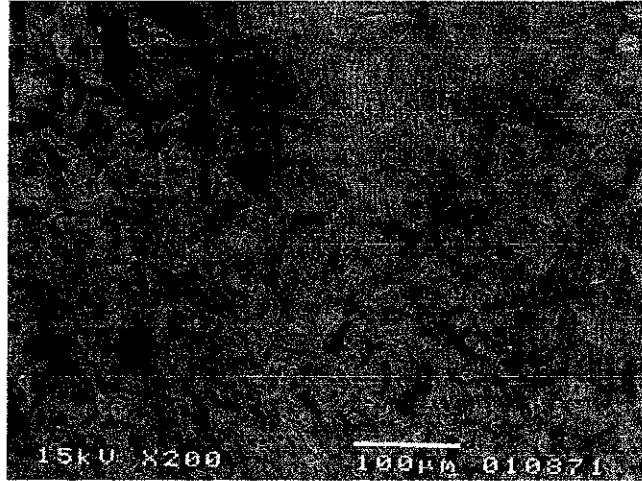
En la zona de la cúspide se observó solución de continuidad en los prismas que se observan como bordes claros en la imagen a baja amplificación. Figura R26.



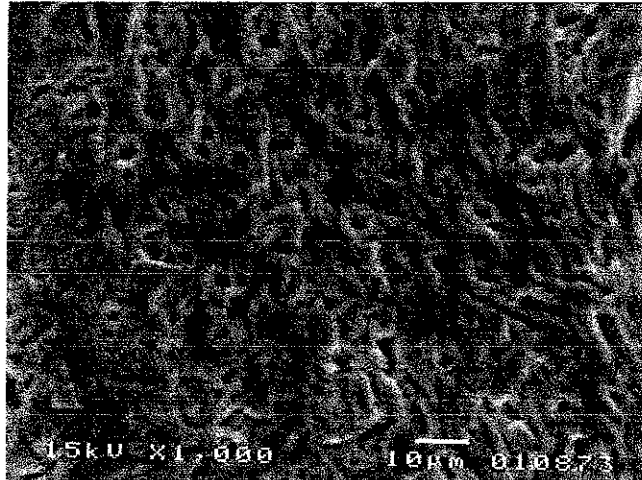
a b
Figura R26. Micrografía de MEB a) cúspide de la muestra 4AR la amplificación en (b) muestra que las zonas mas claras corresponden a solución de continuidad de los prismas

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

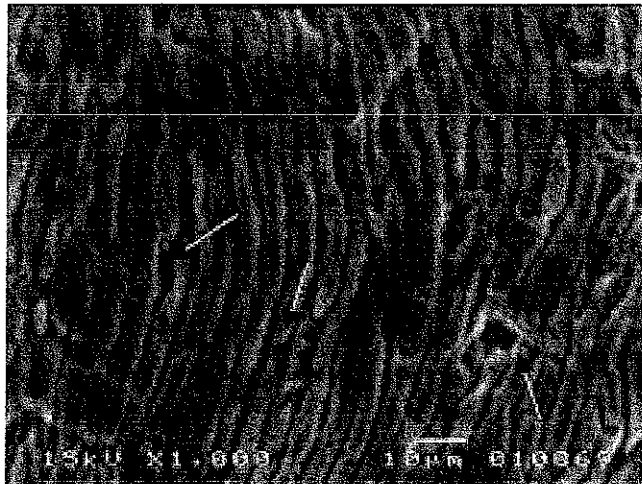
a



b



c



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura R27. Zona media de la cúspide de la muestra 4 AR se observan diferentes arreglos de los prismas a) la zona a baja amplificación, b) amplificación de la zona del lado izquierdo de la imagen en (a), se presenta un arreglo no definido de los prismas, c) amplificación de la zona derecha de la imagen en (a), los prismas presentan una orientación longitudinal con ondulaciones y solución de continuidad indicada por las flechas.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 27d. Amplificación del prisma indicado por la flecha en la figura 27c, en el ángulo inferior izquierdo de la figura se observa un prisma con un giro completo y la fractura de éste, los espacios oscuros que marcan la separación entre los prismas son mas amplios e irregulares debido a las contracciones o flexiones de los prismas mas generalizadas que las observadas en los prismas de las muestras de bajo riesgo.

La estructura interna en la cara vestibular de la muestra 4AR se presenta en la figura R28 al igual que en la cúspide presenta diferentes arreglos, zonas con dirección de los prismas no definida.

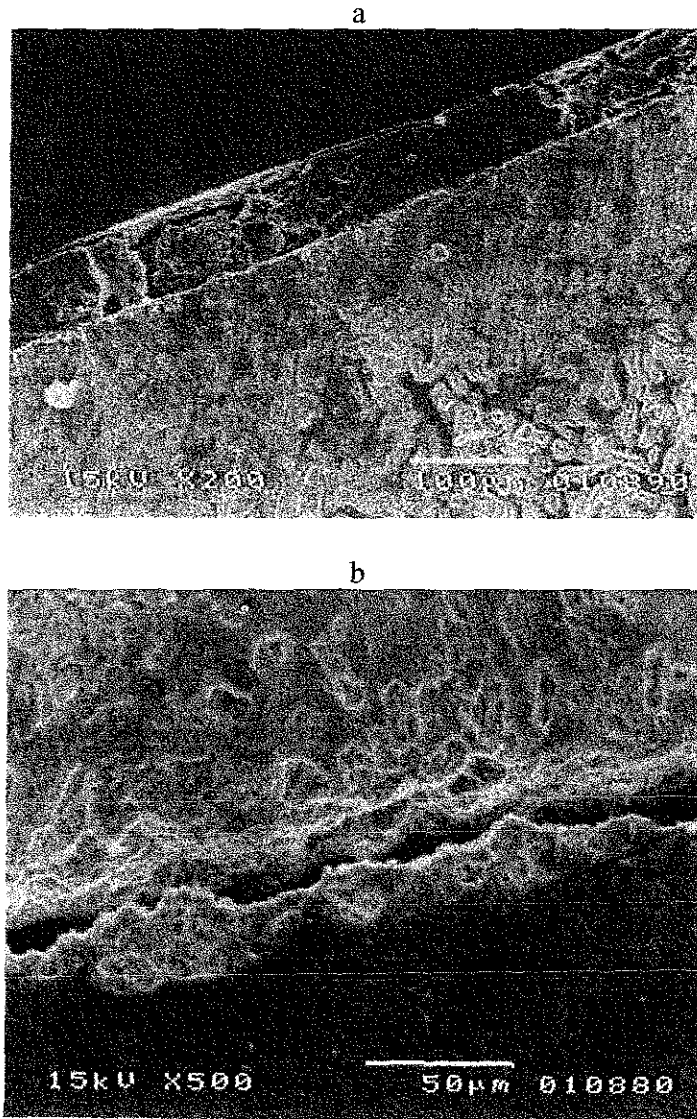


Figura R28 Micrografías de MEB de la estructura interna del esmalte en la cara vestibular de la muestra del paciente 4AR a) zona del borde externo, b) Zona de la unión.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El surco en esta muestra 4AR presenta en el borde externo una zona diferente al tejido interno, esta zona no presenta la definición de tejido en capas que se observa en las muestras de bajo riesgo 1BR y 2BR. La amplificación permite observar zonas prismáticas en esta zona no bien diferenciada (figura R29).

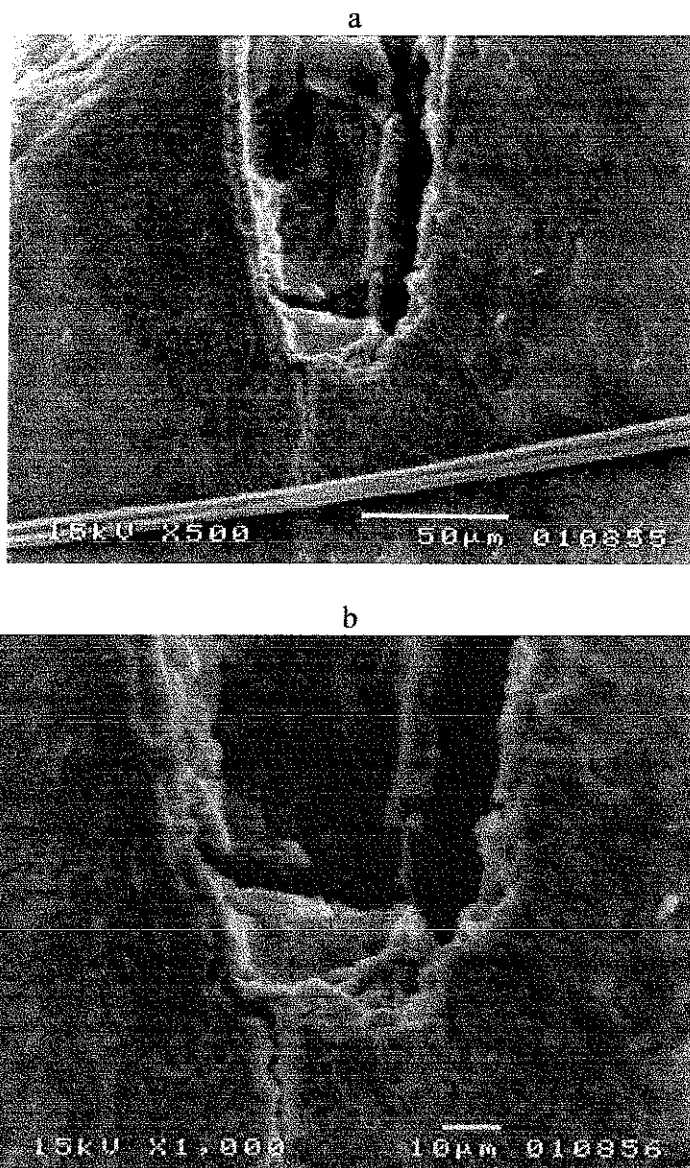
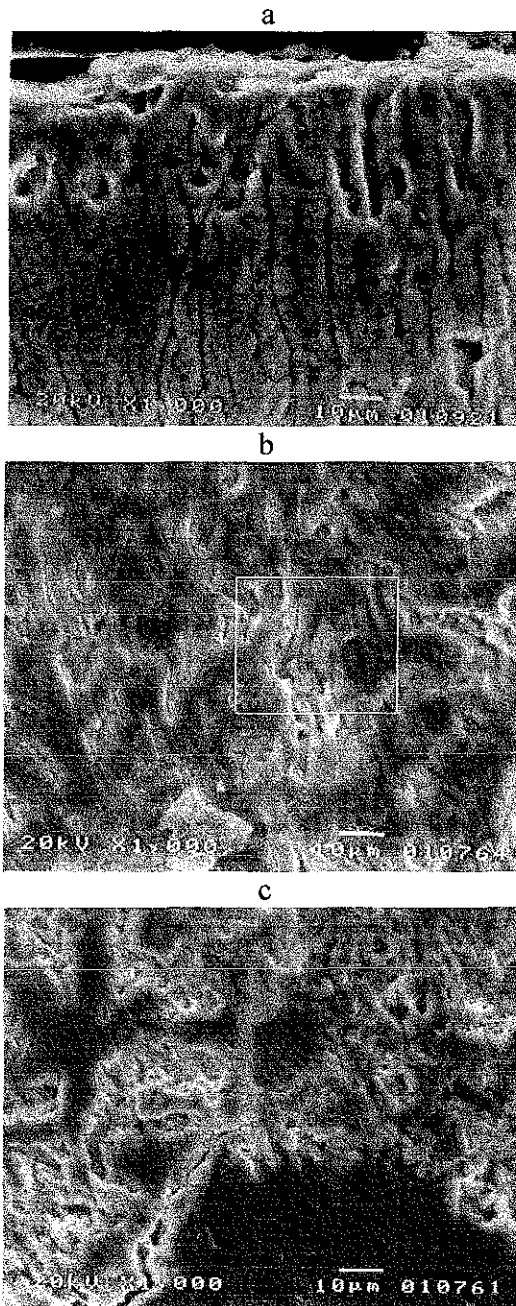


Figura R29. Micrografía de MEB del surco de la muestra 4AR. a) muestra una zona diferente en el borde del surco. El surco presentaba ya una lesión cariosa en la pared lateral izquierda del surco (esquina superior izquierda en a.) La amplificación en (b) permite identificar zonas prismáticas del lado izquierdo del surco.

La muestra 5AR presentó en la cúspide una estructura no definida en la unión con la dentina, en la parte central los prismas se encuentran con ondulaciones muy marcadas, cambios bruscos de dirección y solución de continuidad de prismas. El borde externo presenta prismas con dirección longitudinal, rectos y con solución de continuidad.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura R30. Micrografía de MEB de la cúspide de la muestra 5AR a) zona del borde, se observan prismas en arreglo longitudinal con solución de continuidad, b) Zona media, se observan prismas con cambios bruscos de dirección y solución de continuidad, c) La zona de la unión amelodentinaria no presenta un arreglo definido de los prismas.

La zona media de la cúspide presentó también otro arreglo que se muestra en la figura R31

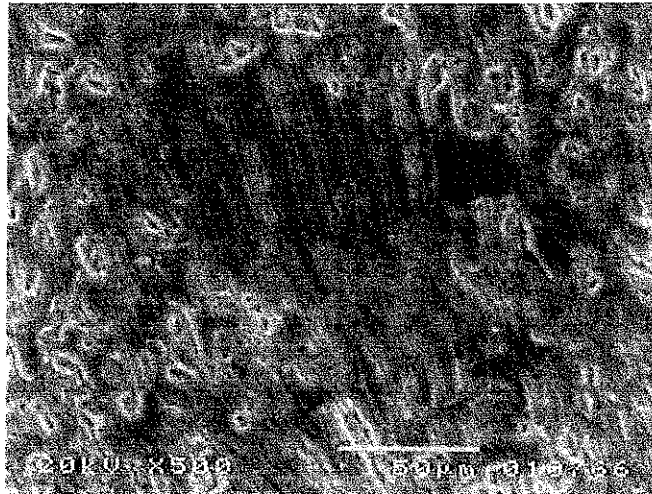


Figura R31a. Zona media de la cúspide de 5AR presenta otro arreglo de prismas

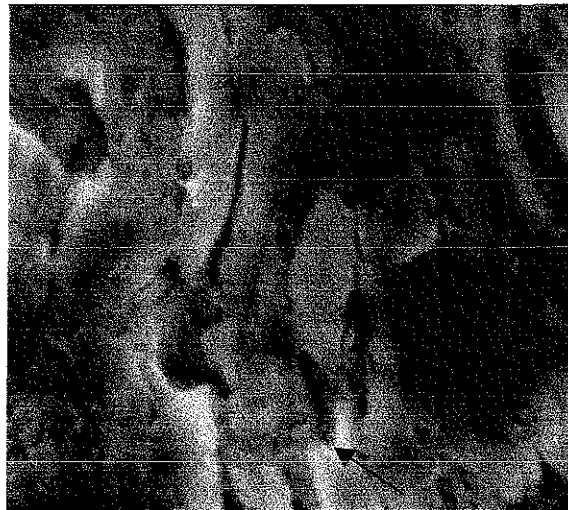


Figura R31b. Amplificación de la zona marcada en la figura 30b. Se observan prismas girando y con solución de continuidad. Las flechas señalan un prisma que presenta ondulación, giro y solución de continuidad. En la flecha superior se observa que las zona oscura entre los prismas se hace mas amplia donde el prisma se flexiona.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La observación de la zona del borde externo a menor amplificación (figura R32) permite observar la presencia de líneas que van desde la parte externa al interior y solución de continuidad de varios prismas que dan apariencia de orificios o cavidades en el tejido.

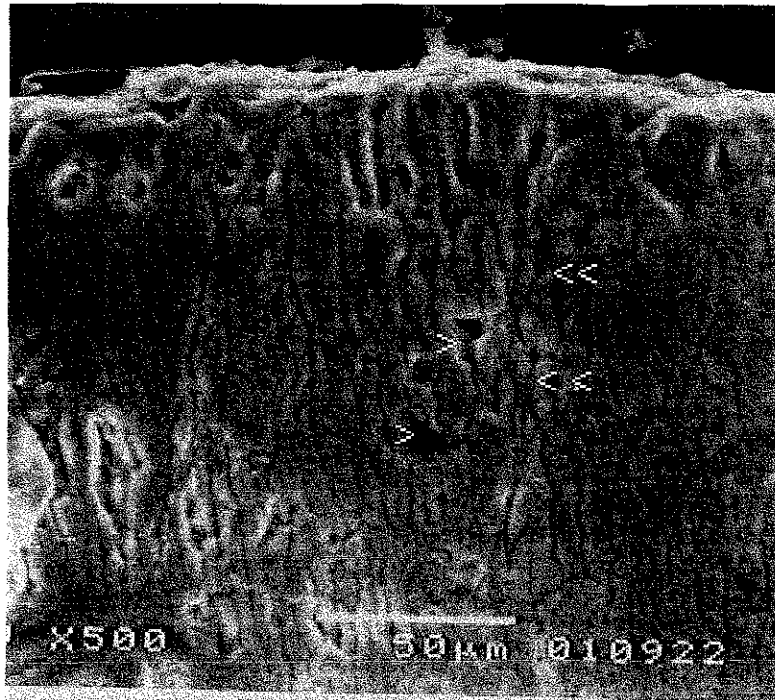
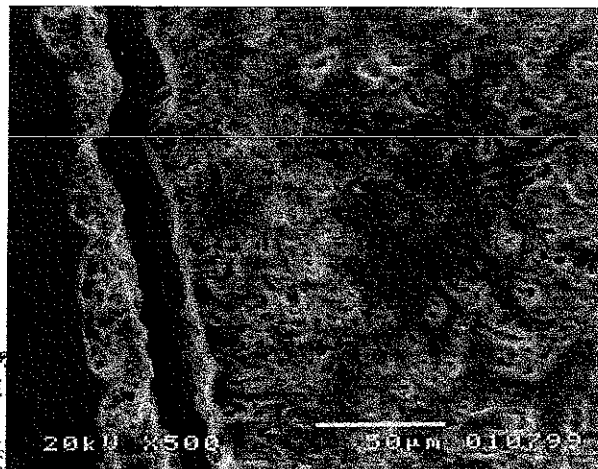
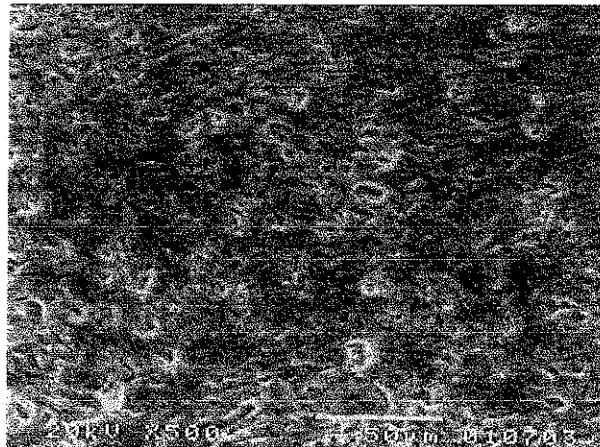
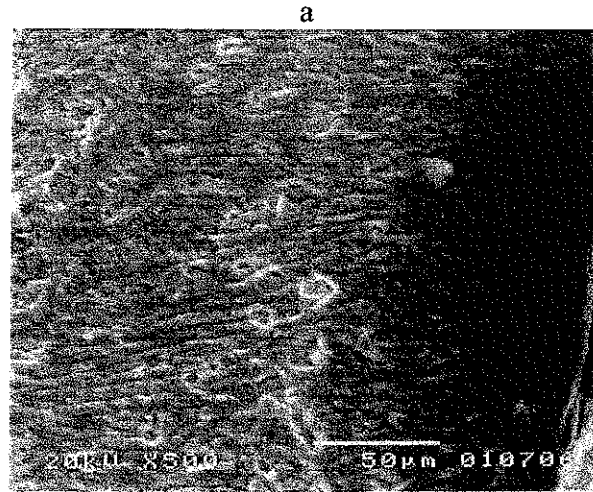


Figura R32. Micrografía de MEB del borde externo de la cúspide de la muestra 5AR, las flechas señalan cavidades o solución de continuidad de los prismas en su extensión. La doble flecha señala una línea similar a una fractura, que alcanza la superficie externa del diente, y, a lo largo de esta se observa cambio de dirección de algunos prismas.

La superficie interna de la cara vestibular de la muestra 5AR se presenta en la figura R33. Se observa un arreglo de prismas no definidos en la zona de la unión y de la parte media, en el borde externo la trayectoria de los prismas se hace más regular pero no llega a estar bien definida. El borde externo de la muestra presenta una zona oscura en la cual se encontró arreglo prismático, esta zona está en un plano inferior probablemente debida al procedimiento de preparación de la muestra. Amplificaciones de esta zona se presentan en la figura R33 d y e.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura R33. Aspecto interno de la estructura del esmalte en la cara vestibular de la muestra 5AR. Los prismas presentan un arreglo no definido en la dirección de los prismas a borde externo, b. parte media, c. zona de la unión amelodentinaria.

d



e

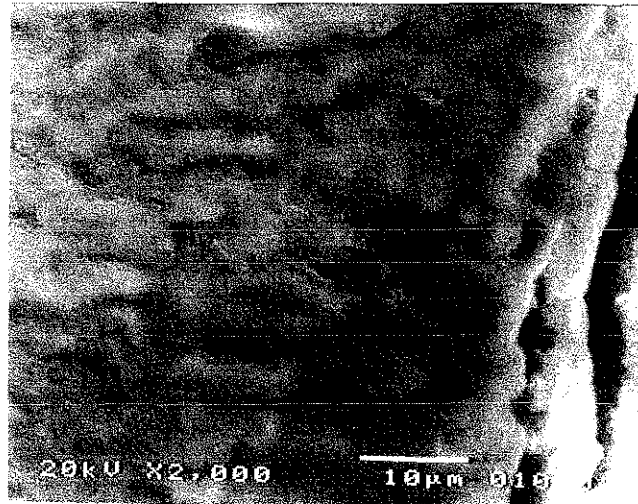
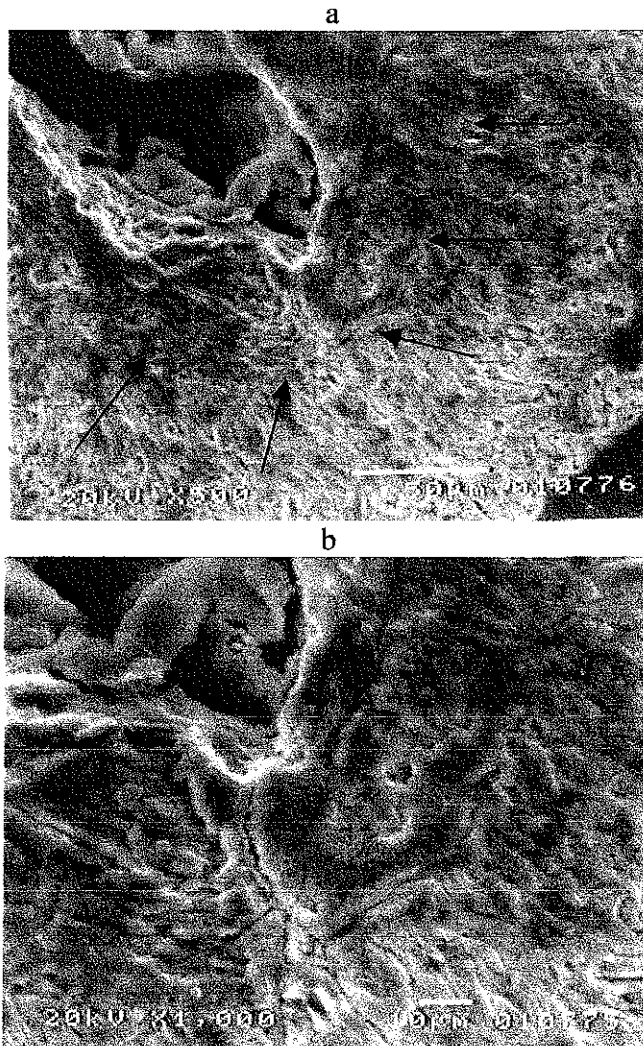


Figura R33 d, c. Amplificaciones de la zona oscura en el borde de la cara vestibular de la muestra 5AR. Se observa arreglo prismático. La zona está en un nivel inferior al plano de la muestra.

El surco en la muestra 5AR presentó ya lesión de caries en el fondo del surco. En el borde del surco se observa una zona con tejido diferente al tejido interno, el cual presenta una estructura prismática, aunque parece estar bien delimitado el fin de la zona prismática, la estructura del borde no se define claramente como en las muestras de bajo riesgo. La amplificación del borde permite observar zonas de estructura prismática dentro de la zona del borde. (Figura R34)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura R34. Micrografía de MEB de la zona del surco de la muestra SAR. La muestra presentaba ya una lesión cariosa en el fondo del surco. a) Se observa el límite entre la zona prismática interna y la zona no prismática que rodea el borde, señalada por las flechas. El tejido en el borde no está bien definido. b) La amplificación permite ver dentro de esta zona del borde pequeñas zonas, como parches de tejido prismático.

La muestra del paciente adulto de bajo riesgo 3BR, presentó una estructura interna del esmalte en la zona de la cúspide, que correspondió a la estructura característica del esmalte en sección longitudinal. La unión presenta prismas con ondulaciones, no entrecruzados. La zona media presenta prismas muy alineados con ondulaciones muy ligeras y la zona del borde presenta los prismas rectos, no se observan solución de continuidad en los prismas. A la derecha de las imágenes de estas dos zonas se observa una zona más oscura en donde se observa mayor ondulación de los prismas. (Figura R35).

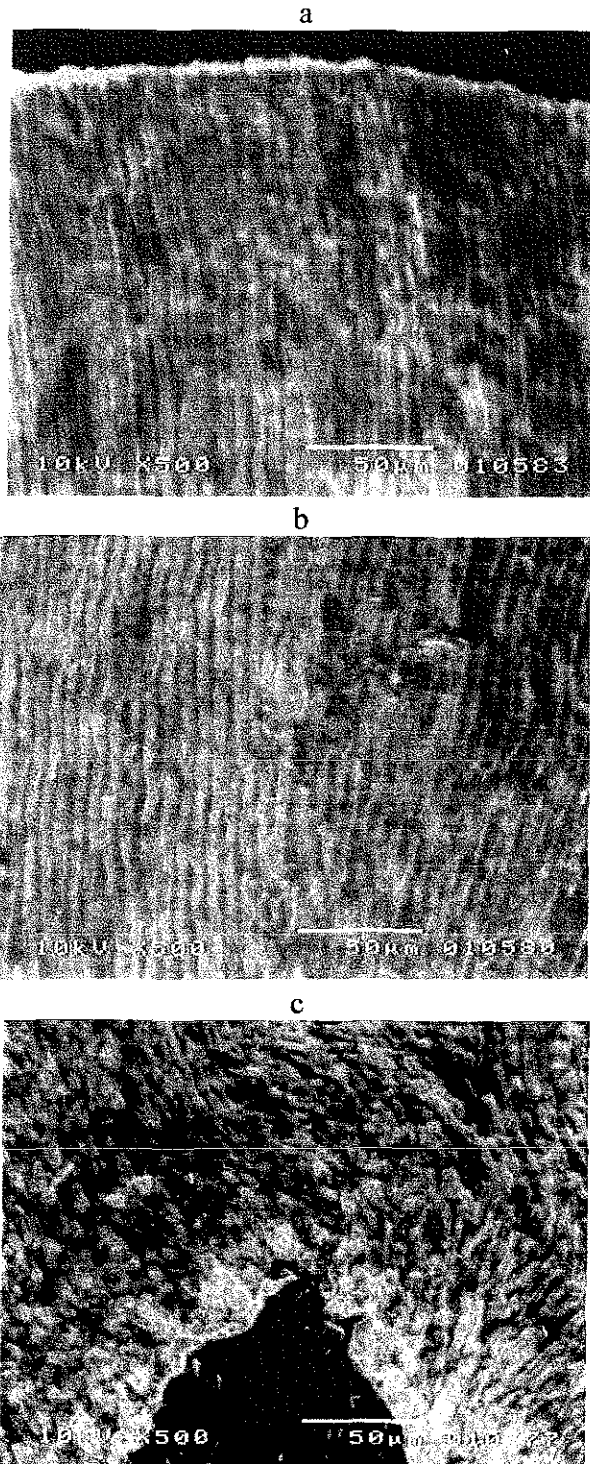


Figura R35. Micrografía de MEB de la estructura interna del esmalte en la cúspide de la muestra 3BR. Se observa estructura prismática característica a) zona del borde externo, b) zona media, c) zona de la unión amelodentinaria.

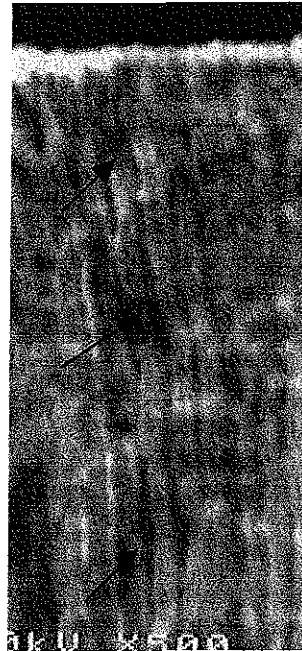
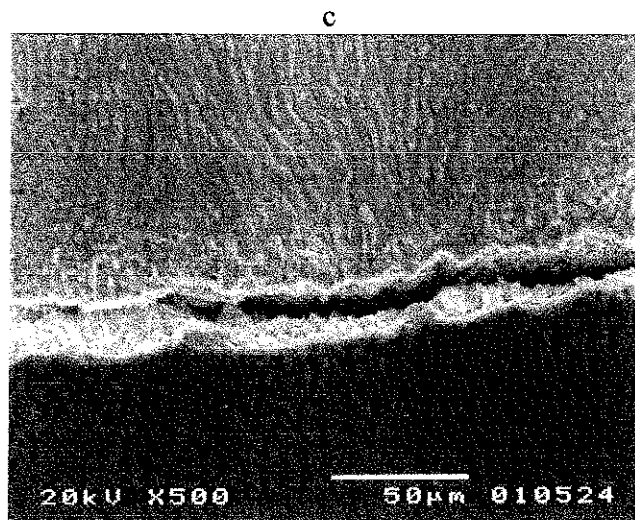
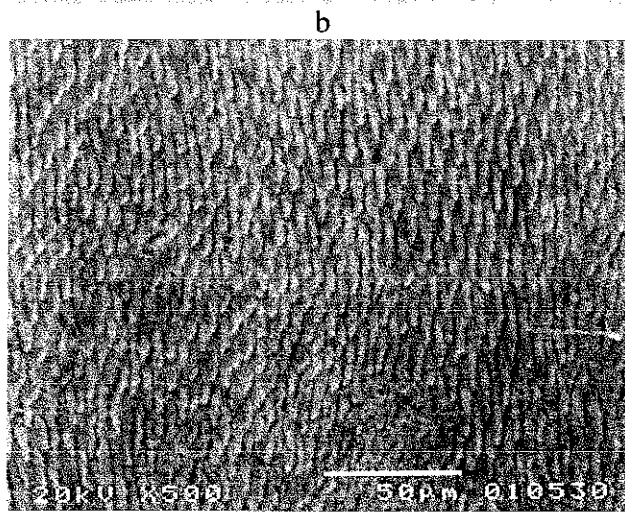
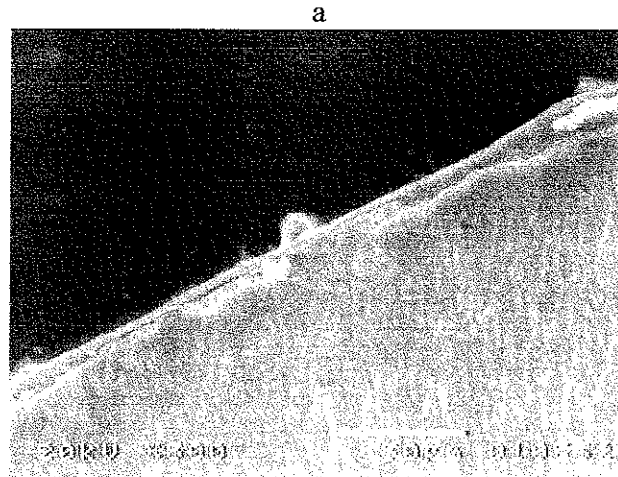


Figura R35 d y e. d) muestra amplificación de la zona del borde superior derecho de la figura R35b. se observa que la zona más oscura está formada por prismas con ondulaciones más marcadas que el resto de la zona observada, no se observan giros ni solución de continuidad de los prismas. En e) se muestra una amplificación de la zona izquierda de la imagen en (35 a), un prisma en la zona del borde presenta ondulación más pronunciada que los prismas adyacentes lo que hace que la zona entre los prismas de una apariencia irregular, no se observan giros ni solución de continuidad de los prismas.

La estructura interna en la cara vestibular de la muestra 3BR presenta un tejido muy regular, homogéneo. En la zona de la unión con la dentina se observan prismas en sentido transversal y longitudinal, debido al entrelazado de grupos de prismas para dar la apariencia característica de las bandas de Hunter Schreger. La zona media presenta prismas en una misma dirección seccionados por la dirección del corte en la muestra. Esta dirección de los prismas se continúa hasta el borde externo. (Figura 36)

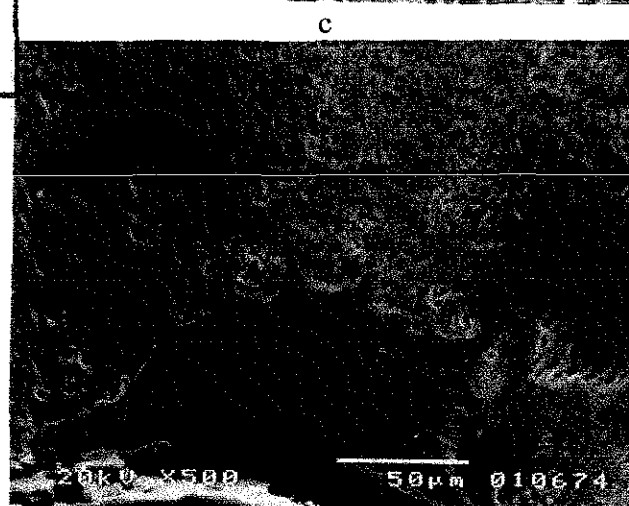
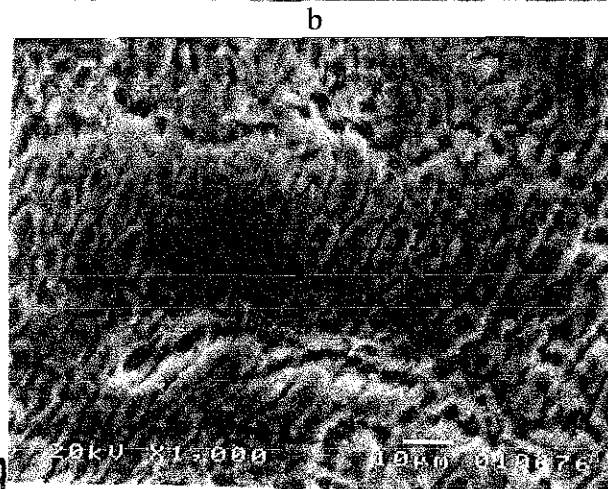
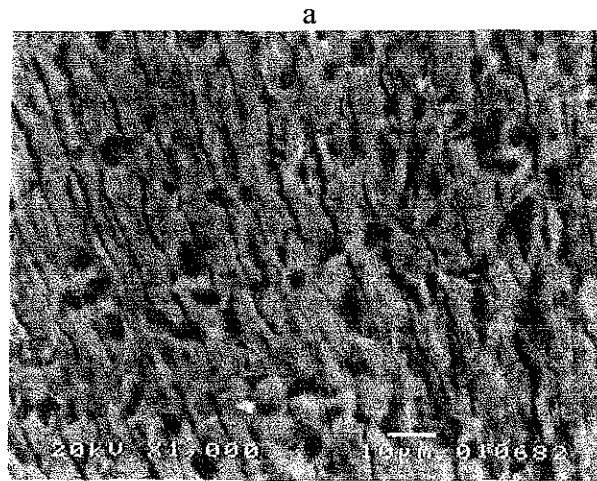
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura R36. Estructura interna del esmalte en la cara vestibular de la muestra 3BR. a) borde externo, b) parte media, c) unión amelodentinaría. Se observa una estructura característica de bandas de Hunter Schreger en la unión, la zona media y el borde externo. En general el tejido está muy organizado, homogéneo con prismas seccionados en una misma dirección.

Las imágenes de la muestra 6AR, el paciente adulto de alto riesgo, se presentan en la figura R37. En la unión con la dentina se observa una estructura no bien definida. En la zona media los prismas presentan ondulaciones y cambio bruscos de dirección, con solución de continuidad coincidiendo con los cambios de dirección. En el borde externo, los prismas presentan una alineación recta, se observan múltiples perforaciones a lo largo del prisma.



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Figura R37. Micrografías de MEB de la estructura interna del esmalte en la cúspide de la muestra 3BR. a) borde externo, b) zona media, c) unión amelodentinaria.

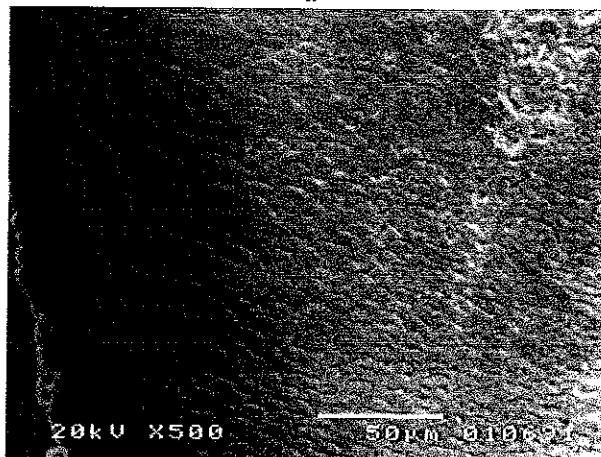


TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

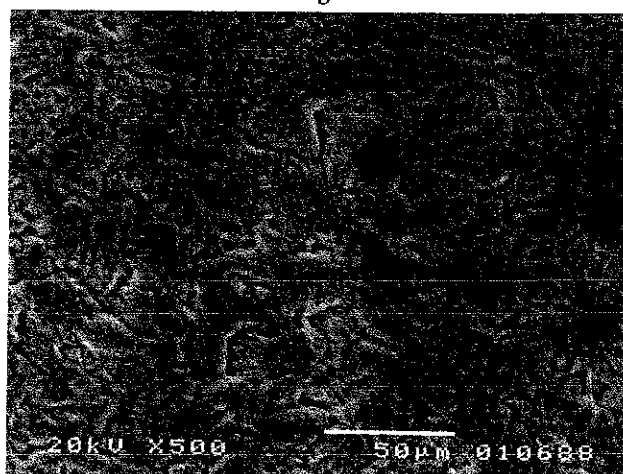
Figura R37d. Amplificación de la zona central de la imagen (37 a) las flechas indican el trayecto de un prisma con múltiples giros completos, solución de continuidad del trayecto del prisma y zonas interprismáticas irregulares debido a las flexiones y giros de los prismas.

La estructura interna del esmalte en la cara vestibular de la muestra 6AR se presenta en la figura R38. Se observa que en la zona de la unión y la parte media no se presenta un arreglo prismático definido. En el borde externo se observa una estructura prismática, con prismas seccionados en una misma dirección, el tejido es homogéneo y en el borde se presenta una zona oscura derivada probablemente del proceso de preparación de la muestra.

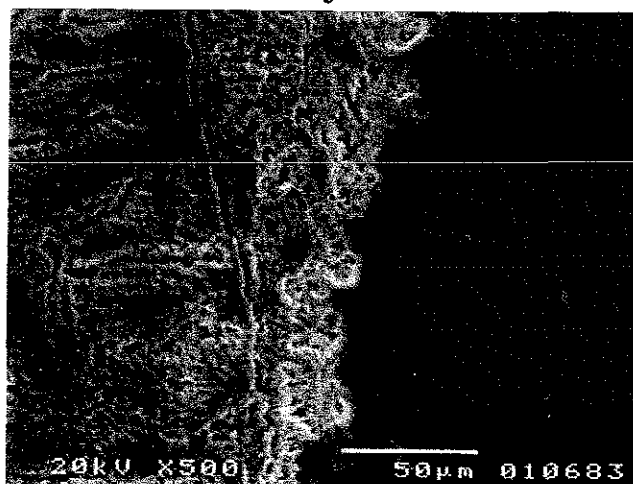
a



b



c



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura R38. Micrografías de MEB de la estructura interna del esmalte en la cara vestibular de la muestra 6AR. a) borde externo, b) parte media, c) unión amelodentinaria. En la zona de la unión y parte media, se observa un patrón no definido, en el borde se presenta un patrón característico de prismas seccionados en una misma dirección, el tejido es homogéneo en esta zona, se observa también el borde más oscuro, en un plano inferior de la superficie de la muestra.

Los resultados muestran que se encontraron diferencias en la estructura interna del esmalte en las muestras en sección longitudinal. Las muestras de bajo riesgo, tanto en los jóvenes como en el paciente adulto presentaron una estructura característica en todas las zonas y en general un tejido más homogéneo. Las muestras de alto riesgo presentaron arreglos no característicos de los prismas, al parecer una característica común en estas muestras son los giros y ondulaciones que sufren los prismas y que no permiten que estos tengan una trayectoria clara. En el borde externo los prismas de estas muestras aparecen más ordenados y con dirección más recta. Otra diferencia entre las muestras de alto y bajo riesgo fue la solución de continuidad en la trayectoria del prisma, observada en las muestras de alto riesgo, esta parece coincidir con los cambios de dirección de los prismas. En el caso de la muestra del paciente adulto se observaron orificios sobre el prisma.

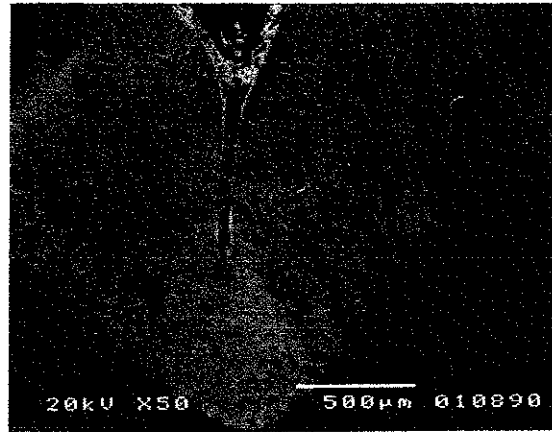
La zona del surco presentó también diferencias importantes, en los pacientes de bajo riesgo el borde externo del surco parece estar protegido por un tejido que semeja capas sobrepuestas, este tejido se no presenta completamente definido en las muestras de alto riesgo.

La forma del surco no se describió, debido a que no es una característica de la estructura propia del esmalte, pero esta presentó diferencias entre las muestras; en la muestra 1BR presentó una forma de V abierta (figura R21a), en la muestra 2BR presentó una forma de V cerrada (figura R23a) y para las muestras 4AR y 5AR presentó una forma de fisura profunda. Sin embargo, las características del tejido del borde del surco, no necesariamente estarían relacionadas a la forma que éste presenta. Como referencia se presentan las imágenes del surco de uno de los pacientes que no se incluyeron en el estudio por estar clasificado en un grupo intermedio de riesgo a caries. En este paciente el surco presenta también forma de fisura profunda, y el tejido en el borde se encontró bien definido con las características observadas en los pacientes de bajo riesgo. (Figura R39).

Para las muestras de los pacientes adultos, no fue posible analizar la zona del surco, ya que en ambas éste se encontraba obturado.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

a



b



c

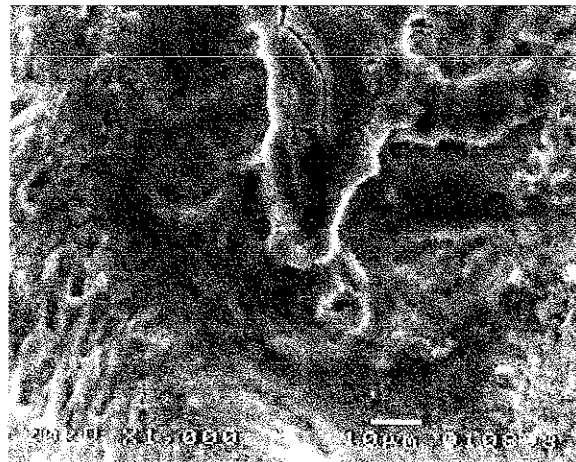


Figura R39. Zona del borde del surco de un paciente no incluido en el estudio b y c, ampliaciones de (a) que muestran tejido en forma de capas superpuestas bien delimitado de la zona prismática interna.

4.2. Resultados del análisis químico

En el análisis químico del esmalte se presenta el contenido medio de los elementos encontrados en cada zona estudiada: borde externo, parte media y unión amelodentinaria, así mismo se obtuvo un promedio global que representa el promedio de las determinaciones de las tres zonas juntas. Se analizó el contenido de los constituyentes mayores: carbono, oxígeno, fósforo, calcio y la relación calcio/fósforo; y el de los constituyentes minoritarios: sodio, magnesio y cloro.

4.2.1 Constituyentes mayores.

Carbono.

El cuadro C1, presenta los resultados del análisis del contenido de carbono del esmalte dental por medio de EDS. Se presenta el valor medio y desviación estándar para el análisis global y para las zonas estudiadas.

Cuadro R2. Contenido de carbono en porcentaje atómico, del esmalte dental de las muestras estudiadas.

Muestra	Global	Borde externo	Centro	Unión amelodentinaria
1BR	37.53 (1.19)	38.22 (1.31)	36.78 (1.21)	37.60 (0.64)
2BR	37.31 (1.61)	38.56 (1.60)	36.28 (0.83)	37.06 (1.50)
3BR	40.55 (1.31)	41.90 (1.03)	40.10 (0.52)	39.64 (1.01)
4AR	34.70 (3.19)	36.92 (4.77)	32.63 (0.49)	34.55 (0.70)
5AR	31.96 (1.21)	32.19 (0.51)	32.03 (2.12)	31.67 (0.30)
6AR	38.21 (1.71)	37.91 (2.09)	37.10 (0.85)	39.62 (0.97)

Las figuras R40 y R41 presentan gráficamente los resultados del contenido de carbono en el esmalte dental para el análisis global y por zonas respectivamente.

En el análisis global, así como en las tres zonas estudiadas los valores más bajos fueron para las muestras de los jóvenes de alto riesgo, 4AR y 5AR, ésta última presentó la menor variación del borde externo a la unión amelodentinaria, 32.19%, 32.03%, y 31.67% respectivamente, así como los valores más bajos en todos los análisis. (Cuadro R2) Los valores para las muestras de jóvenes de bajo riesgo 1BR y 2BR son muy similares entre sí en los cuatro análisis.

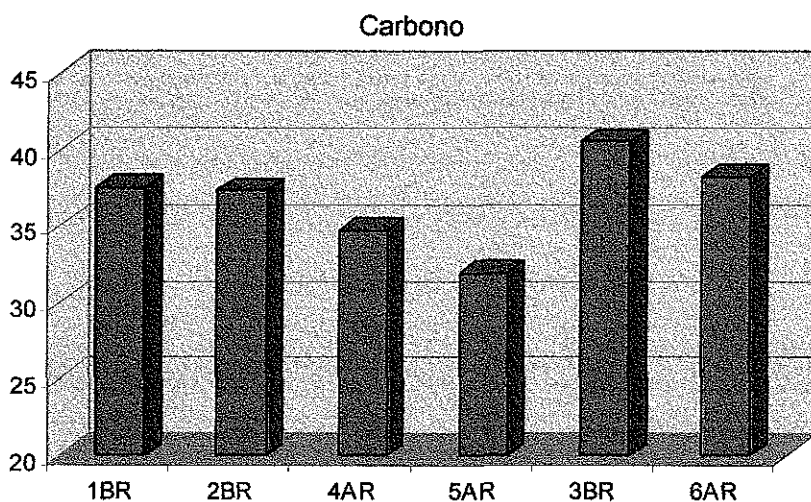
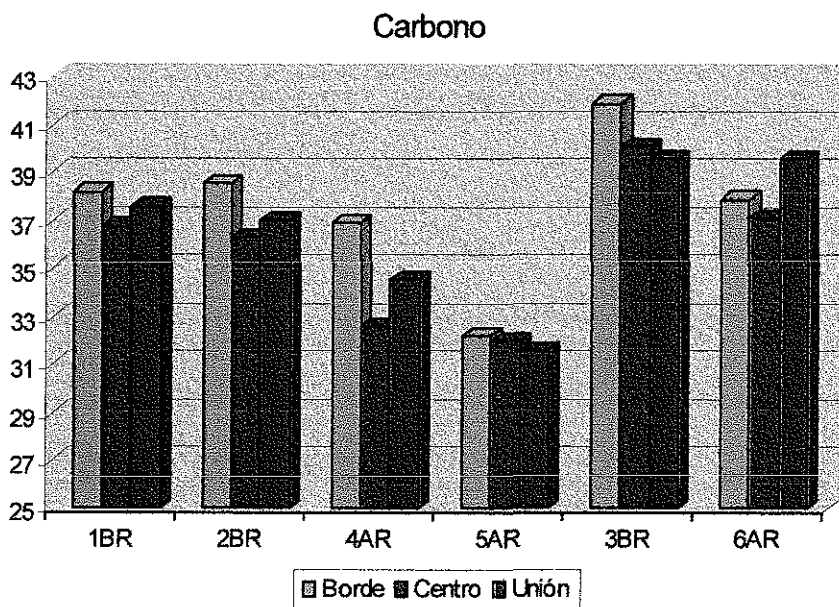


Figura R 40 Contenido total de carbono en las muestras estudiadas. Porcentaje atómico.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura R 41. Contenido de carbono en porcentaje atómico en el borde externo, centro y unión amelodentinaria del esmalte dental de las muestras estudiadas.

El contenido de carbono presenta valores más altos en el borde externo, se observa una disminución en la zona central del espesor del esmalte y luego se incrementa ligeramente en la unión amelodentinaria. Esta tendencia en los valores se observa en todas las muestras,

a excepción de la muestra 3BR en la que el valor mas alto se presenta en la unión amelodentinaria. (Figura 41)

El resultado de ANOVA identificó diferencias significativas ($p= 0.0001$) de los valores promedio de contenido de carbono entre las muestras. El cuadro R3 muestra la comparación de las diferencias y el nivel de significancia estadística de las mismas

En el análisis global todas las diferencias entre las muestras de bajo riesgo comparadas con las de alto riesgo son estadísticamente significativas, las diferencias de las muestras 1BR y 2BR con la muestras 4AR son de 2.82% y 2.60%, la diferencia de estas muestras con la muestra 5AR son más importantes 5.56% y 5.34% para 1BR y 2BR respectivamente. La muestra del paciente adulto 3BR mostró una diferencia de 2.33% significativamente mayor que 6AR.

En la zona del borde externo las diferencias entre las muestras de bajo riesgo 1BR y 2BR con la muestra 4AR son menores y no alcanzan significancia estadística, en las comparaciones con la muestra 5AR, las diferencias son mayores y más significativas 6.03% y 6.39% con 1BR y 2BR respectivamente. La diferencia de la muestra 3BR con 6BR se incrementa a 3.99% pero esta diferencia no es estadísticamente significativa. En la zona central todas las diferencias presentan valores estadísticamente significativos, lo mismo que para la zona de la unión amelodentinaria, a excepción de las muestras de los adultos donde los valores son prácticamente iguales para las muestras de alto y bajo riesgo.

El cuadro R2 muestra también la desviación estándar, se observa que la mayor desviación es para la muestra 4AR (3.19), al observar los valores en las zonas, se puede ver que la mayor dispersión de valores se presenta en le borde externo, lo que hace que para esta zona se obtenga un valor bajo para esta muestra, en las otra zonas al presentar menor dispersión la diferencia con las muestras de bajo riesgo se hace mayor y más significativa. La muestra 6AR presenta también en el borde externo la mayor dispersión de valores.

Los resultados muestran que, tanto en los pacientes jóvenes como en los adultos, los valores para alto riesgo fueron significativamente menores, comparadas con las de bajo riesgo. Los valores para los adultos son más altos sugiriendo una probable relación del incremento en el contenido de carbono al aumentar la edad.

Cuadro R3. Comparación de las diferencias del contenido de carbono entre las muestras de alto y bajo riesgo a caries.

Zona	Muestra (I)	Muestra (J)	Diferencia (I-J)	Valor de p Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Lim. inf.	Lim. Sup.
Global	1BR	4AR	2.82	0.002	.745	4.91
		5AR	5.56	0.0001	3.48	7.65
	2BR	4AR	2.60	0.005	.524	4.69
		5AR	5.34	0.0001	3.26	7.42
	3BR	6AR	2.33	0.017	.252	4.42
	Borde	1BR	4AR	1.30	n. s.	-3.5
5AR			6.03	0.007	1.2	10.83
2BR		4AR	1.66	n. s.	-3.14	6.46
		5AR	6.39	0.004	1.59	11.20
3BR		6AR	3.99	n. s.	-0.80	8.80
Centro		1BR	4AR	4.14	0.0001	1.77
	5AR		4.74	0.0001	2.37	7.10
	2BR	4AR	3.64	0.001	1.27	6.10
		5AR	4.24	0.0001	1.87	6.61
	3BR	6AR	2.99	0.006	.630	5.36
	Unión	1BR	4AR	3.04	0.0001	1.12
5AR			5.92	0.0001	4.0	7.84
2BR		4AR	2.51	0.004	.591	4.43
		5AR	5.39	0.0001	3.47	7.31
3BR		6AR	0.01	n. s.	-1.91	1.93

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Oxígeno.

Los resultados del análisis estadístico por medio de análisis de varianza Anova del contenido de oxígeno se presentan en el cuadro R4 y R5. El cuadro R4 presenta la media, desviación estándar del contenido de oxígeno en porcentaje atómico para cada muestra estudiada, se muestran los resultados globales y por zonas estudiadas.

Cuadro R4. Contenido de oxígeno en porcentaje atómico, del esmalte dental de las muestras estudiadas.

Muestra	Global	Borde externo	Centro	Unión amelodentinaria
1BR	32.93 (0.82)	32.08 (0.58)	33.39 (0.56)	33.33 (0.57)
2BR	33.76 (1.18)	32.59 (0.90)	34.20 (0.67)	34.50 (0.95)
3BR	31.46 (1.57)	29.67 (0.63)	31.62 (0.27)	33.08 (0.94)
4AR	35.82 (1.92)	33.93 (2.39)	37.11 (0.44)	36.19 (0.52)
5AR	36.06 (1.05)	35.29 (0.55)	36.05 (1.34)	36.81 (0.49)
6AR	31.27 (0.77)	31.70 (0.52)	31.67 (0.61)	30.46 (0.47)

Los valores más altos fueron para las muestras de los jóvenes de alto riesgo, 36.05 y 35.82 para 5AR y 4AR respectivamente. Los valores para las muestras de los pacientes adultos son los más bajos 31.27 y 31.46 para 6AR y 3BR respectivamente.

La mayor desviación estándar se observa en la muestra 4AR (1.92) y el análisis por zonas muestra que la zona con mayor variación en el contenido de oxígeno, para esta muestra, es el borde externo con una desviación de 2.39, en las otras zonas la variación es menor y los valores de la muestra son más parecidos a los de la muestra 5AR.

La figura R 42 muestra gráficamente las diferencias en los valores del contenido total de oxígeno en el esmalte dental.

La figura R43 muestra la comparación de la distribución de oxígeno en las zonas estudiadas. Los valores muestran un ligero incremento del borde externo a la unión amelodentinaria, el cambio más importante se observa en 3BR, 29.67%, 31.62% y 33.08 para borde, centro y unión amelodentinaria respectivamente. Mientras que la muestra 6AR

del paciente adulto de alto riesgo, mostró un comportamiento diferente a todo el grupo presentando el menor valor en la unión amelodentinaria.

El cuadro R5 muestra la comparación de las diferencias y el nivel de significancia estadística de las mismas. En los pacientes jóvenes las diferencias del valor de las muestras de alto riesgo con las de bajo riesgo, es significativa en todas las comparaciones. En el análisis global la muestra 4AR es significativamente mayor 2.88% que la muestra 1BR y 2.05% que la muestra 2BR. Los valores de la muestra 4AR en todas las zonas son mayores y la diferencia es estadísticamente significativa para todas las comparaciones, con excepción de la zona del borde externo donde la diferencia no alcanza un nivel significativo. Para la muestra 5AR, las diferencias con las muestras 1BR y 2BR son mayores y más significativas en todas las comparaciones. En las muestras de los pacientes adultos, los valores de la muestra 6AR en todas las zonas son mayores que los de la muestra 3BR pero sólo en la zona de la unión amelodentinaria, la diferencia es estadísticamente significativa.

Los resultados muestran que en los pacientes jóvenes, los valores de oxígeno para alto riesgo fueron significativamente mayores comparados con los de las muestras de bajo riesgo. Los valores para los adultos son menores que los de los pacientes jóvenes y no difieren importantemente entre ellos, a excepción de los valores en la unión amelodentinaria.



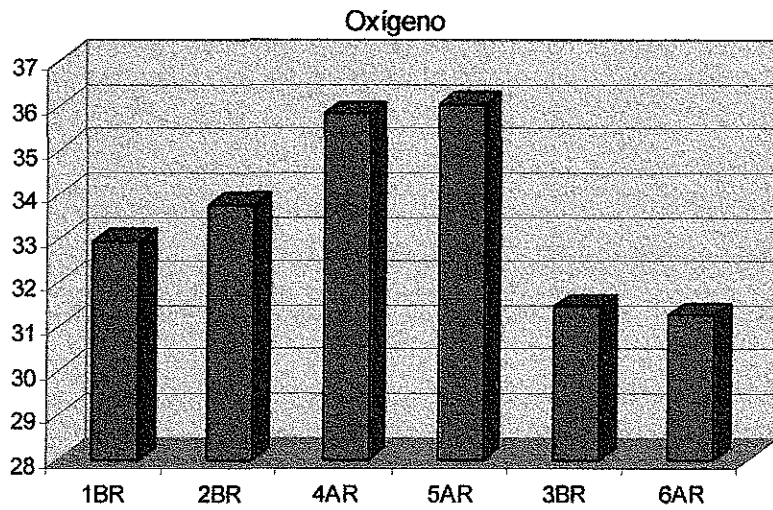
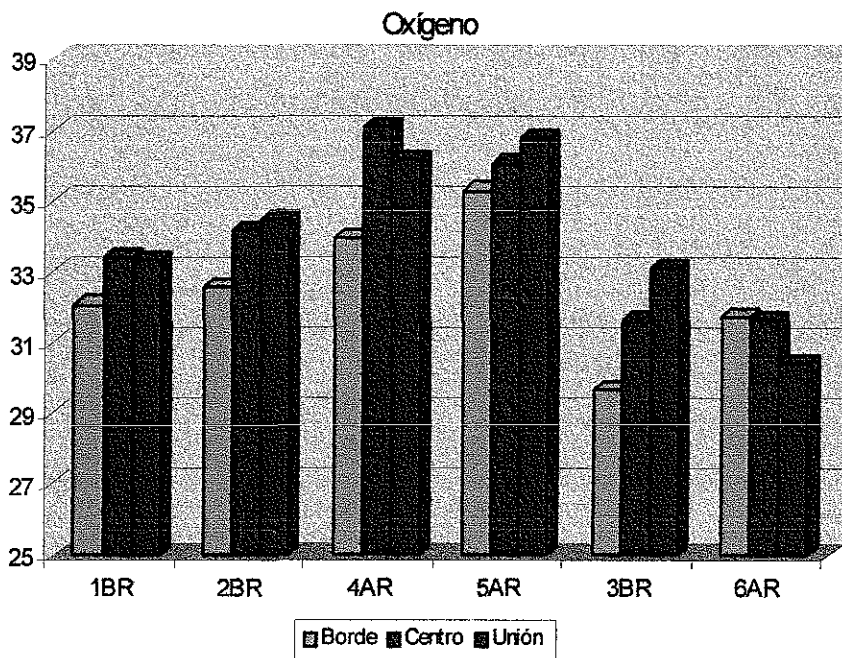


Figura R43 Porcentaje atómico del contenido total de oxígeno en las muestras estudiadas.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura R44. Contenido de oxígeno en porcentaje atómico en el borde externo, centro y unión amelodentinaria del esmalte dental en las muestras estudiadas.

Cuadro R5. Comparación de las diferencias del contenido de oxígeno entre las muestras de alto y bajo riesgo a caries.

Zona	Muestra (I)	Muestra (J)	Diferencia (I-J)	Valor de p Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Lim. inf.	Lim. Sup.
Global	4AR	1BR	2.88	0.0001	1.42	4.34
		2BR	2.05	0.001	0.59	3.50
	5AR	1BR	3.12	0.0001	1.66	4.57
		2BR	2.28	0.0001	0.82	3.74
	6AR	3BR	-0.18	n. s.	-1.64	1.27
	Borde	4AR	1BR	1.90	n. s.	-0.45
2BR			1.39	n. s.	-0.96	3.74
5AR		1BR	3.20	0.03	0.85	5.56
		2BR	2.70	0.016	0.34	5.05
6AR		3BR	2.03	n. s.	-0.31	4.38
Centro		4AR	1BR	3.72	0.0001	1.21
	2BR		2.90	0.0001	1.39	4.41
	5AR	1BR	2.65	0.0001	1.15	4.16
		2BR	1.84	0.009	0.33	3.34
	6AR	3BR	0.02	n. s.	-1.48	1.53
	Unión	4AR	1BR	2.86	0.0001	1.44
2BR			1.68	0.012	0.26	3.11
5AR		1BR	3.48	0.0001	2.06	4.91
		2BR	2.31	0.0001	0.88	3.73
6AR		3BR	-2.62	0.0001	-4.04	-1.19

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Fósforo.

El cuadro R6, presenta el valor medio y desviación estándar de contenido de fósforo en porcentaje atómico para el análisis global y por zonas de las muestras estudiadas.

Los valores más altos fueron para las muestras de 5AR (11.66) y 6AR (11.07). Los valores son en general similares entre los grupos como puede observarse en el cuadro.

La mayor desviación estándar es para la muestra 4AR, en los valores por zona, se observa que en el borde externo de esta muestra, es donde el contenido de fósforo presenta mayor variación, en la zona central donde no hay una variación importante, los valores de esta muestra son más parecidos a los de las muestras de alto riesgo. La muestra 6AR presenta un comportamiento similar, con mayor variabilidad del contenido de fósforo en el borde externo.

Cuadro R6. Contenido de fósforo en porcentaje atómico, del esmalte dental de las muestras estudiadas.

Muestra	Global	Borde externo	Centro	Unión amelo-dentinaria
1BR	10.87 (0.29)	10.97 (0.27)	10.97 (0.33)	10.68 (0.17)
2BR	10.66 (0.29)	10.67 (0.34)	10.86 (0.14)	10.46 (0.25)
3BR	10.38 (0.30)	10.62 (0.22)	10.49 (0.14)	10.04 (0.16)
4AR	10.85 (0.53)	10.75 (0.92)	11.08 (0.20)	10.71 (0.20)
5AR	11.66 (0.32)	11.94 (0.19)	11.60 (0.35)	11.43 (0.21)
6AR	11.07 (0.45)	11.10 (0.63)	11.36 (0.17)	10.75 (0.21)

La figura R44 muestra gráficamente, la comparación del contenido total de fósforo en las muestras estudiadas. Las muestras de alto riesgo 5AR presenta un valor alto comparado con los de bajo riesgo, en los adultos, el valor de 6AR es también mayor que el valor de la muestra de bajo riesgo 3BR.

El cuadro R7 presenta las diferencias de los valores de las muestras de alto riesgo con las de bajo riesgo. En el análisis global la diferencia de la muestra 4AR con 1BR es negativa, (-0.02) debido a que el valor de 1BR es ligeramente mayor, esta diferencia no es estadísticamente significativa, la diferencia con la muestra 2BR es positiva y también no significativa. La muestra 5AR mostró una diferencia con los valores 1BR y 2BR de 0.78%

y 0.99% respectivamente, estas diferencias son altamente significativas, mostrando que el contenido de fósforo es mayor para la muestra de alto riesgo. En la comparación de los valores de las muestras de adultos la diferencia de 6AR con 3BR 0.68%, también estadísticamente significativa.

En el borde externo solo la diferencia de la muestra 5AR con 2BR es significativa, en la zona central y la unión amelodentinaria las diferencias de las muestras 5AR y 6AR con las muestras de bajo riesgo son todas significativas, la muestra 4AR presentó diferencias no significativas.

La figura R45 muestra la comparación del contenido de fósforo en las zonas de las muestras estudiadas. Los valores son altos en el borde externo y tienden a disminuir hacia la unión amelodentinaria

Cuadro R7. Comparación de las diferencias del contenido de fósforo entre las muestras de esmalte dental de sujetos de alto y bajo riesgo a caries.

Zona	Muestra (I)	Muestra (J)	Diferencia (I-J)	Valor de p Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Lim. inf.	Lim. Sup.
Global	4AR	1BR	-0.02	n. s.	-0.46	0.40
		2BR	0.18	n. s.	-0.25	0.61
	5AR	1BR	0.78	0.0001	0.34	1.22
		2BR	0.99	0.0001	0.55	1.43
	6AR	3BR	0.68	0.0001	0.25	1.12
	Borde	4AR	1BR	-0.22	n. s.	-1.22
2BR			0.08	n. s.	-0.96	1.12
5AR		1BR	0.96	n. s.	0.07	2.01
		2BR	1.27	0.009	0.23	2.31
6AR		3BR	0.48	n. s.	-0.55	1.52
Centro		4AR	1BR	0.10	n. s.	-0.30
	2BR		0.21	n. s.	-0.27	0.71
	5AR	1BR	0.63	0.006	0.13	1.13
		2BR	0.74	0.001	0.24	1.23
	6AR	3BR	0.86	0.0001	0.36	1.36
	Unión	4AR	1BR	-0.03	n. s.	-0.39
2BR			0.25	n. s.	-0.17	0.67
5AR		1BR	0.75	0.0001	0.32	1.79
		2BR	0.96	0.0001	0.54	1.39
6AR		3BR	0.71	0.0001	0.28	1.13

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

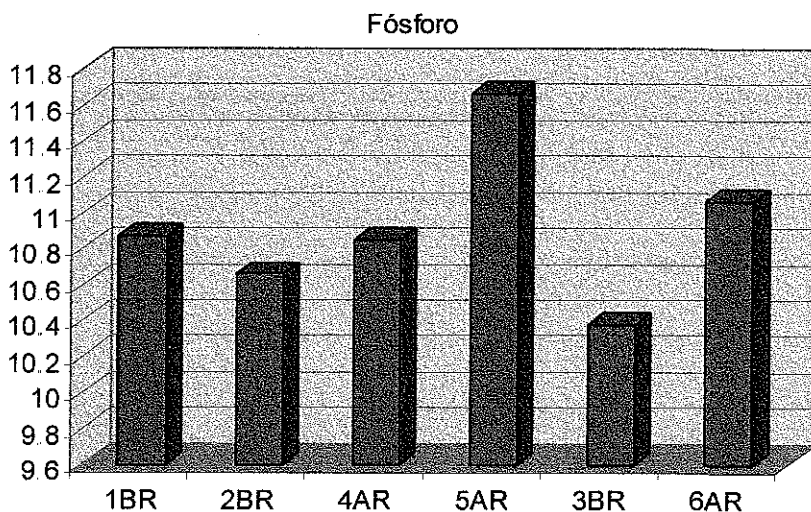


Figura R44. Contenido total de fósforo en esmalte dental (porcentaje atómico).

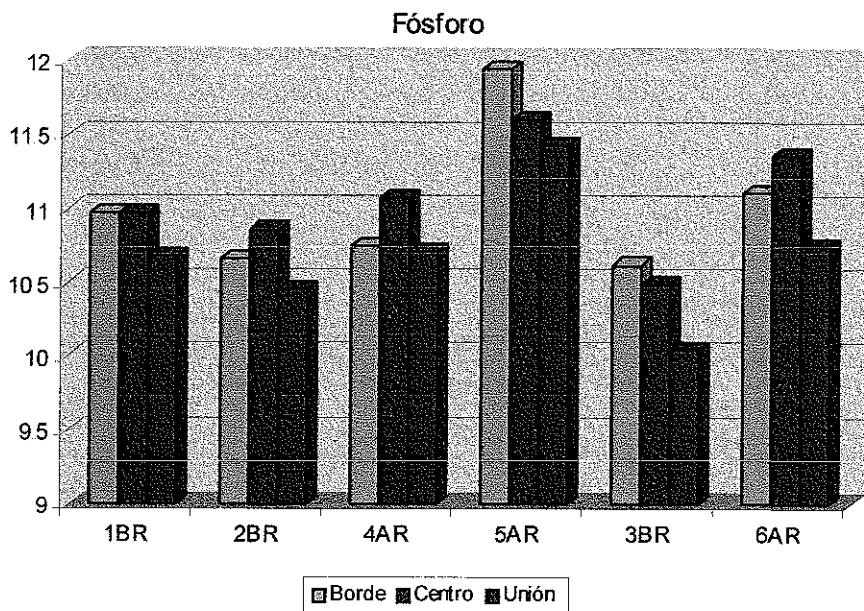


Figura R45. Comparación del contenido de fósforo en el borde externo, centro y unión amelodentinaria de las muestras de esmalte dental.

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Calcio

El cuadro R8, presenta la media y desviación estándar del contenido de calcio en porcentaje atómico para cada muestra estudiada. El valor con la mayor desviación estándar es para la muestra 4AR (0.88) en las regiones se observa que el borde externo de esta muestra, es donde los valores del contenido de calcio presentan gran variabilidad, la desviación estándar en esta zona es (1.46).

Cuadro R8. Contenido de calcio en porcentaje atómico, del esmalte dental de las muestras estudiadas.

Muestra	Global	Borde externo	Centro	Unión Amelodentinaria
1BR	17.76 (0.48)	18.00 (0.48)	17.94 (0.41)	17.33 (0.22)
2BR	17.36 (0.45)	17.36 (0.44)	17.73 (0.27)	16.98 (0.32)
3BR	16.57 (0.49)	16.95 (0.27)	16.81 (0.16)	15.96 (0.15)
4AR	17.66 (0.88)	17.52 (1.46)	18.14 (0.18)	17.32 (0.23)
5AR	19.32 (0.49)	19.72 (0.35)	19.31 (0.44)	18.93 (0.36)
6AR	18.09 (0.72)	17.86 (0.98)	18.62 (0.26)	17.71 (0.36)

La figura R46 presenta la comparación de los valores de calcio total, en los jóvenes el valor más alto y muy diferente al grupo corresponde a la muestra 5AR, en los adultos, el contenido de calcio es menor que en los jóvenes y el valor de la muestra de alto riesgo 6AR es mayor que el de la de bajo riesgo 3BR.

El cuadro R9 presenta la comparación de las diferencias del contenido de calcio entre las muestras de alto y bajo riesgo y valor de significancia estadística de las mismas. La muestra 4AR mostró diferencias no significativas con las muestras de bajo riesgo 1BR y 2BR en el análisis global y por zonas y en tres de las cuatro comparaciones con la muestra 1BR la diferencia fue negativa debido a que ésta última presentó valores mayores. La muestra 5AR mostró en todas las comparaciones con las muestras 1BR y 2BR, diferencias positivas y altamente significativas, lo mismo sucede en las comparaciones de la muestra 6AR con la muestra 3BR donde las diferencias son también siempre positivas y significativa a excepción de la comparación en el borde externo donde la diferencia de 0.94% es la menor y es no significativa.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

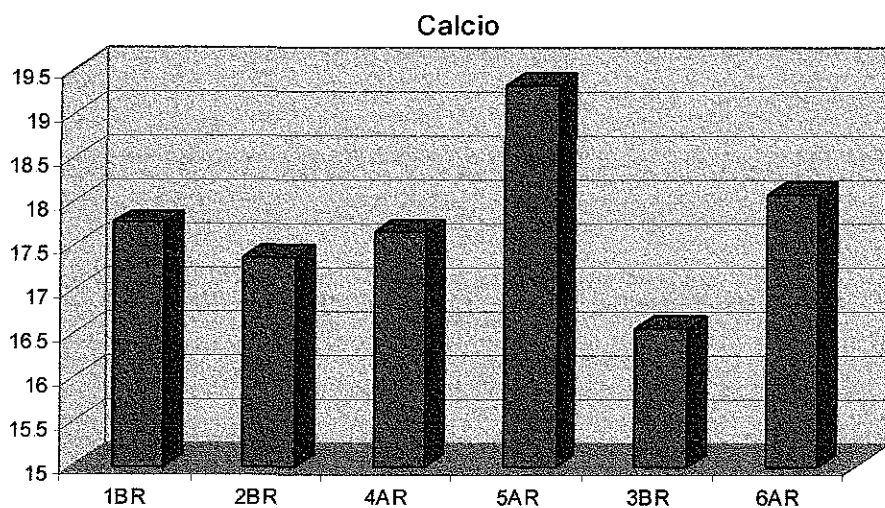


Figura R46. Contenido total de calcio en las muestras estudiadas (porcentaje atómico)

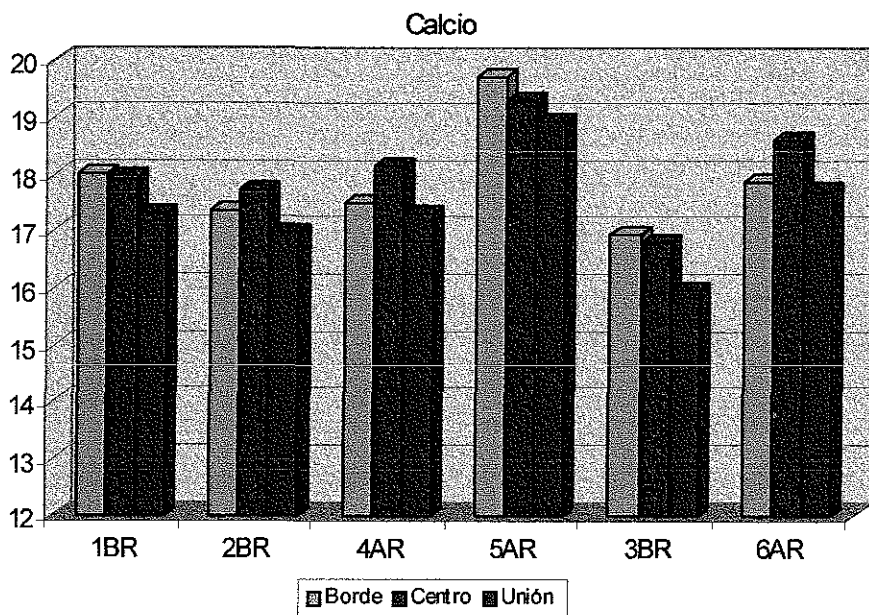


Figura R47. Contenido de calcio en el borde externo, parte media y unión amelodentinaria (porcentaje atómico)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuadro R9. Comparación de las diferencias del contenido de calcio entre las muestras de alto y bajo riesgo a caries.

Zona	Muestra (I)	Muestra (J)	Diferencia (I-J)	Valor de p Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Lim. inf.	Lim. Sup.
Global	4AR	1BR	-0.09	n.s.	-0.78	0.59
		2BR	0.30	n.s.	-0.38	0.99
	5AR	1BR	1.56	0.0001	0.87	2.25
		2BR	1.96	0.0001	1.27	2.65
	6AR	3BR	1.51	0.0001	0.82	2.20
	Borde	4AR	1BR	-0.48	n.s.	-2.10
2BR			0.16	n.s.	-1.46	1.79
5AR		1BR	1.71	0.033	0.09	3.34
		2BR	2.36	0.001	0.73	3.98
6AR		3BR	0.94	n.s.	-0.68	2.56
Centro		4AR	1BR	0.20	n.s.	-0.43
	2BR		0.41	n.s.	-0.22	1.04
	5AR	1BR	1.37	0.0001	0.73	2.00
		2BR	1.58	0.0001	0.94	2.21
	6AR	3AR	1.81	0.0001	1.17	2.44
	Unión	4AR	1BR	-0.08	n.s.	-0.60
2BR			0.34	n.s.	-0.52	0.93
5AR		1BR	1.59	0.0001	1.00	2.18
		2BR	1.94	0.0001	1.35	2.53
6AR		3BR	1.75	0.0001	1.16	2.35

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Relación calcio/fósforo.

La relación calcio/fósforo en el esmalte de las muestras estudiadas se presenta en el cuadro R9, tanto para el análisis global como por zonas se reportan el valor medio y la desviación estándar. Los valores son muy similares y la desviación estándar es pequeña en todas las muestras.

Cuadro R10. Relación calcio/fósforo del esmalte dental de las muestras estudiadas.

Muestra	Global	Borde externo	Centro	UniónEsmalte-Dentina
1BR	1.62 (0.01)	1.62 (0.01)	1.63 (0.01)	1.62 (0.01)
2BR	1.62 (0.01)	1.62 (0.01)	1.63 (0.01)	1.62 (0.02)
3BR	1.59 (0.02)	1.59 (0.01)	1.60 (0.01)	1.58 (0.03)
4AR	1.62 (0.02)	1.62 (0.02)	1.64 (0.02)	1.61 (0.02)
5AR	1.65 (0.01)	1.64 (0.01)	1.66 (0.01)	1.65 (0.01)
6AR	1.62 (0.02)	1.60 (0.005)	1.63 (0.004)	1.64 (0.01)

La figura R48 muestra la comparación de del valor de la relación calcio/fósforo del contenido total de estos elementos en el esmalte dental de las muestras estudiadas. En el grupo de jóvenes el valor más alto y diferente al grupo, es el de la muestra de alto riesgo 5AR 1.65, en los adultos también, la muestra del paciente de alto riesgo 6AR presenta un valor mayor al de la muestra de bajo riesgo 3BR.

El cuadro R11 presenta la comparación de los valores de la relación calcio/fósforo de las muestras de pacientes de alto riesgo con los de bajo riesgo, las diferencias entre los valores y el nivel de significancia estadística de las mismas.

En el análisis global las diferencias de la muestra 4AR con la muestra 1BR y 2BR presentan valores muy bajos y no significativos. Para las otras muestras de alto riesgo 5AR y 6AR, las diferencias con las muestras de bajo riesgo 1BR, 2BR y 3BR son pequeñas y altamente significativas. La comparación de los valores en las zonas estudiadas se observa que, en el grupo de jóvenes, las diferencias son todas positivas, muy pequeñas y no significativas. En las muestras de los adultos la diferencia se incrementa del borde externo a la unión amelodentinaria y es altamente significativa en la zona central y la unión.

La figura R49 muestra la comparación de la distribución de la relación calcio/fósforo en las diferentes zonas del esmalte. No se observa una tendencia del borde externo al interior del esmalte, los valores de la relación calcio/fósforo tienen poca variación en el espesor del esmalte.

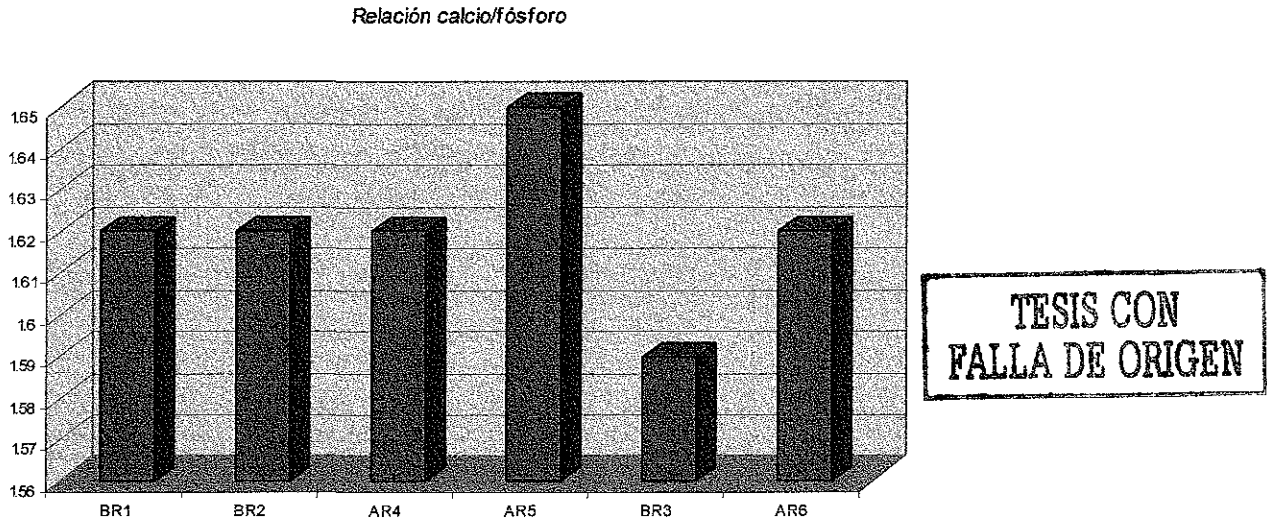


Figura R48. Relación calcio/fósforo del contenido total de estos elementos en las muestras estudiadas (porcentaje atómico)

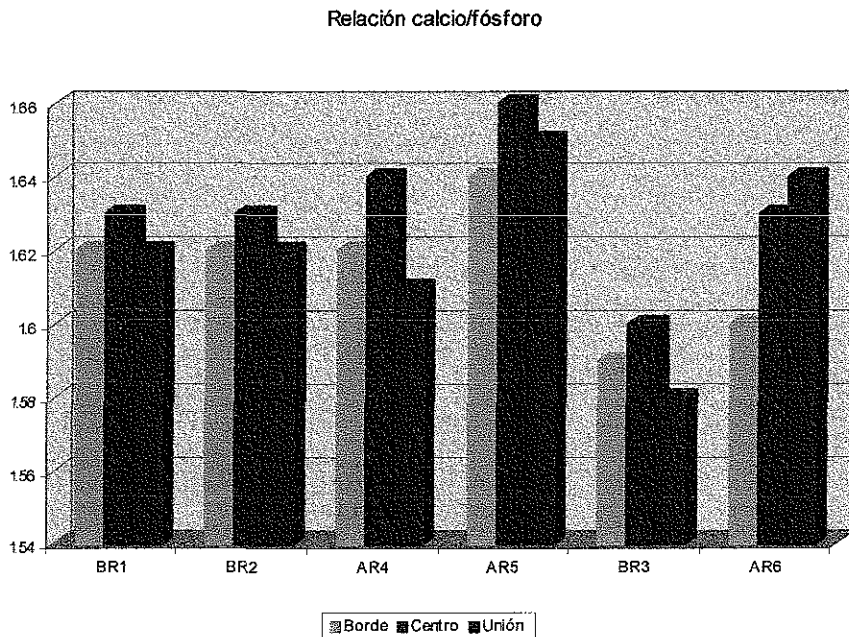


Figura R49. Relación calcio fósforo en el borde, centro y unión amelodentinaria.

Cuadro R11. Comparación de las diferencias de la relación calcio/fósforo del esmalte dental de las muestras de sujetos de alto y bajo riesgo a caries.

Zona	Muestra (I)	Muestra (J)	Diferencia (I-J)	Valor de p Sig.	Intervalo de confianza 95%	
					Lim. inf.	Lim. Sup.
Global	4AR	1BR	0.0005	n.s.	-0.02	0.02
		2BR	0.0016	n.s.	-0.02	0.02
	5AR	1BR	0.027	0.007	0.004	0.05
		2BR	0.028	0.004	0.006	0.05
	6AR	3BR	0.033	0.0001	0.01	0.05
	Borde	4AR	1BR	0.001	n. s.	-0.03
2BR			0.001	n. s.	-0.03	0.03
5AR		1BR	0.02	n. s.	-0.01	0.05
		2BR	0.02	n. s.	-0.01	0.05
6AR		3BR	0.01	n. s.	-0.02	0.04
Centro		4AR	1BR	0.005	n. s.	-0.02
	2BR		0.01	n. s.	-0.02	0.04
	5AR	1BR	0.02	n. s.	-0.007	0.06
		2BR	0.03	n. s.	-0.002	0.06
	6AR	3BR	0.05	0.0001	0.02	0.09
	Unión	4AR	1BR	-0.005	n. s.	-0.05
2BR			-0.006	n. s.	-0.05	0.03
5AR		1BR	0.03	n. s.	-0.01	0.08
		2BR	0.03	n. s.	-0.01	0.07
6AR		3BR	0.06	0.005	0.01	0.10

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4.2.2. Elementos minoritarios

Para la composición del esmalte en cuanto a elementos minoritarios se analizan el contenido de sodio, magnesio y cloro.

Sodio

El cuadro R12, presenta la media y desviación estándar del contenido de sodio de las muestras estudiadas en porcentaje atómico, el análisis global y para cada zona. El análisis global mostró que las muestras de pacientes adultos tuvieron mayor cantidad de sodio, siendo mas alto el valor para la muestra de alto riesgo 6AR 0.84, la muestra 2BR tiene el valor menor, 0.44%. La desviación estándar en este análisis, es grande para todas las muestras, debido a que este elemento presenta variación regional importante.

Cuadro R12. Contenido de sodio en porcentaje atómico para las muestras estudiadas.

Muestra	Global	Borde externo	Centro	Unión amelo- dentinaria
1BR	0.59 (0.19)	0.35 (0.06)	0.63 (0.09)	0.77 (0.06)
2BR	0.44 (0.20)	0.23 (0.07)	0.43 (0.12)	0.65 (0.08)
3BR	0.69 (0.27)	0.39 (0.10)	0.73 (0.16)	0.96 (0.16)
4AR	0.58 (0.18)	0.35 (0.03)	0.65 (0.10)	0.73 (0.03)
5AR	0.62 (0.23)	0.35 (0.04)	0.63 (0.02)	0.89 (0.06)
6AR	0.84 (0.15)	0.75 (0.10)	0.81 (0.15)	0.96 (0.15)

La comparación del contenido total de sodio en las muestras estudiadas, se muestra en la figura R50.

El análisis por zonas muestra que el contenido de sodio tiende a incrementarse del borde externo a la unión amelodentinaria. Esta tendencia se observa en todas las muestras, pero se siguen manteniendo los valores más altos para los pacientes adultos, la figura R51 muestra esta comparación. En el borde externo se observa la mayor diferencia del valor de la muestra 6AR con la muestra 3BR (0.35 $p=0.0001$), el valor para la muestra 6AR en esta región es especialmente alto, 0.75 (cuadro R12), la diferencia entre los valores de las muestras de adultos disminuye en la zona central del espesor del esmalte y finalmente en la unión amelodentinaria las muestras 3BR y 6AR presentan el mismo valor, 0.96%. Las

muestras de los pacientes jóvenes no presentan diferencias importantes, aunque el valor de la muestra 2BR es menor en todos los análisis.

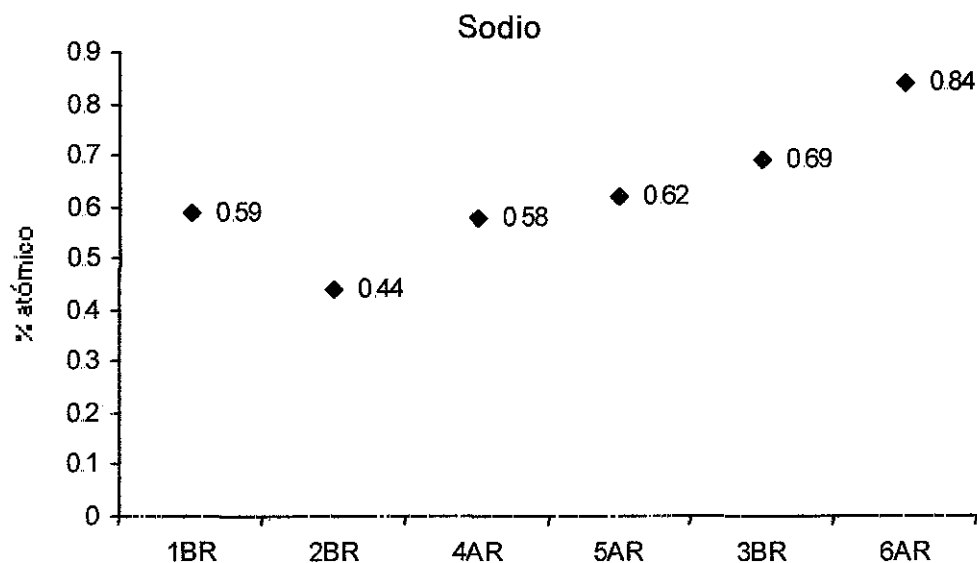


Figura R50. Contenido total de sodio en las muestras estudiadas.

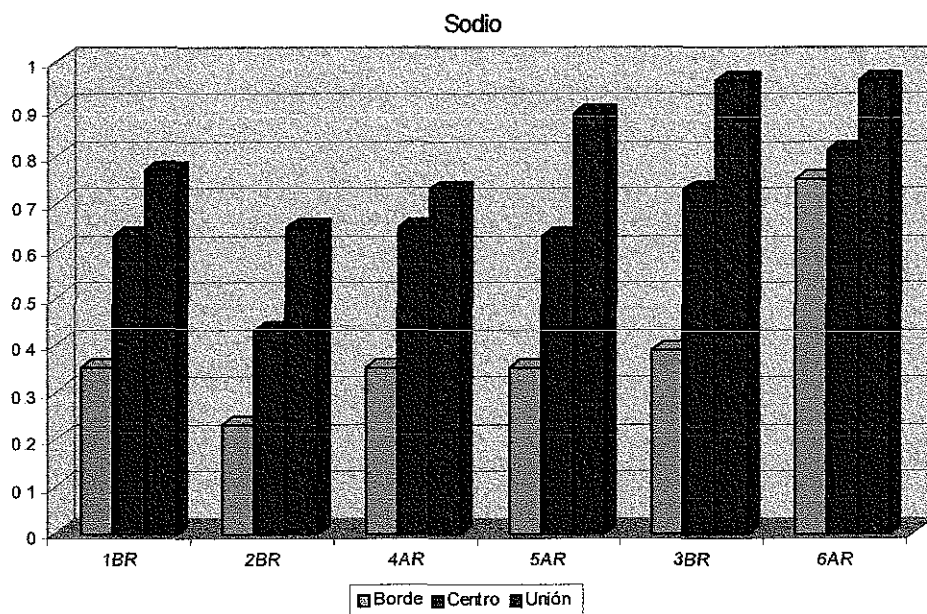


Figura R51. Contenido de sodio en borde externo, centro y unión amelodentinaria del esmalte dental de las muestras estudiadas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Magnesio.

El análisis del contenido de magnesio en el esmalte dental de las muestras del estudio se presenta en el cuadro R13 para el resultado global y las tres zonas estudiadas.

Las muestras de los pacientes adultos y la del paciente joven de alto riesgo 5AR presentan menor contenido de magnesio, el valor es 0.12% para las tres muestras, el valor para la muestra 2BR es especialmente alto, 0.20%

La figura R52 presenta la distribución del contenido total de magnesio en las muestras. No se observa relación de este elemento con el riesgo.

Cuadro R13. Contenido de magnesio del esmalte dental en % atómico para las muestras estudiadas.

Muestra	Global	Borde externo	Centro	Unión amelo- dentinaria
1BR	0.14 (0.06)	0.08 (0.02)	0.12 (0.04)	0.20 (0.05)
2BR	0.20 (0.05)	0.16 (0.02)	0.24 (0.08)	0.22 (0.02)
3BR	0.12 (0.04)	0.09 (0.02)	0.11 (0.07)	0.16 (0.04)
4AR	0.16 (0.07)	0.08 (0.03)	0.16 (0.01)	0.20 (0.05)
5AR	0.12 (0.04)	0.08 (0.02)	0.20 (0.03)	0.15 (0.03)
6AR	0.12 (0.04)	0.15 (0.05)	0.32 (0.12)	0.11 (0.04)

Se observa un incremento en los valores hacia el interior del esmalte, pero el comportamiento es diferente entre las muestras. En el borde externo, las muestras de 3 de los pacientes jóvenes mostraron el mismo valor 0.08, la muestra de bajo riesgo 2BR presentó un valor de 0.16, el doble del valor observado en las otras muestras de jóvenes. En la región central el valor más alto sigue siendo para 2BR, 0.24, los valores de las otras muestras se incrementan, siendo más importante el incremento en las muestra de alto riesgo, 0.12%, 0.16% y 0.20% para 1BR, 3AR y 5AR respectivamente. En la unión amelodentinaria el valor de 5AR disminuye a 0.15%. La muestra del paciente adulto de bajo riesgo presenta un incremento de magnesio hacia la unión amelodentinaria con valores más bajos que las muestras de jóvenes, 0.09%, 0.11% y 0.16% para borde, centro y unión respectivamente. Para la muestra del paciente adulto de alto riesgo 6AR la tendencia es similar a la del paciente 5AR con valores más altos en la zona central, pero aquí el menor

valor se observa en la unión amelodentinaria. 0.15%, 0.32% y 0.11% para borde, centro y unión respectivamente. La distribución del contenido de magnesio para las tres zonas estudiadas se observa en la figura R53.

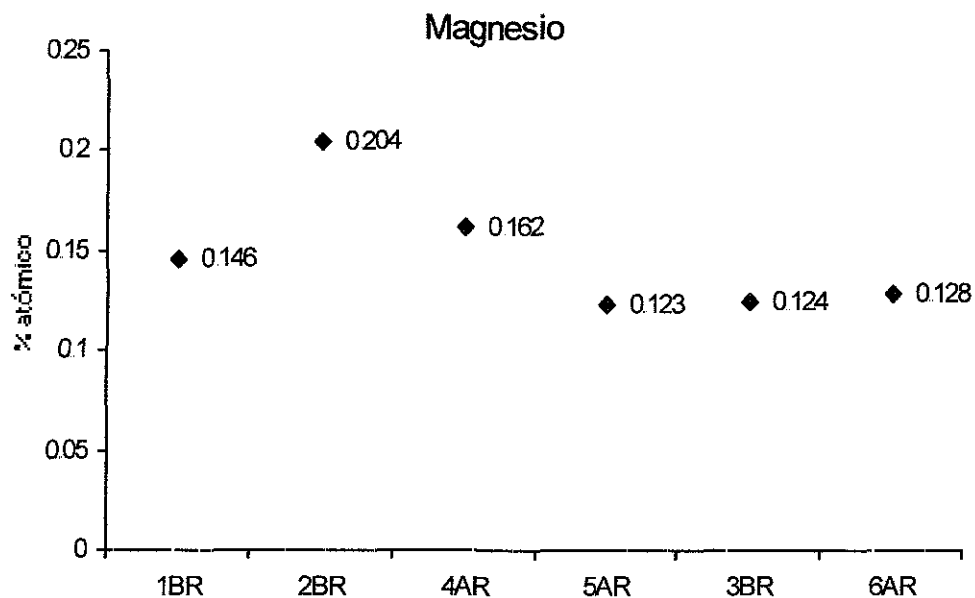


Figura R52. Contenido total de magnesio en esmalte dental de las muestras estudiadas.

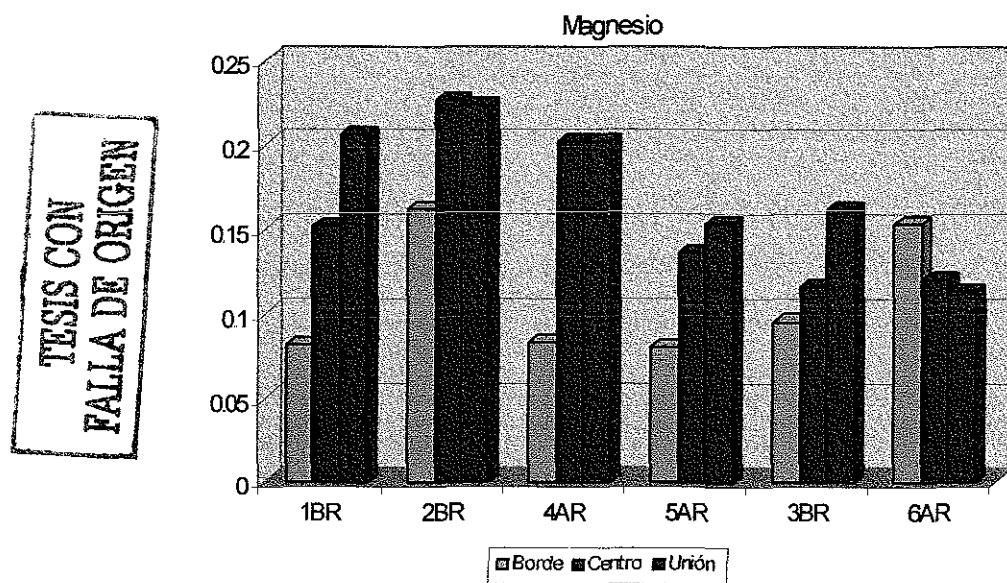


Figura R53. Contenido de magnesio en el borde externo, centro y unión amelodentinaria del esmalte dental de las muestras estudiadas

Cloro.

El análisis del contenido de cloro en el esmalte dental se presenta en el cuadro R14. Se obtuvo el valor medio y la desviación estándar para el análisis global y por zonas.

Los valores más altos son para las muestras de los pacientes de alto riesgo 5AR 0.24% y 6AR 0.38%.

Cuadro R14. Contenido de cloro en porcentaje atómico del esmalte dental de las muestras estudiadas.

Muestra	Global	Borde externo	Centro	Unión Amelodentinaria
1BR	0.15 (0.09)	0.27 (0.03)	0.15 (0.03)	0.07 (0.02)
2BR	0.23 (0.13)	0.38 (0.05)	0.22 (0.06)	0.08 (0.03)
3BR	0.20 (0.13)	0.34 (0.03)	0.11 (0.03)	0.14 (0.12)
4AR	0.21 (0.12)	0.37 (0.04)	0.20 (0.04)	0.10 (0.01)
5AR	0.24 (0.14)	0.41 (0.04)	0.13 (0.03)	0.09 (0.07)
6AR	0.38 (0.11)	0.46 (0.10)	0.12 (0.04)	0.35 (0.05)

La figura R54 presenta la comparación del contenido total de cloro en el esmalte dental. Se observa que la muestra 6AR es diferente al grupo, especialmente alta, los valores para las otras muestras son similares, la muestra 1BR presentó el menor valor 0.155.

La figura R55 muestra la comparación de la distribución de magnesio en las zonas estudiadas. Se observa una tendencia a la disminución del contenido de cloro del borde externo al interior del esmalte.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

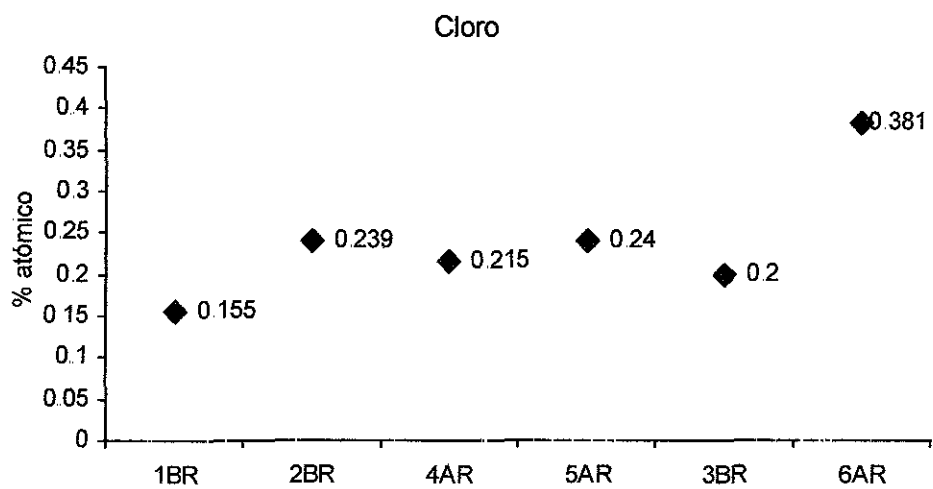


Figura R54. Contenido total de cloro en las muestras estudiadas.

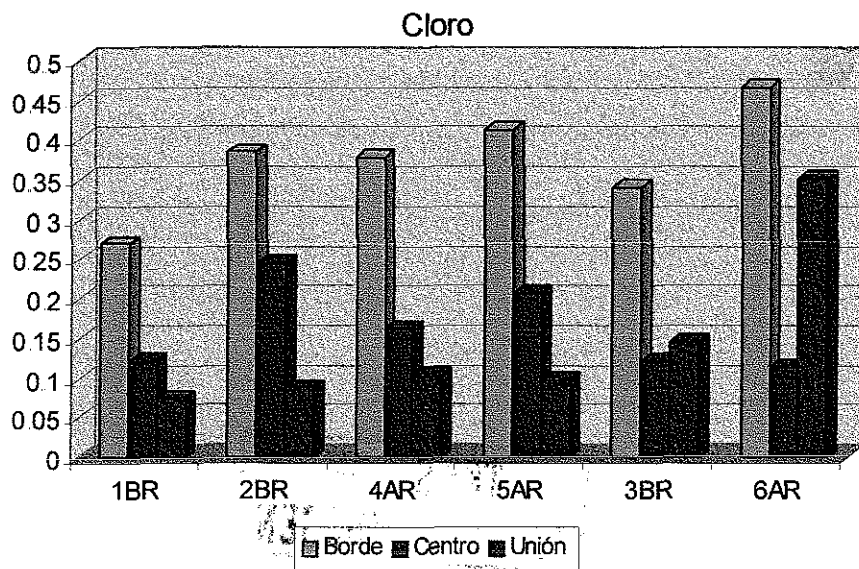


Figura R55. Contenido de magnesio en el borde externo, centro y unión amelodentinaria del esmalte dental de las muestras estudiadas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Los resultados muestran que existen diferencias en la composición química del esmalte entre los grupos de edad estudiados. Tomar en cuenta estas diferencias, facilitó identificar la relación entre la composición química y el riesgo de caries.

Las diferencias más importantes, las presentaron las muestras 5AR y 6AR, la muestra 4AR tendió a ser similar a las muestras de bajo riesgo en algunas de las comparaciones. Cabe mencionar que esta muestra presentó también consistentemente la mayor variabilidad en las concentraciones de los elementos comparados, mostrando valores altos de desviación estándar, lo que de alguna manera puede influir en este resultado.

Los elementos mayoritarios oxígeno, calcio y fósforo presentaron valores menores para los adultos mientras que el carbono presentó valores más altos. Sugiriendo que hay un cambio en la concentración de estos elementos al aumentar la edad.

El carbono presentó valores más bajos para las tres muestras de alto riesgo. El oxígeno presentó valores significativamente mayores para las muestras de los pacientes jóvenes de alto riesgo, en las muestras de los adultos no se observó diferencia en cuanto al riesgo. El fósforo y calcio presentaron un comportamiento muy similar, observándose valores mayores de estos elementos para las muestras de alto riesgo 5AR y 6AR, para la muestra 4AR el contenido de fósforo y calcio fue similar al de las muestras de jóvenes de bajo riesgo. Así mismo, la relación calcio/fósforo presentó valores mucho más bajos en los adultos y altos para las muestras de alto riesgo 5AR y 6AR comparados con los valores de las muestras de bajo riesgo.

En cuanto a la concentración de elementos minoritarios, para el cloro y el magnesio no presentaron concentraciones que pudieran asociarse a la edad o el riesgo a caries, el sodio presentó valores más altos para los adultos y para las muestras de alto riesgo 5AR y 6AR, especialmente alto en ésta última.

4.3 Resultados del análisis de las propiedades mecánicas.

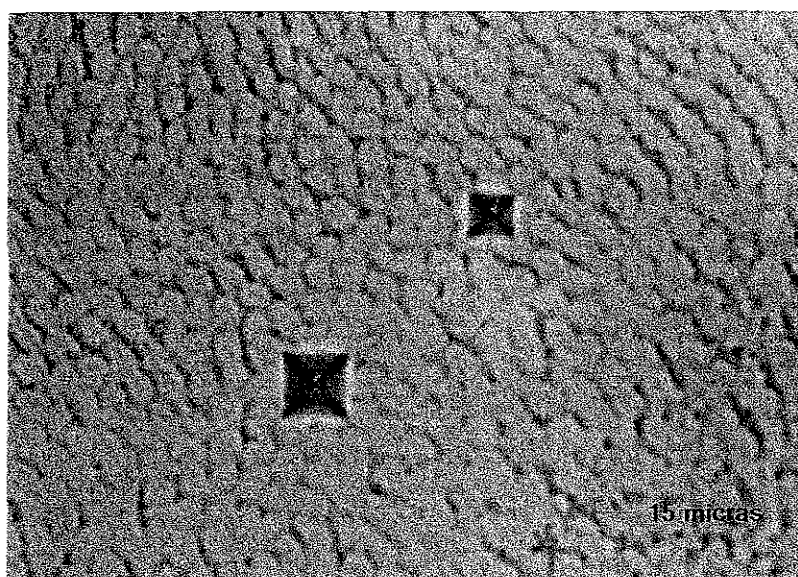
4.3.1 Microdureza.

Para la estandarización del método de dureza, se llevó a cabo un estudio piloto en siete dientes premolares. Tres de estos fueron seccionados transversalmente a nivel de las cúspides, tercio medio y tercio cervical. Los otros cuatro fueron seccionados longitudinalmente en sentido vestíbulo lingual en la parte central de la corona. Los resultados de este estudio piloto permitieron identificar los principales factores que afectan el resultado del valor de dureza. Estos son: El peso o carga empleado, la preparación de la muestra y la confiabilidad del observador en la medición de la impresión de la prueba. Para la selección de la carga adecuada se probaron pesos de 10g., 25g. y 50g. El cuadro R15 presenta los valores de dureza obtenidos con estos pesos, se decidió emplear la carga de 25g., ya que como se observa en el cuadro el valor de dureza no se afecta por la carga empleada. Por otra parte, con una carga de 10g. se obtuvieron valores bajos de confiabilidad derivados de una mayor dificultad para leer la longitud de la diagonal de la impresión y con el empleo de cargas de 50g. se presentó fractura en la zona alrededor de la indentación. La figura R56 presenta indentaciones con cargas de 25g. y 50g.

Cuadro R15. Número de dureza Vickers (VHN) y longitud de la diagonal de la indentación (LI) para diferentes pesos.

Peso (g)	N	LI μm (DE)	VHN (DE)
10	15	7.33 (0.24)	352 (19.03)
25	9	11.60 (0.17)	344 (9.67)
50	10	16.29 (0.61)	349 (24.83)

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura R56. Indentaciones con 50g y 25g. en sección transversal de esmalte.

Se realizaron indentaciones en cinco zonas, en las secciones transversales no se encontraron diferencias en el valor de dureza a nivel de las cúspides, tercio medio o cervical por lo que estos valores se consideraron una sola zona, la zona 5. Las otras zonas probadas fueron sobre las secciones longitudinales: la zona 1 corresponde a la región cervical, la zona 2 al tercio medio, la zona 3 a la cúspide y la zona 4 al surco. Los valores promedio de las secciones en las cinco zonas se muestran en el cuadro R16.

Cuadro R16. Número de dureza Vickers VHN y longitud de la diagonal de la indentación (LI) para las cinco zonas analizadas (Desviación Estándar)

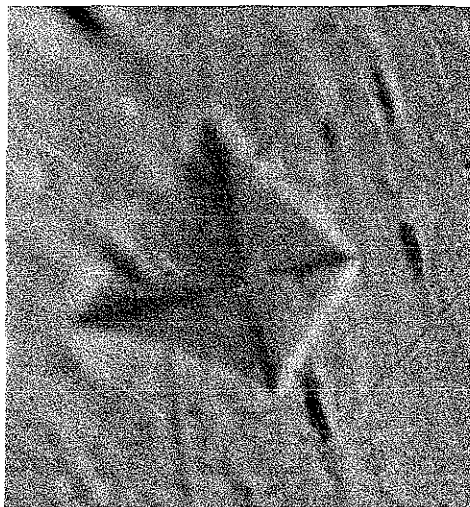
Zona	N	LI μm (DE)	VHN (*)
1. Cervical	55	13.06 (1.19)	270 (230 – 279)
2. Tercio medio	114	12.51 (0.45)	297 (279 – 322)
3. Cúspide	154	12.54 (0.68)	297 (266 – 327)
4. Surco	89	12.39 (0.48)	301 (327 – 390)
5. Transversal	289	10.31 (0.55)	363 (327 – 397)

(*) Valores de dureza \pm una desviación estándar.

La zona con mayor resistencia a la penetración del indentador es la zona 5, que corresponde a las secciones transversales. En esta zona también fueron obtenidas indentaciones mejor

definidas y con menor fractura, por lo que esta zona se considera la mejor para estudio comparativo de la dureza del esmalte.

Otro factor de importancia en la prueba de dureza es la preparación de la muestra. Esta debe tener una superficie perfectamente plana que permita que el indentador penetre perpendicular a la muestra ya que pequeñas inclinaciones ocasionan que se obtengan indentaciones alargadas como se observan en la figura R57. En especial, estas indentaciones deformadas se observaron en la zona cerca de la unión amelodentinaria debido a que por la diferente dureza de estos tejidos se forma un escalón que provoca que el indentador no penetre perpendicular a la muestra y esta se alargue, ocasionando un valor de dureza menor.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura R57. Indentación deformada debido a inclinaciones en la superficie de la muestra.

La confiabilidad del valor de dureza es altamente dependiente de la capacidad del observador en la lectura de la longitud de la diagonal de la indentación, debido a que la escala de dureza es una escala muy sensible. La diagonal es medida en micras, dependiendo del peso empleado, una diferencia de una micra puede variar el valor de dureza hasta en más de 50 unidades Vickers. Por ejemplo, utilizando una carga de 25g., una diagonal de 11.5 micras puede obtenerse, el valor en unidades Vickers es 350, para una diagonal de 12.5 el valor es 297 y para una diagonal de 10.5 el valor es de 420. Así, aceptando un error en la medición de más-menos una micra, el rango de valores que puede obtenerse es de 297 a 420 unidades Vickers. Un intervalo tan amplio de valores hace difícil establecer diferencias

entre los valores de dureza al comparar los resultados, ya sea entre dos muestras o del cambio en la dureza de una misma muestra después de exponerla a algún tratamiento. Es por tanto muy importante que todos los factores que afectan la medición, especialmente la confiabilidad del observador en la lectura de la longitud de la indentación, se minimicen para poder obtener valores de dureza con la menor variación posible.

La orientación del tejido no alteró el valor de dureza la figura R58 muestra una indentación orientada paralela a la dirección de los prismas.

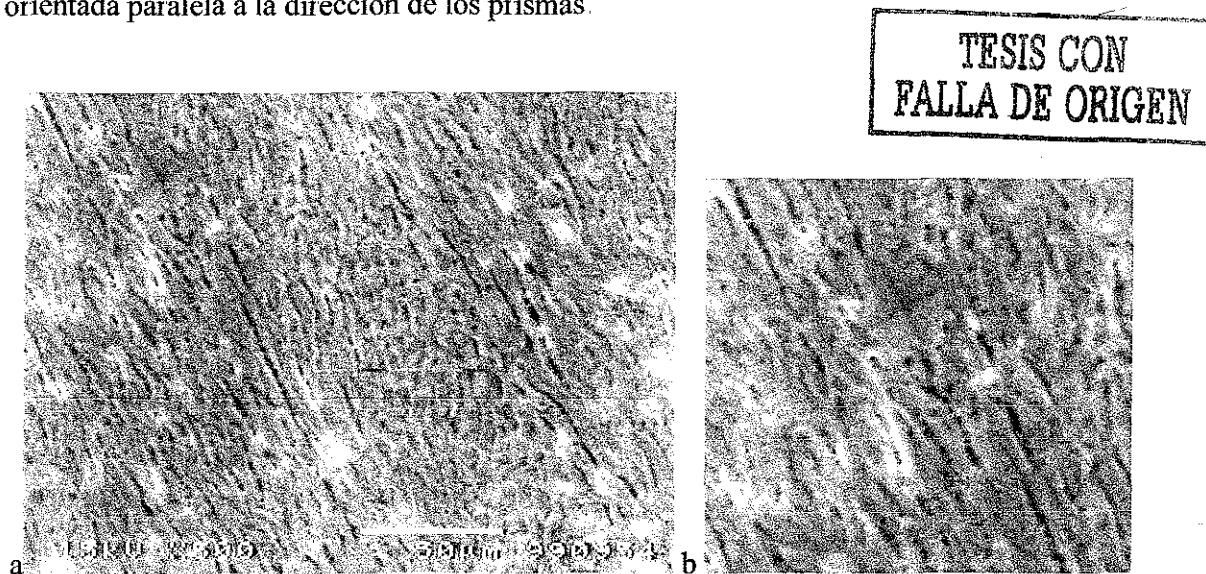


Figura R58. Micrografía de MEB que muestra una indentación en la cúspide vestibular, de la sección longitudinal, donde se orientó la diagonal de la indentación paralela a la dirección de los prismas. El recuadro se amplifica para mostrar la correcta forma de la huella dejada por el indentador.

Para el estudio comparativo en las muestras de alto y bajo riesgo, la dureza del esmalte se analizó en dos aspectos, la comparación de los valores de dureza en la sección transversal, justo debajo de la cúspide vestibular, como una variable cuantitativa y el comportamiento de la dureza a través del espesor del esmalte, como una variable cualitativa.

La figura R59 muestra la zona de la cúspide con las pruebas de dureza en la sección longitudinal. La distancia entre las indentaciones es variable, éstas se hicieron considerando una distancia entre una y otra mayor a des veces la longitud de la indentación y seleccionando una zona libre de irregularidades de acuerdo a las normas del método. Por lo tanto la distancia entre las indentaciones corresponden a unidades arbitrarias. En esta

sección con el empleo de carga de 50g. se observó fractura alrededor de la indentación. Con una carga de 25g. la fractura fue menor pero también se observó. La figura R59b muestra un acercamiento, también en la cúspide vestibular, se observan indentaciones en esmalte y dentina. El valor de dureza se mantiene constante aún cerca de la unión amelodentinaria. La figura R60 muestra indentaciones en sección transversal que se emplearon para el estudio comparativo entre las muestras de alto y bajo riesgo.

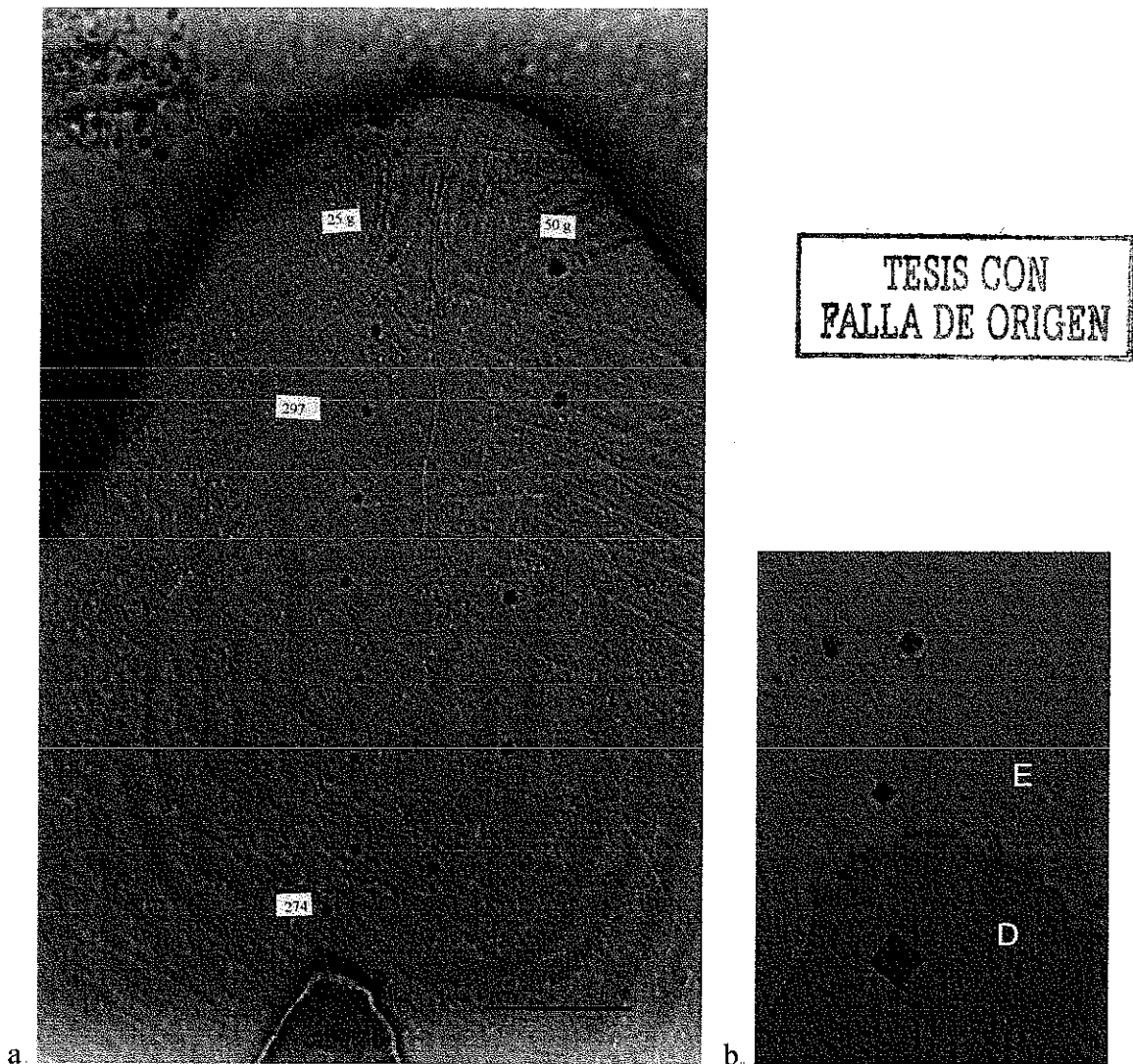
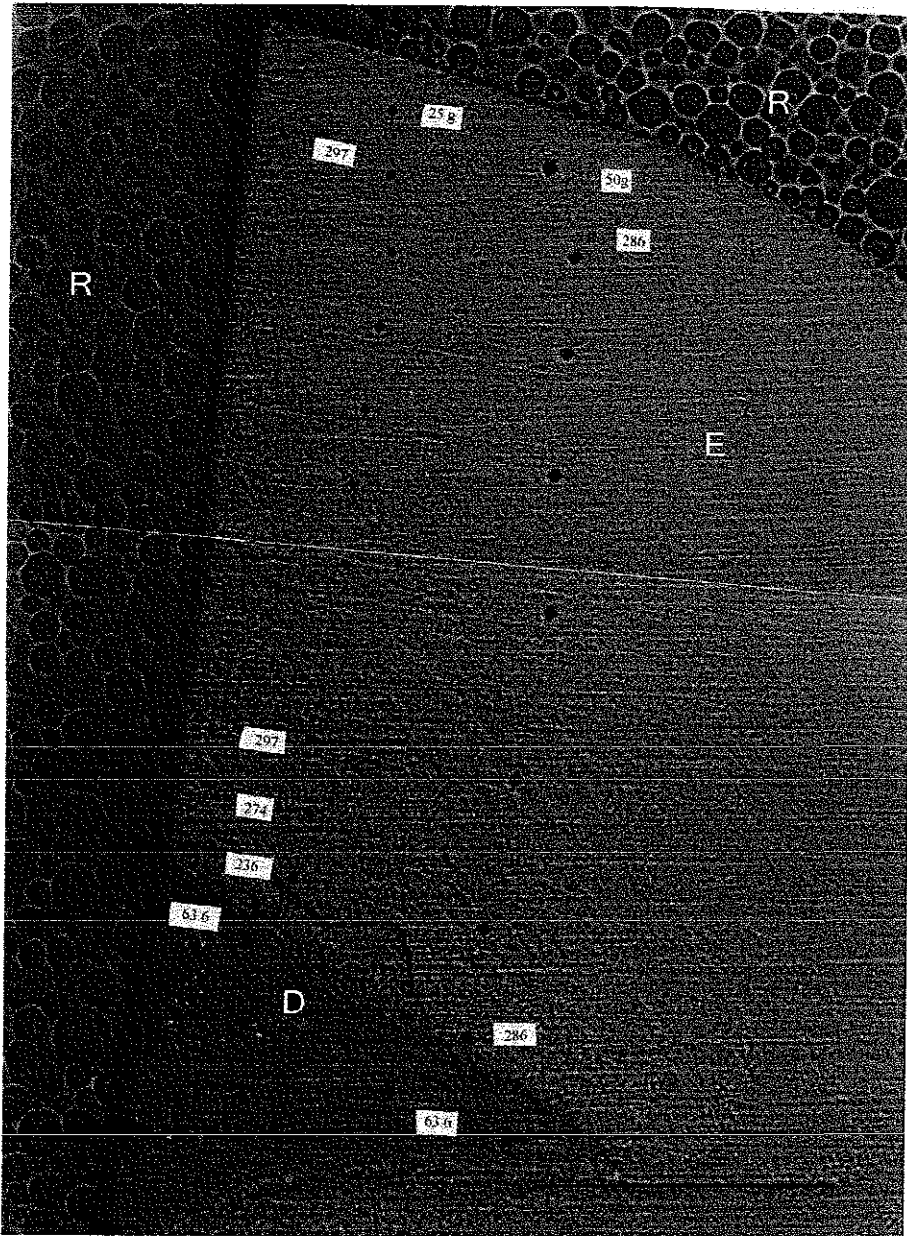


Figura R59. Microfotografías de luz de la cúspide vestibular a) pruebas de dureza de 25g y 50g. del borde externo a la unión amelodentinaria. Con 50g. se presentó fractura en todas las pruebas para esta muestra. b) Cúspide vestibular que muestra dos indentaciones en esmalte, cerca de la unión la indentación no presentó fractura y el valor no cambia. Se observa también una indentación en dentina. La barra equivale a 0.5 mm.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura R60. Micrografía de luz de la prueba de dureza en sección transversal. Las mediciones se hicieron de vestibular a lingual en el esmalte y dentina. La columna de la izquierda corresponde a indentaciones con carga de 25g y la de la derecha a indentaciones con 50g. En esta sección no se presenta fractura con ninguno de los dos pesos. E esmalte, D dentina, R resina acrílica. La barra indica 1mm.

En el análisis cualitativo presenta el perfil de dureza para cada muestra, la figura R61 muestra la distribución de los valores de dureza del borde externo a la unión amelodentinaria en la zona de la cúspide para las muestras de los pacientes jóvenes de bajo riesgo. La muestra 1BR presenta valores de 297 VHN en el borde externo ligera variación

en la zona central y valores bajos, 254VHN, cerca de la unión amelodentinaria. La muestra 2BR presenta gran variación a través del espesor sin una tendencia clara, el rango de valores varió de 297VHN a 350VHN. La figura R62 muestra los valores obtenidos para las muestras de alto riesgo. La muestra 4AR presentó un valor alto en el borde, 322 VHN, seguido por valores bajos de 254VHN a 274VHN, sin gran variación hasta la unión amelodentinaria. La muestra 5AR presenta gran variación de los valores de dureza en todo el espesor del esmalte, sin una tendencia específica, el rango de valores es de 254VHN a 297VHN. La figura R63 presenta el perfil de dureza de las muestras de los pacientes adultos. La muestra 3BR presenta variación del valor de dureza de 322VHN a 297VHN, hasta aproximadamente la mitad del espesor del esmalte y un valor de dureza menor y constante, 297VHN desde aquí hasta la unión amelodentinaria. La muestra 6AR presenta un valor bajo 206VHN en el borde externo seguido de un valor de 258VHN constante hasta la mitad del esmalte y después gran variabilidad con valores de 254VHM a 297VHN hasta la unión amelodentinaria.

El perfil de dureza de las muestras no mostró diferencias claras con respecto al riesgo a caries, excepto por que en general los valores de las muestras de alto riesgo fueron menores que los de las muestras de bajo riesgo. Las muestras 2BR y 5AR no presentaron una tendencia específica. Las muestras 1BR, 4AR y 3BR presentaron valores ligeramente menores de la mitad del espesor del esmalte a la unión amelodentinaria. La muestra 6AR, al contrario del comportamiento observado en las demás muestras, mostró valores constantes y más bajos en la mitad externa del esmalte y valores variables y ligeramente más altos hacia la unión amelodentinaria.

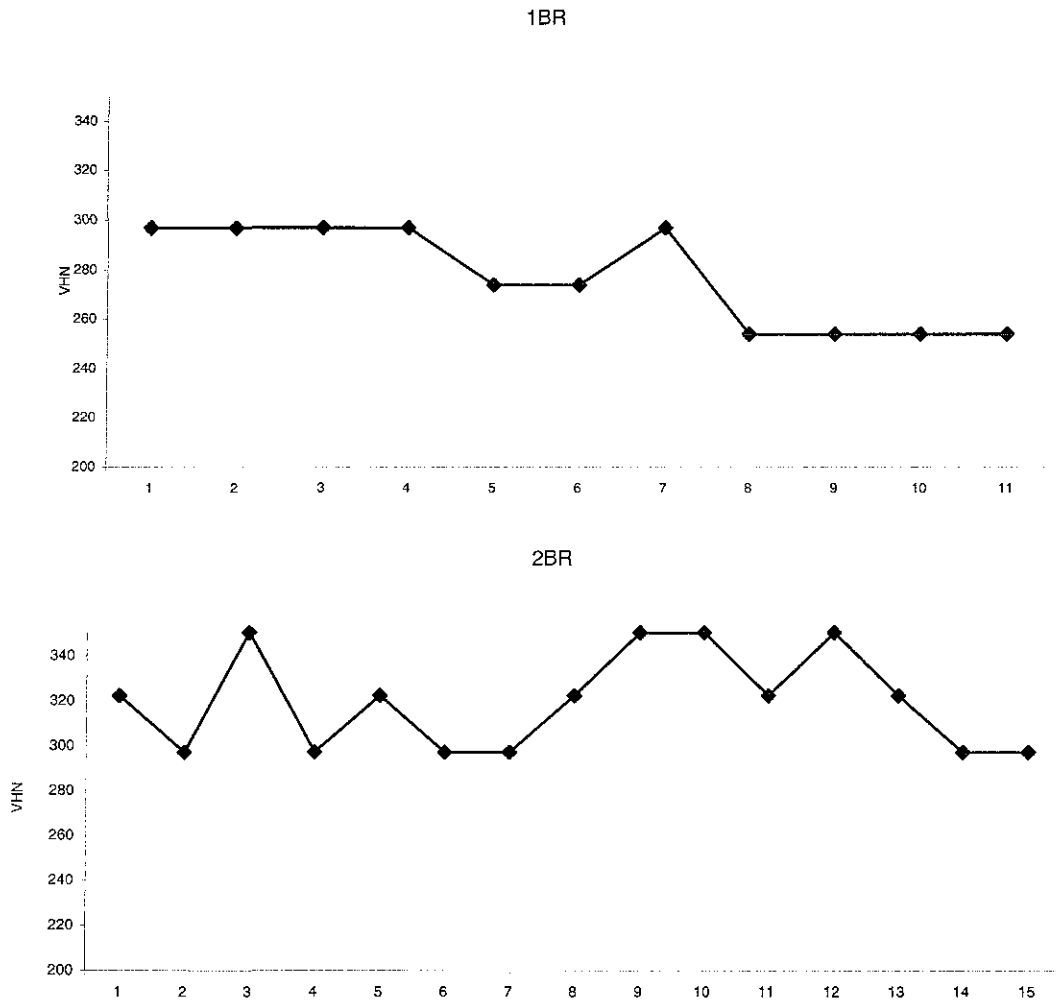


Figura R61. Perfil de dureza de las muestras de bajo riesgo 1BR y 2BR. Eje X, número de indentaciones del borde externo a la unión amelodentaria (distancia en unidades arbitrarias).

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

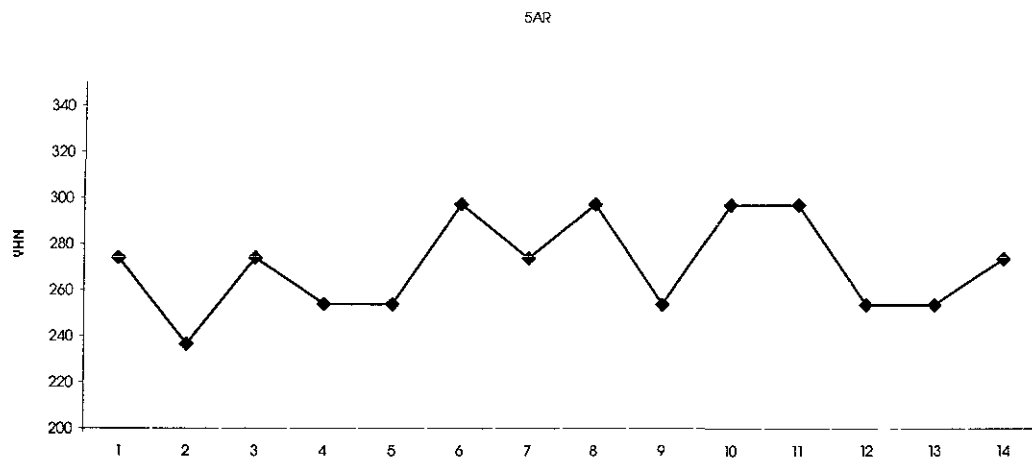
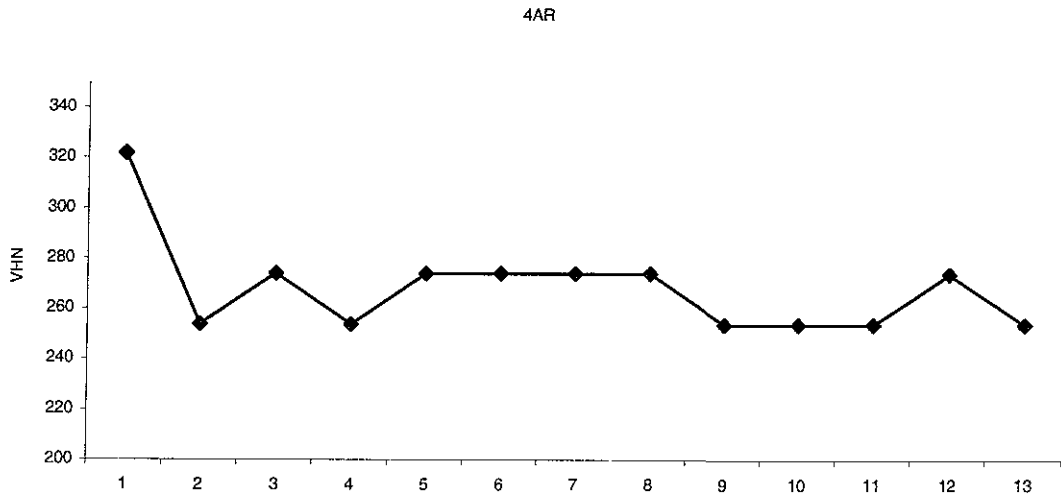


Figura R62. Perfil de dureza de las muestras de pacientes jóvenes de alto riesgo 4AR y 5AR. Eje X, número de indentaciones del borde externo a la unión amelodentínaria (distancia en unidades arbitrarias).

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

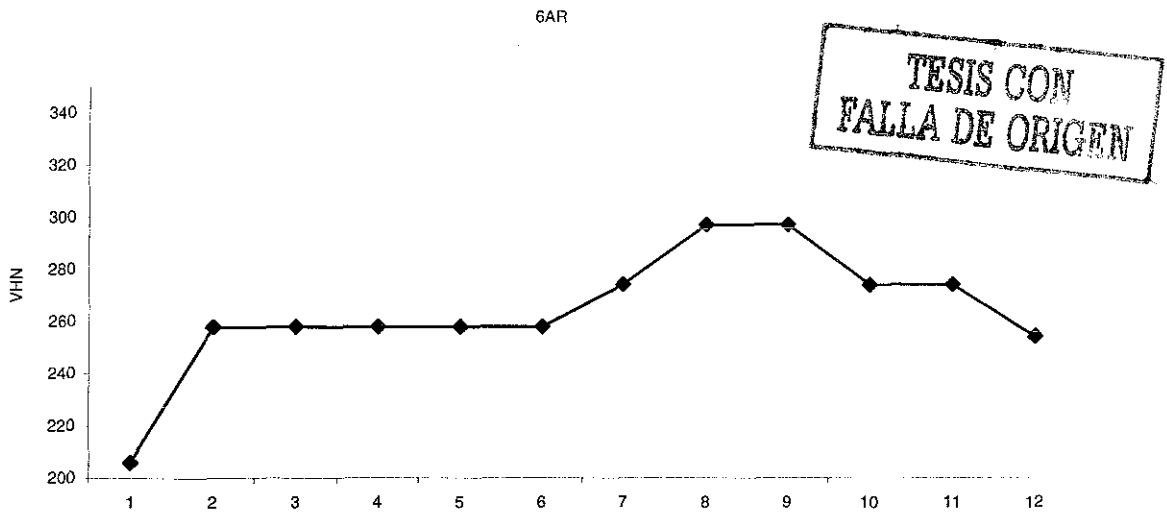
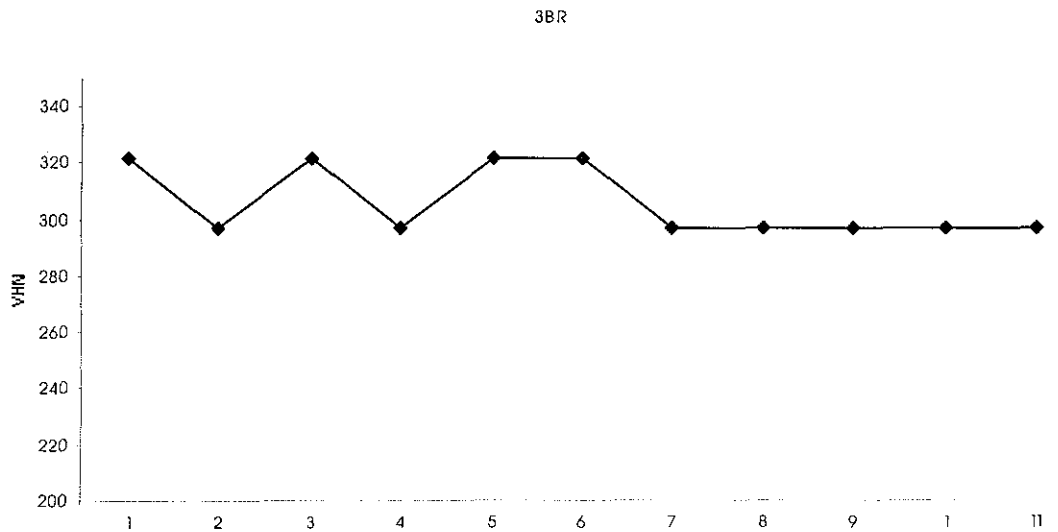


Figura R63 Perfil de dureza del las muestras de los pacientes adultos de bajo riesgo 3BR y de alto riesgo 6AR. Eje X, número de indentaciones del borde externo a la unión amelodentinaria (distancia en unidades arbitrarias).

Para el análisis cuantitativo se hicieron 15 mediciones de dureza en cada muestra, los resultados del valor medio y desviación estándar del número de dureza Vickers (VHN) se muestran en la tabla R16. La figura R64 muestra gráficamente las diferencias en la distribución de los valores. Los valores para las muestras de alto riesgo 4AR, 5AR y 6AR presentan valores muy similares entre ellas y menores que los de las muestras de bajo riesgo, la muestra con mayor dispersión de valores es la muestra 4AR (tabla R16). Los valores de las muestras de bajo riesgo, 1BR, 2BR y 3BR presentan diferencias entre ellos

siendo más alto el de la muestra del paciente adulto 3BR. La comparación de los valores por medio de análisis de varianza mostró diferencias significativas entre las muestras. La comparación de las diferencias de los valores promedio de dureza para las muestras de bajo riesgo con las de alto riesgo se muestra en la tabla R17.

Tabla R16. Resultados de la prueba de dureza en las muestras estudiadas.
Valores para la diagonal y el número de dureza Vickers (VHN).
Media y (*) desviación estándar.

Muestra	Diagonal μ (*)	VHN (*)
1	12.23 (0.41)	310.93 (21.98)
2	11.93 (0.56)	327.20 (29.97)
3	11.13 (0.51)	376.07 (34.54)
4	12.83 (0.69)	283.73 (31.76)
5	13.03 (0.35)	273.27 (15.07)
6	13.16 (0.67)	269.07 (26.21)

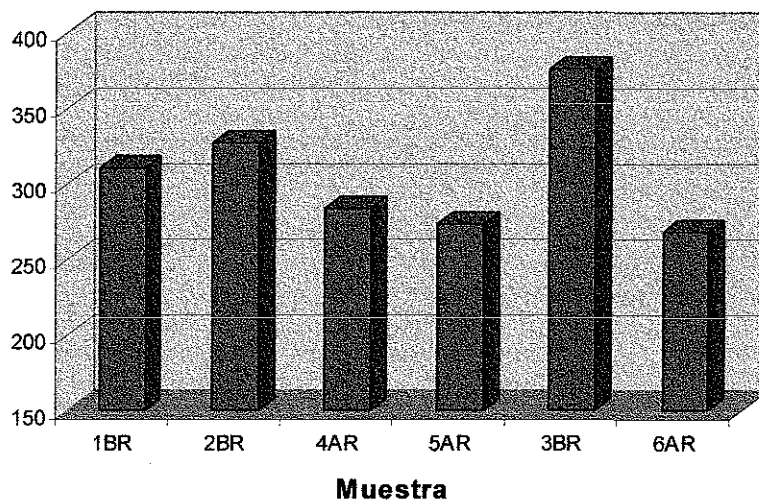


Figura R64. Valores de dureza para las muestras estudiadas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla R17. Comparación de las diferencias del valor promedio de dureza de las muestras de bajo riesgo con las de alto riesgo

Muestra I	Muestra J	Diferencia I - J	Sig. Estadística	Intervalo de confianza 95%	
			Valor de p	Lim inf.	Lim sup.
1BR	4AR	27.20	n. s.	-6.87	61.27
	5AR	37.67	.020	3.59	71.74
	6AR	41.87	.006	7.79	75.94
2BR	4AR	43.47	.004	9.39	77.54
	5AR	53.93	.0001	19.86	88.01
	6AR	58.13	.0001	24.06	92.21
3BR	4AR	92.33	.0001	58.26	126.41
	5AR	102.80	.0001	68.73	136.87
	6AR	107.00	.0001	72.93	141.07

Todas las comparaciones de las muestras de bajo riesgo con las de alto riesgo mostraron una diferencia positiva y con excepción de la comparación de la muestra 1BR con 4AR, todas las diferencias son altamente significativas desde el punto de vista estadístico.

Los valores de las muestras de alto riesgo fueron consistentemente menores que los valores de las muestras de bajo riesgo tanto en el análisis cuantitativo como en el análisis cualitativo.

Es importante mencionar que en todas las muestras, al igual que en los resultados del estudio piloto, los valores de dureza en los cortes transversales fueron más altos que los obtenidos en los cortes longitudinales, poniendo de manifiesto la anisotropía del tejido.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Capítulo 4.

DISCUSION

4.1 Grupos de alto riesgo.

La característica fundamental de los individuos que presentan alto riesgo a caries es el rápido progreso de la enfermedad, manifestado por un alto número de dientes afectados, la presencia de lesiones cariosas severas y la pérdida temprana de órganos dentales. Es importante remarcar que no existe actualmente tratamiento para la caries, la enfermedad, y que la atención dental no va destinada a curar o controlar la enfermedad, solo rehabilita el daño ocasionado por ésta. El uso de fluoruros no es tampoco un tratamiento para la enfermedad, ya que ha quedado establecido que su acción no previene la formación de lesiones, solo retarda el progreso de las mismas (11).

El estudio de los determinantes de la condición de alto riesgo a caries se torna de mayor importancia debido a que las medidas de control de la enfermedad, que han mostrado buenos resultados para la población en general, en estos grupos en particular parecen no tener el mismo efecto, por lo que esta población continua sufriendo bajos niveles de salud oral, con las condiciones de enfermedad, incapacidad, e insatisfacción que esto conlleva.

La prevalencia de grupos de alto riesgo se ha mantenido constante aún con el cambio favorable en la tendencia de la enfermedad, observado en otros países. En México no se cuenta con datos a nivel nacional sobre este problema, pero los datos de algunas zonas específicas en población escolar indican también que la prevalencia se ha mantenido. En la Ciudad de México en 1988 la prevalencia de escolares de alto riesgo fue 18.78% (22), en el Valle de Chalco, estado de México, una zona marginada suburbana, en 1994 se encontró una prevalencia de escolares de alto riesgo de 17.8% (28). En el estado de Campeche, en 1998, en una población rural se reportó una prevalencia de 23.6% (32), en una población suburbana 16.8% (31) y en población urbana 16.2% (80).

Estos datos permiten ver que el problema presenta una frecuencia importante en nuestro país y si consideramos el alto costo que requiere la atención dental de estos grupos, que los recursos para la atención son escasos y, sobre todo, que las medidas preventivas actuales no han mostrado un buen resultado en estos grupos, se hace evidente que se requiere del desarrollo de medidas de prevención y control, basadas en el conocimiento etiológico de esta condición.

La condición de alto riesgo a caries es una manifestación muy severa de la enfermedad. Es por esto que el objetivo del presente trabajo se relaciona con la etiología de la enfermedad y no de la lesión cariosa. Estas son dos áreas de conocimiento que es importante diferenciar (68). La enfermedad es el proceso que genera las condiciones para que los síntomas (las lesiones cariosas) se presenten y progresen.

Si bien la selección de los pacientes se basó en la experiencia de caries, esta variable se está tomando como un indicador de la presencia de la enfermedad debido a que ha sido la variable más asociada a la actividad futura de caries por ser la manifestación objetiva de los factores, ya sea locales y/o ambientales, que en conjunto son capaces de incrementar la severidad de la enfermedad.

El estudio de la etiología de la enfermedad, para este trabajo se basa en el modelo conceptual presentado en la figura 1, que considera a los factores internos o locales como los factores directos y determinantes principales de la enfermedad y a los factores externos como factores indirectos, que actúan sobre los factores directos modificando su efecto.

El esmalte dental corresponde a los factores internos, determinantes directos en el proceso de caries. Las características estructurales, químicas y de dureza del esmalte que se observaron en las muestras de sujetos de alto riesgo pueden incrementar el efecto de otros factores ya identificados en el proceso de caries, la plausibilidad biológica de su relación será discutida en el marco del modelo propuesto.

4.2 Los resultados

Los resultados del presente trabajo mostraron diferencias en los tres aspectos comparados: en la estructura se encontró que el arreglo prismático de las muestras de sujetos de alto riesgo presenta solución de continuidad en el trayecto de los prismas, además de giros y flexiones de éstos produciendo un espaciamiento irregular entre los prismas que da la apariencia de un tejido desordenado, mientras que en los sujetos de bajo riesgo se observó el arreglo prismático característico bien definido y no se observó solución de continuidad de los prismas.

En la composición química del esmalte se analizó el contenido de elementos mayoritarios carbono, oxígeno, calcio, fósforo y la relación calcio/fósforo, y, de los elementos minoritarios magnesio sodio y cloro. Las diferencias observadas fueron estadísticamente

significativas en prácticamente todas las comparaciones del contenido de los elementos constituyentes, tanto en la comparación total del esmalte, como en las tres zonas del espesor del esmalte que se analizaron.

La dureza del esmalte presentó valores congruentes con los valores reportados desde las primeras determinaciones de la dureza del esmalte en los años sesenta hasta la actualidad. Dentro del rango de dureza establecido para el esmalte, las muestras de alto riesgo presentaron los valores más bajos y las muestras de bajo riesgo los valores más altos, las diferencias encontradas en este caso fueron estadísticamente significativas en todas las comparaciones. Por lo tanto, se demuestra en este trabajo de tesis que existen diferencias en la estructura, composición química entre sujetos de alto riesgo y sujetos libres de caries.

La estructura del esmalte

Desde el primer análisis que se realizó a los dientes para el estudio, se encontraron diferencias en cuanto al color, brillo y regularidad de las superficies. Las muestras de alto riesgo presentaron un color no uniforme con zonas blanquecinas aparentemente desmineralizadas, presentaron menor brillo y superficie más irregular que las muestras de bajo riesgo.

El análisis de las características de la superficie dental por medio de MEB mostró consistentemente más porosidad y estructura irregular en las muestras de alto riesgo, lo que puede indicar una mayor propensión del esmalte a favorecer la presencia de otros factores que facilitan la desmineralización, como podría ser la acumulación de placa dentobacteriana. Nyvad y Fejerskov (69) en un estudio con MEB encuentran que la deposición y retención de la placa bacteriana pionera (primera en colonizar) es altamente dependiente de la microestructura de la superficie dental. Quirynem (70) de una revisión de la literatura, concluye que la superficie rugosa ha mostrado tener un efecto sobre la adhesión bacteriana. Zee (71), en un estudio donde comparó las características morfológicas de la placa en formadores rápidos y lentos de placa, encontró que en los dos grupos la colonización se inició con organismos individuales retenidos en puntos y surcos del esmalte y que las diferencias en la tasa de formación de placa en estos dos grupos surge del desarrollo de placa temprana más que de placa tardía. Un hecho que incrementa la

posibilidad de que las características de la superficie, observadas en los sujetos de alto riesgo, favorezcan la presencia de placa dentobacteriana es que en el examen oral, en los pacientes de alto riesgo, se encontró mayor acumulación de placa, según se observa en las imágenes del estado oral de los pacientes. Estos resultados concuerdan con otros estudios en los cuales la presencia de placa se ha asociado con la condición de alto riesgo, estudios en población escolar en México han encontrado consistentemente una fuerte asociación de la presencia de placa con el riesgo a caries (30, 31, 32). En estos estudios se empleó análisis multivariado, lo que mostró que aún en presencia de otros factores, la presencia de placa está altamente asociada con la condición de alto riesgo. Así las características de la superficie encontradas en los pacientes de alto riesgo pueden condicionar la acumulación de placa, un factor relacionado con el riesgo a caries.

La estructura interna del esmalte presentó así mismo diferencias en los sujetos de alto riesgo, caracterizadas por irregularidad en el ordenamiento de los prismas y por giros y ondulaciones más marcadas, concretamente los giros de 180° en el prisma sólo fueron observados en las muestras 5AR y 6AR, en las muestras de pacientes de bajo riesgo se observó una estructura característica, descrita en los textos.

La presencia de cambios de dirección anormales en el trayecto de los prismas ha sido reportada, pero no se ha asociado con el proceso de caries dental. Suckling y col. (72) en un estudio de defectos del desarrollo del esmalte encuentra en dientes con alteraciones en el proceso de mineralización, prismas con curvaturas irregulares cerca de la superficie. El autor menciona que una curvatura única, cerca de la superficie es considerada normal, pero los efectos y razones de algunos cambios de dirección en los prismas, una función de la fase secretoria, requieren de investigación futura.

Como se observa en las imágenes, la alineación de los prismas, permiten una estructura ordenada con poco espacio entre ellos, los giros y contracciones de los prismas permiten huecos o espacios entre los prismas que dan la imagen de un tejido menos ordenado.

Fejerskov y Thylstrup (73) encuentran que la inusual curvatura de los prismas hacia la superficie externa de un diente podría permitir un incremento en la cantidad de material orgánico y un decrecimiento en el valor de dureza. Como se mencionó, las alteraciones en la dirección de los prismas no se han asociado con el proceso de caries, pero es muy probable que influyan en su resistencia a la disolución, su permeabilidad y otras

propiedades. Por lo que este aspecto requiere aún de investigación adicional. En este estudio las muestras de alto riesgo mostraron consistentemente mayor irregularidad en el acomodo de los prismas que las muestras de bajo riesgo. Estos resultados nos podrían estar indicando un posible parámetro a nivel genético, pero esto requiere de una mayor investigación a nivel de Biología Molecular. Es decir, con un enfoque complementario al presente trabajo de tesis.

Las superficies oclusales son los sitios preferenciales para la formación de lesiones, y varios estudios se han realizado tratando de relacionar la forma del surco con la susceptibilidad a la presencia de lesiones. Los surcos con paredes más profundas y estrechas presentan lesiones más desarrolladas. König (74) en un exhaustivo estudio de 140 secciones no descalcificadas de 12 premolares humanos, encuentra una relación entre la morfología de la fisura y la presencia o desarrollo de lesiones. Complementa su estudio con molares de 24 ratas susceptibles y 24 ratas resistentes a caries y encuentra que la morfología de las dos no difiere importantemente. En las ratas susceptibles encuentra también la asociación de la forma del surco con el desarrollo de lesiones, y en las ratas resistentes encuentra que aún con dieta cariogénica y surcos profundos y estrechos, estas ratas, no desarrollan lesiones. El autor atribuye este último hecho a factores ambientales desconocidos.

Los resultados del presente estudio sugieren que otros factores, como la estructura o composición química, además de los factores ambientales, puede estar confundiendo la relación entre la forma del surco y la susceptibilidad a la presencia de lesiones.

En los pacientes estudiados, los de bajo riesgo presentaron un surco en forma de V que se ha considerado más resistente a la formación de lesiones. Los pacientes de alto riesgo presentaron un surco con forma de fisura profunda al que se atribuye mayor susceptibilidad y éstos presentaban ya lesión de caries en ambos pacientes. Sin embargo, también se encontró en uno de los pacientes no incluidos en el estudio, con experiencia mínima de caries, el mismo tipo de surco en forma de fisura profunda y éste no presentó lesión de caries. Es importante considerar que el análisis de la estructura interna en el surco, mostró una diferencia que puede estar relacionada a la formación de lesiones. El borde externo del surco se encuentra formado por un tejido que difiere del arreglo prismático de la parte interna, este tejido no se encuentra totalmente diferenciado en las muestras de los pacientes

de alto riesgo. El tejido bien diferenciado del borde se observó, tanto en las muestras de los pacientes de bajo riesgo con el surco en forma de V, como en el paciente no incluido en el estudio con surco en forma de fisura profunda, por lo que las diferencias en el tejido observado en el borde del surco, no necesariamente están determinadas por la forma. El tejido observado en el borde externo del surco, es también producto de los procesos de desarrollo del diente que determinan su estructura final y como se mencionó antes, requieren de mayor investigación.

Como se mencionó en el capítulo de métodos, la organización del tejido observadas en los cortes, pueden estar influenciados por la preparación de la muestra; pero, difícilmente la metodología de la preparación de la muestra pudo haber determinado las diferencias observadas ya que las observaciones fueron consistentes, tanto en los grupos de alto riesgo, la estructura no ordenada, como en los grupos de bajo riesgo, la estructura ordenada. Esta variable, es una variable cualitativa y no hay una prueba estadística que apoye la aceptación o rechazo de la hipótesis de que existen diferencias entre los grupos comparados. Sin embargo la consistencia de las observaciones y plausibilidad biológica de que las diferencias en el arreglo prismático, identificadas en este estudio, puedan estar relacionadas con el proceso de caries puede apoyar la decisión en cuanto a la hipótesis planteada en este trabajo de tesis.

La composición química

Es difícil hacer una comparación de los resultados del análisis químico, encontrados en este estudio con aquellos reportados en la literatura, debido a que la mayoría de los resultados publicados provienen de estudios de termogravimetría o de esmalte en polvo y la preparación de la muestra puede variar los resultados obtenidos. En este estudio el análisis se hizo sobre el espesor del esmalte, sin separarlo, gracias al método de EDS utilizado para el análisis.

Se ha reportado que el esmalte dental presenta una composición química compleja (46) por que incluye una gran variedad de elementos en cantidades muy pequeñas y algunos a nivel de traza. La forma como estos elementos y iones están incorporados a la estructura

cristalina de la apatita del esmalte se encuentra aún en estudio, pero se sabe que estos elementos son los que dan al esmalte sus propiedades.

En el análisis llevado a cabo en este estudio se encontraron diferencias estadísticamente significativas en prácticamente todas las comparaciones entre los grupos de alto y bajo riesgo, en el porcentaje atómico de los constituyentes del esmalte.

La composición de elementos fue similar a la reportada, con excepción del carbono, este puede provenir de componentes orgánicos o bien de iones carbonato. Con respecto al carbonato, no es posible una comparación debido a que utilizando EDS sólo se puede analizar la presencia de elementos y no de compuestos.

Sin embargo, la proporción tanto de carbonato como de componentes orgánicos que ha sido reportada en el esmalte es mínima y no podría explicar la cantidad de carbono encontrada en este estudio. El contenido de carbono en las muestras mostró un comportamiento congruente con la edad y riesgo a caries de los pacientes, y se obtuvieron resultados prácticamente iguales del contenido de carbono par las muestras de pacientes jóvenes de bajo riesgo, por lo que es difícil que la preparación de la muestra o el método de análisis hayan determinado estos valores.

El magnesio y carbonato son dos elementos menores pero importantemente asociados con las apatitas biológicas, en esmalte humano se ha observado que las concentraciones de estos dos elementos se incrementan de la superficie a la unión amelodentinaria. Además estos elementos han sido implicados en el proceso de caries debido a que son preferencialmente perdidos durante los estados iniciales de la lesión (75).

En este estudio el magnesio no mostró asociación con el riesgo a caries y la distribución de este elemento coincidió con lo reportado. Es decir, este elemento presentó mayor concentración en el interior del esmalte para las muestras de bajo riesgo y la muestra 4AR, que en otros análisis mostró también un comportamiento similar a las muestras de bajo riesgo, mientras que en las muestras de alto riesgo la mayor concentración se encontró en la parte media y no cerca de la unión amelodentinaia.

La dureza del esmalte

La prueba de dureza, con métodos de indentación cuidadosamente empleados, es un método confiable y relativamente fácil de usar y ha sido ampliamente difundido en estudios

esmalte dental. Arends (76) encuentra una relación lineal entre la profundidad de la lesión y la longitud de la indentación. Collys (67) al estudiar la confiabilidad de este método concluye que la microdureza de la superficie puede ser usada para investigaciones longitudinales tanto de superficies pulidas como de superficies grabadas. Herkströter (77) apoya el uso de microdureza en estudios longitudinales ya que establece que en el esmalte dental la impresión no es afectada por la relajación o contracción de ésta, y por lo tanto permanece constante días después de la prueba. Kashket (78) correlaciona la microdureza con los cambios físicos de la superficie de esmalte tratada con ácido. Habilite y col. (79) en un estudio de las propiedades mecánicas del esmalte a escala nanométrica, encuentra mayor dureza del prisma en sección transversal que en sección longitudinal

Los valores de dureza obtenidos en este estudio coinciden con el rango de valores reportado para el esmalte en la literatura, así mismo, la anisotropía identificada en el esmalte ha sido también reportada (79).

Las muestras de alto riesgo mostraron valores de dureza menores que los obtenidos para las muestras de bajo riesgo. La comparación por medio de análisis de varianza mostró diferencias estadísticamente significativas en todas las comparaciones, con excepción de la comparación de la muestra 1BR con la muestra 4AR.

Estos resultados muestran que la dureza del esmalte también se ve afectada, y puede ser considerada como un parámetro de variación en los estudios relacionados con grupos de alto riesgo.

El esmalte, como se mencionó antes, no es tomado como una variable lo que implícitamente supone condiciones de igualdad bajo cualquier situación. Esta situación afecta los resultados de investigaciones tanto de métodos preventivos como de factores relacionados a caries, cuando las observaciones se hacen sobre esmalte dental. Attin (80) en un estudio de abrasión del esmalte debida al cepillado, encuentra una correlación significativa entre la dureza inicial del esmalte y el grado de abrasión posterior. Así como la abrasión en este estudio cualquier otro factor estudiado puede ser modificado por las condiciones iniciales del esmalte, confundiendo los resultados de la asociación que se esté estudiando.

Síntesis.

Los resultados del estudio en todas las variables analizadas mostraron consistentemente que las muestras de los pacientes de alto riesgo presentaron diferencia al ser comparadas con las muestras de bajo riesgo. Las diferencias identificadas cuentan con plausibilidad biológica para suponer que pueden estar relacionadas con la mayor susceptibilidad a caries observada en los sujetos de alto riesgo. Las características del esmalte identificadas aquí, deberán ser apoyadas con trabajo experimental adicional para establecer el grado de asociación que por separado o en conjunto puedan tener con la condición de alto riesgo.

Es sin duda un paso importante, en el estudio de los determinantes de la condición de alto riesgo, establecer que existen diferencias en el esmalte que pueden tener un peso importante en el proceso de caries. Y un pequeño paso se ha dado en el estudio de los grupos de alto riesgo en el presente trabajo de tesis

CONCLUSIONES

Se identificaron diferencias en las características del esmalte en los sujetos de alto riesgo a caries con respecto a los de bajo riesgo. Estas diferencias permiten aceptar las hipótesis propuestas al inicio del trabajo.

1) En relación a la estructura del esmalte, por ser una variable cualitativa, no existe una prueba estadística que determine la aceptación o rechazo de la hipótesis. Sin embargo las diferencias encontradas fueron consistentes en los dos aspectos analizados, la superficie y la estructura interna del esmalte. Por otra parte, las características identificadas pueden tener una relación biológicamente plausible en el proceso de la enfermedad. Las diferencias en cuanto a la estructura del esmalte dental en sujetos de alto riesgo a caries son: a) La superficie dental es más porosa e irregular, b) los prismas presentan giros y flexiones que propician un mayor e irregular espacio entre ellos y tienen una apariencia desordenada.

2) En el análisis químico de los constituyentes del esmalte entre las muestras de alto y bajo riesgo, las comparaciones alcanzaron un nivel estadísticamente significativo. Los resultados fueron congruentes con la edad y riesgo de los pacientes, y los valores y componentes

Síntesis.

Los resultados del estudio en todas las variables analizadas mostraron consistentemente que las muestras de los pacientes de alto riesgo presentaron diferencia al ser comparadas con las muestras de bajo riesgo. Las diferencias identificadas cuentan con plausibilidad biológica para suponer que pueden estar relacionadas con la mayor susceptibilidad a caries observada en los sujetos de alto riesgo. Las características del esmalte identificadas aquí, deberán ser apoyadas con trabajo experimental adicional para establecer el grado de asociación que por separado o en conjunto puedan tener con la condición de alto riesgo.

Es sin duda un paso importante, en el estudio de los determinantes de la condición de alto riesgo, establecer que existen diferencias en el esmalte que pueden tener un peso importante en el proceso de caries. Y un pequeño paso se ha dado en el estudio de los grupos de alto riesgo en el presente trabajo de tesis

CONCLUSIONES

Se identificaron diferencias en las características del esmalte en los sujetos de alto riesgo a caries con respecto a los de bajo riesgo. Estas diferencias permiten aceptar las hipótesis propuestas al inicio del trabajo.

1) En relación a la estructura del esmalte, por ser una variable cualitativa, no existe una prueba estadística que determine la aceptación o rechazo de la hipótesis. Sin embargo las diferencias encontradas fueron consistentes en los dos aspectos analizados, la superficie y la estructura interna del esmalte. Por otra parte, las características identificadas pueden tener una relación biológicamente plausible en el proceso de la enfermedad. Las diferencias en cuanto a la estructura del esmalte dental en sujetos de alto riesgo a caries son: a) La superficie dental es más porosa e irregular, b) los prismas presentan giros y flexiones que propician un mayor e irregular espacio entre ellos y tienen una apariencia desordenada.

2) En el análisis químico de los constituyentes del esmalte entre las muestras de alto y bajo riesgo, las comparaciones alcanzaron un nivel estadísticamente significativo. Los resultados fueron congruentes con la edad y riesgo de los pacientes, y los valores y componentes

encontrados coinciden con los reportados en la literatura. Debido a que la composición del esmalte muestra tal complejidad que no permite establecer parámetros de normalidad, y, a que se conoce realmente poco sobre los componentes del esmalte que participan en el proceso de caries, no puede ser establecido si los hallazgos en cuanto a las diferencias en la composición química están relacionados con la mayor susceptibilidad a la enfermedad. Sin embargo, la homogeneidad de los valores encontrados en los grupos de jóvenes de bajo riesgo, permite suponer que las diferencias observadas al comparar los valores de los constituyentes del esmalte entre los grupos, pudieran estar relacionadas con las diferencias en el riesgo a caries. Por lo tanto, se acepta la hipótesis de que existen diferencias en la composición química de los pacientes de alto riesgo a caries.

3) La dureza es el resumen de otras propiedades mecánicas. Los valores encontrados en este estudio coinciden con el rango de valores de dureza reportados para el esmalte en la literatura. Dentro de este rango de valores, las muestras de alto riesgo presentaron los valores más bajos y las de bajo riesgo los valores más altos, las diferencias encontradas en este caso fueron estadísticamente significativas en todas las comparaciones. Debido a que la dureza se evaluó como una variable cuantitativa, el análisis estadístico permite aceptar la hipótesis propuesta.

REFERENCIAS

- 1.- Fejerskov O, Thylstrup A. Patología de la caries dental. En: Caries. Ed. Doyma 1988: 170 – 196.
- 2.- Mjör I A. Alternative surgical techniques in operative dentistry. Quintessence International 1998; 29: 600 – 602.
- 3.- Bowen WH. Wither or whither caries research? Caries Res 1999; 33: 1 – 3.
- 4.- Burt BA. Prevention policies in the light of the changed distribution of dental caries. Acta Odontol Scan 1998; 56: 179 – 186
- 5.- Brunelle JA, Carlos JP. Recent trends in dental caries in U.S. children and the effect of water fluoridation. J Dent Res 1990; 69 (Spec Iss): 723 – 727
- 6.- Graves RC, Abernathy JR, Disney JA. University o North Carolina caries risk assessment study III. Multiple factors in caries prevalence. J Public Health Dent 1991; 51:134 – 143.
- 7.- Fejerskov O. Concepts of dental caries and their consequences for understanding the disease. Community Dent Oral Epidemiol 1997; 25: 5 – 12.
- 8.- Fejerskov O. Strategies in the design of preventive programs. Adv Dent Res 1995; 9: 82 – 88.
- 9.- Manji F, Fejerskov O, Baelum V, Luan WM, Chen X. The epidemiological features of dental caries in african and chinese populatios: implications for risk assessment. In: Jhonson NW. The risk markers for oral diseases. Vol. I Dental Caries Markers of high and low risk groups and individuals. Cambridge: Cambridge University Press 1991; 62 – 99.

- 10.- Ismail AI, Burt BA and Brunelle JA. Prevalence of total tooth loss, dental caries and periodontal disease in mexican-american adults: Results from the southwestern HHANES. *J Dent Res* 1987; 66: 1183 – 1188.
- 11.- Clarkson BH. Caries prevention-fluoride. *Adv Dent Res* 1991; 5: 41 – 4.
- 12.- Irigoyen ME. Caries dental en escolares del Distrito Federal. *Salu Pública de México* 1997; 39 (2): 133 – 136.
- 13.- Irigoyen ME Szpunar SM: Dental caries status of 12-year-old students in the State of Mexico. *Community Dent Oral Epidemmiol* 1994; 22: 311 – 314.
- 14.- Gonzalez M, Cabrera R, Grossi SG, Franco F, Aguirre A. Prevalence of dental caries and gingivitis in a population of Mexican schoolchildren *Community Dent Oral Epidemiol* 1993; 21: 11 - 14
- 15.- Maupome G, Borges SA, Ledesma C, Herrera R, Leyva ER, Navarro A Prevalencia de caries en zonas rurales y periurbanas marginadas *Salud Pública de México* 1993; 35: 357 – 367.
- 16.- Villanueva R, Irigoyen ME, García S, Complean S. Distrubution of dental caries index in preschool Mexican children. *J Dent Res* 1993; 72 Abstracts 319.
- 17.- Gomez del Rio. Dental caries and mutans strptococci in selected groups of urban and native indian scholchildren in México. *Community Dent Oral Epidemiol* 1991; 19: 98 – 100.
- 18.- Escarza ME. Panorama de la caries dental en México. *Práctica Odontológica* 1989; 10(2): 42 – 43.

- 19.- Prudencio O. Estudio epidemiológico de la caries dental en la población escolar de la población de Tlahuac. Rev. Facultad de Odontología UNAM. 1985; 2(1): 9 – 15.
- 20.- Stamm JW, Dysney JA, Graves RC, Bohannon HM, Abernaty JR. The university of North Carolina risk assessment study I: Rationale and content. J Public Health Dent 1988; 48: 225 – 232.
- 21.- Koch G. Evidence for declining caries prevalence in Sweden. J Dent Res 1982; 61: (Spe Iss): 1340 – 1345.
- 22.- Gutiérrez Salazar MP. Validación de un indicador predictivo del riesgo de aparición de caries en dientes permanentes. Tesis, Maestría en Investigación en Salud Pública. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. México 1990.
- 23.- Holm AK. Diet and caries in high-risk groups in developed and developing countries. Caries Res 1990; 24(suppl): 44 – 52.
- 24.- Reich E, Lussi A and Newbrum E. Caries risk assessment. Int Dent J. 1999; 49: 15-26
- 25.- Hausen H. Caries prediction – state of the art. Community Dent Oral Epidemiol 1997; 25: 87 – 96.
- 26.- Gutiérrez S MP. y Morales R JJ. Validación de un indicador predictivo de riesgo de aparición de caries en dientes permanentes. Rev Méd Distr Fed Méx 1987; 4: 183-187.
- 27.- Gutiérrez MP and Morales R JJ. Caries in deciduous teeth as potential predictor of caries in permanent teeth. J Dent Res 1993; 72 (Abstr).
- 28.- Gutiérrez SMP and Díaz JA. Enamel defects and early loss of permanent teeth in children. J Dent Res 1997; 76: 430 (Abstr)

- 29.- Segovia A, Gutiérrez M, Estrella R, Vallejos A, Pérez S and Jiménez G. Prevalence and risk indicators for caries high risk subjects. *J Dent Res* 1999; 78: 248 (Abstr).
- 30.- Casanova A and Gutiérrez MP. Risk factors for early loss of first permanent molar in children. *J Dent Res* 1999; 76: 545 (Abstr).
- 31.- Casanova A, Casanova J, Gutiérrez P, Pérez S and Vallejos A. Dental caries and risk factors in urban Schoolars in Campeche, México. *J Dent Res* 2000; 79: 291 (Abstr).
- 32.- Pérez S, Casanova J, Casanova A, Gutiérrez P and Vallejos A. Predictive model for dental caries in schoolchildren. *J Dent Res* 2000; 79: 291 (Abstr).
- 33.- Gutiérrez SMP, Díaz JA. Programa de atención dental a bajo costo dirigido a poblaciones de alto riesgo. Informe de actividades. Centro de Desarrollo Comunitario Juan Diego. Chalco Estado de México. 1993.
- 34.- OMS: Metodología y programa de prevención de las enfermedades bucodentales. Serie de informes técnicos; Número 713. 1984
- 35.- Thylstrup A, Fejerskov O. Carilogía. En: *Caries*. Ediciones Doyma 1988. 1 – 4.
- 36.- Fischman SL. Emerging issues and future directions in remineralization. *J Clin Dent* 1999; 2: 55.
- 37.- Burt BA, Albino JE, Carlos JP, Cohen LK, Dubner R, Gershen JA and Greene JC. Advances in epidemiological study of oral-facial diseases. *Adv Dent Res* 1989; 3(1): 30 – 41.
- 38.- Burke FJI, Wilson NHF. When is caries caries, and what should we do about it. *Quintessence Intenational* 1998; 29: 668 - 672

- 39.- Disney JA. Description and preliminary results of caries risk assessment model. *Dental Ecology* 1990: 204 – 214.
- 40.- Risk Assessment in Dentistry. Proceedings of a conference June 2 – 3, 1989 Chapel Hill, North Carolina. Bader JD, ed. *Dental Ecology* 1990.
- 41.- Keyes PH. Recent advances in dental caries bacteriological findings and biological implications. *Int Dent J* 1962; 12: 443 – 464.
- 42.- Kingman A. Statistical issues in risk models for caries. *Dental Ecology* 1990: 193 – 2000.
- 43.- Pearse EIF. Salivary inorganic and physical factors in the etiology of dental caries, and their role in caries prediction. In: N.W. Johnson (Ed). *Risk Markers for Oral Diseases. Vol. 1. Dental Caries. Markers of high and low risk groups and individuals.* Cambridge University Press. Cambridge 1991; pp. 358 – 381.
- 44.- Van Hout J. Role micro-organisms in caries etiology. *J Dent Res* 1993;2: 87 – 96.
- 45.- Sullivan A, Granath L, Widelnheim J. Correlation between child caries incidence and S.Mutans/lactobacilli in saliva after correction for counfounding factors. *Community Dent Oral Epidemiol* 1989; 17: 240 – 244.
- 46.- LeGeros R. Biologically relevant calcium phosphates. In: *Calcium phosphates in oral biology and medicine. Monographs in Oral Science.* Haward M. Myers Ed. 1991: Cap. 2; 4 – 44.
- 47.- Eriksen HM and Bjertness. Concepts of health and disease in caries prediction: a literature review. *Scand J Dent Res* 1991; 99: 476 – 483.
- 48.- Davis WL. Oral histology . Chap 7 Enamel. 93 – 112.

- 49.- Reyes-Gasga J, Gloria MJ, Gonzalez AM, Madrigal A. La microscopia electrónica y el esmalte dental humano. *Ciencia y Desarrollo* 1995; 125: 30 – 43.
- 50.- LeGeros R. Calcium phosphates in enamel, dentin and bone. In: *Calcium phosphates in oral biology and medicine. Monographs in Oral Science.* Howard M. Myers Ed. 1991: Cap. 6 108 – 129.
- 51.- Sonju AB, Ruyter IE. Quantitative determinations of type A and type B carbonate in human deciduous and permanent enamel by mean of Fournier transformation infrared spectroscopy. *Adv Dent Res* 1997; 11: 523 - 527
- 52.- Weatherell JA, Robinson C, Hiler CR. Distribution of carbonate in thin sections of dental enamel. *Caries Res* 1968; 2: 1 – 9.
- 53.- Elliot JC, Holcomb DW, Young RA. Infrared determination of the degree of substitution of hydroxyl by carbonate ions in human dental enamel. *Calcif Tissue Int* 1985; 37: 372 – 375.
- 54.- Sydney-Zax M, Mayer I, Deutsch D. Carbonate content in developing human and bovine enamel. *J Dent Res* 1991; 70: 913 – 916
- 55.- Ferjeskov O, Clarkson BH. Dynamics of caries lesion formation. In: *Fluoride in dentistry.* Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA, editors. Copenhagen: Munksgaard; 1996 pp 187 – 229.
- 56.- Robinson C, Weatherell JA and Hallsworth AS. Distribution of magnesium in mature human enamel. *Caries Res* 1981; 15: 70 – 77.
- 57.-Hallsworth AS, Robinson C and Weatherell JA. Mineral and magnesium distribution within the approximal carious lesion of dental enamel. *Caries Res* 1972; 6: 156 – 168.

- 58.- Kraus BS, Jordan RE, Abrams L. Histología de los dientes y sus estructuras de recubrimiento. En: Anatomía dental y oclusión Ed. Interamericana México 1972; 133 -. 158.
- 59.- Yacaman MJ, Reyes-Gasga J. Microscopía electrónica. Una visión del microcosmos. Ed. Fondo de Cultura Económica. México 1995.
- 60.- Goldstein JI, Newbury DE, Chelín P, Joy DC, Fiori C, Lifshin E. Image formation in the scanning electron microscope. In: Scanning Electrón Microscopy and X-Ray Microanálisis. Plenum Press. New York 1984: 123 - 204
- 61.- Pruebas para propiedades mecánicas. En Introducción a la metalurgia física Cap. 1 Las herramientas del metalurgista 38 – 54.
- 62.- Boyer HE. Vickers Hardness testing. In: Hardness testing. Imp metals Editors. 1987; Chap 4: 57 – 87.
- 63.- Westbrook JH and Conrad H. The fundamental basis of the hardness test. In: The science of hardness testing and its applications. Imp Metals Ed. 1973; Section I : 1 – 3.
- 64.- McColm IJ. Introduction and overview. In Ceramic Hardness. Ed. Plenum Press, New York 1990 pp 1 - 30.
- 65.- Ryge G, Foley DE and Fairhurst CW. Micro-indentation hardness. J Dent Res. 1961; 40: 1116 – 1126.
- 66.- Craig RG and Peyton FA. The microhadness of enamel and dentin. J Dent Res. 1958; 37: 661 – 668.

67.- Collys K, Slop D, Cleymaet R, Coomans D, Michotte Y. Load dependency and reliability of microhardness measurements on acid-etched enamel surfaces. *Dent Mater* 1992; 8: 332 – 335.

68.- Thylstrup A. When is caries caries, and what should we do about it. *Quintessence International* 1998; 29: 594 – 598.

69.- Nyvad B. and Fejerskov O. Scanning electron microscopy of early microbial colonization of human enamel and root surfaces in vivo. *Scand J Dent Res* 1987; 95: 287 – 296.

70.- Quirynem M. and Bollen CML. The influence of surface roughness and surface-free energy on supra and subgingival plaque formation in man. A review of the literature. *J Clin Periodontol* 1995; 22: 1 – 14.

71.- Zee KY, Samaranayake LP and Attström. Scanning electron microscopy of microbial colonization of rapid and slow dental plaque formes in vivo. *Arch oral Biol* 1997; 42: 735 – 742.

72.- Suckling GW, Nelson DAG and Patel MJ. Macroscopic and scanning electron microscopic appearance and hardness values of developmental defects in human permanent tooth enamel. *Adv Dent Res* 1989; 3: 219 – 233.

73.- Thylstrup A and Fejerskov O. Clinical appearance of dental fluorosis in permanent teeth in relation to histologic changes. *Community Dent Oral Epidemiol* 1978; 6: 315 – 328.

74.- König KG. Dental morphology in relation to caries resistance with special reference to fissures as susceptible areas. *J Dent Res* 1963; 42: 461 – 476.

75.-LeGeros RZ, Sakae T, Bautista C, Retino M, Legeros JP. Magnesium and carbonate in enamel and sintetic apatites. *Adv Dent Res* 1996; 10: 225 – 231.

76.- Arends J and Schuthof J. Effect of fluoride on fluoridation on lesion depth and microharness indentations of artificial white spot lesions. *Caries Res* 1981; 15: 176 – 178.

77.- Herkströter FM, Witjes M, Ruben J, Arends J. Time dependency of microhardness indentations in human and bovine dentine compared with human enamel. *Caries Res* 1989; 23: 342 – 344.

78.- Kashket S, Ahern JM. Correlation between physical changes in tooth enamel and changes in iodine penetrability following in vitro or in taoral demineralization. *Caries Res* 1989; 23: 232 – 237.

79.- Habelitz S, Marshall SJ, Marshall GW, Balooch M. Mechanical properties of human dental enamel on the nanometre scale. *Arch oral Biol* 200; 46: 173 – 186.

80.- Attin I, Koidl U, Buchalla W, Schaller HG, Kielbassa AM and Hellwig E. Correlation of microhardness and wear in differently eroded bovine dental enamel. *Arch Oral Biol* 1997; 42: 243 – 250.

81.- Vallejos SAA, Pérez OS, Casanova RA, Gutiérrez SMP. Prevalencia, severidad de fluorosis y caries dental en una población escolar de seis a 12 años de edad en la Ciudad de Campeche, 1997 – 98. *Rev ADM* 1998; 6: 266 - 271

Anexo 1

Resumen curricular del trabajo de investigación sobre
“Alto riesgo a caries dental”

María del Pilar Gutiérrez Salazar.

Resumen Curricular.

El trabajo de investigación se inició en el mes de septiembre de 1998. Los primeros productos de difusión de la investigación, fueron los resultados del estudio piloto que se llevó a cabo para la estandarización del método de dureza. Estos resultados fueron publicados en forma de resumen, en las memorias de los congresos en los que fueron presentados, tanto a nivel internacional (1-4) como nacional (5).

Con los resultados del estudio de tesis se han producido, a la fecha, dos artículos. El primero, “Microhardness of human tooth ” (6) enviado a la revista Journal of Material Science en julio de 2001 se encuentra en revisión. El segundo “Enamel hardness and caries susceptibility in human teeth”. (7) Publicado en la Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales 2001.

El estudio de investigación propuesto como trabajo de esta tesis de doctorado representa la continuidad de una línea de investigación que he venido desarrollando por aproximadamente veinte años. En 1982, el estudio del proceso de caries en escolares por varios años, permitió la propuesta de la inclusión de criterios cualitativos en el registro de la experiencia de caries, que permitieran mostrar la diferente distribución de ésta en la población. En 1985 en el estado de Morelos realice el primer estudio sistematizado con el objetivo de validar los criterios cualitativos propuestos, y mostrar su utilidad en la identificación de población de “alto riesgo a caries” en escolares. Los resultados de este estudio fueron publicados posteriormente (8) y esta

publicación recibió en 1988 el premio anual de investigación “Lorenzo Uribe” otorgado por la Fundación Mexicana para la Salud. Posteriormente la tesis para obtener el grado Maestría en Investigación en Salud Pública de la UAM (9), fue un estudio sobre caries dental en 4,410 escolares de 6 a 9 años de edad en la Cd. de México, en este estudio la población fue clasificada en grupos de riesgo a caries, basándose en la metodología que yo había desarrollado y validado en el estudio anterior.

En 1991, con el objetivo de evaluar la capacidad predictiva, de la clasificación de riesgo propuesta en el estudio de maestría, se analizó la experiencia de caries en 1892 niños de la línea base del estudio de la Cd. de México, encontrándose resultados más que satisfactorios en cuanto a la capacidad de la clasificación propuesta, ya que en el periodo de tres años los niños de alto riesgo presentaron 3.19 más dientes afectados que los de bajo riesgo y las lesiones severas de caries fueron hasta 9.5 veces más frecuentes para los niños de alto riesgo (10).

En 1993, en colaboración con personas dedicadas al trabajo comunitario, desarrollamos un “Programa de atención dental a bajo costo dirigido a población de alto riesgo a caries”. Este proyecto, cuyo objetivo era alcanzar la autosuficiencia económica en la atención dental, por medio de cuotas de recuperación con un costo mínimo para la población, se realizó en el Valle de Chalco, Edo. de México y fue financiado por la Fundación Caritas. El trabajo clínico con la población de alto riesgo permitió la observación de características especiales en la constitución del tejido dental de estos niños, como la menor resistencia del tejido al corte con la fresa dental, la difusión de la lesión cariosa en el tejido y el comportamiento del esmalte al gravado ácido. Por otra parte, el estudio de caries en 3702 escolares del área de influencia del programa permitió la identificación de otros factores que actúan en forma

sinérgica con el proceso de caries y ocasionan la pérdida temprana de órganos dentales (11). Estos factores están relacionados con alteraciones en el desarrollo del esmalte dental, y constituyen un importante factor confusor en la evaluación del riesgo a caries de las personas.

De 1996 a 1999 colaboré como profesor en la Maestría en Ciencias Odontológicas con énfasis en Epidemiología, impartida por la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Campeche. Esta colaboración incluyó la dirección de cinco tesis, que abordaron diferentes aspectos del estudio de los determinantes de la condición de alto riesgo a caries a nivel epidemiológico, estos fueron: patrones de desarrollo de caries en preescolares (12), patrones familiares de caries dental (13), alteraciones de desarrollo del esmalte y su relación con grupos de alto riesgo (15), caries y fluorosis dental (14). Los resultados de estos trabajos han sido presentados en el congreso internacional de investigación en odontología (IADR), (17-22).

El trabajo de tesis doctoral es mi primera investigación a nivel básico, del estudio de los determinantes de la mayor susceptibilidad a caries que se observa en la población de alto riesgo, la introducción en los métodos de investigación básica fue posible gracias a la dirección y apoyo del Dr. José Reyes Gasga quien ha desarrollado estudios sobre esmalte dental por más de diez años. Los resultados obtenidos en el presente trabajo constituyen un importante avance, sobre todo metodológico, en el estudio de los determinantes de la condición de alto riesgo a caries y permiten el planteamiento de nuevas hipótesis de trabajo para continuar con el estudio de este problema.

- 1.- "Microhardness measurement in human tooth enamel". **M.P. Gutiérrez-Salazar** and J. Reyes Gasga. 1999 MRS Fall Meeting, Boston Massachusetts, USA. November 29 to December 3, 1999, DD5.9, Pag.545.
- 2.- "Vickers diamond in enamel hardness study. **Gutiérrez SMP** and Reyes GJ. 78th General Session of the International Association for Dental Research J Dent Res 2000; 79: 564 (Abst. 3367).
- 3.- "Enamel hardness and caries susceptibility in human tooth" **M.P. Gutiérrez-Salazar** and J. Reyes-Gasga. Proceedings of the IV Interamerican Congress on Electron Microscopy. Veracruz, Veracruz, México. Octubre 7 – 11, 2001. Revista "Acta Microscópica" Vol. Octubre 2001. Pag 357.
- 4.- "Study of human enamel hardness" **M.P. Gutiérrez-Salazar** and J. Reyes Gasga. Proceedings of the VII International Congress on Advanced Materials (VII-ICAM). Cancún Quintana Roo, México. Agosto 26 a 30, 2001 pag. 72.
- 5.- "Nuevos avances en el estudio por microscopía electrónica de la hidroxiapatita del esmalte dental humano" **M.P. Gutiérrez**, E. Sánchez Pastenes, R. García y J. Reyes Gasga. Simposio Materia 2001. Instituto de investigaciones en materiales. Cd. de México Octubre 22 a 26 del 2001.
- 6.- "Microhardness of human tooth". Reyes-Ggasga J and **Gutiérrez-Salazar MP**. J of material science. Julio 20 2001
- 7.- "Enamel hardness and caries susceptibility in human teeth". **Gutiérrez-Salazar MP** and Reyes-Gasga J. Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales 2001; 21:36 - 40.
- 8.- **Gutiérrez S MP**. y Morales R JJ. Validación de un indicador predictivo de riesgo de aparición de caries en dientes permanentes. Rev Méd Distr Fed Méx 1987; 4: 183-187.
- 9.- **Gutiérrez MP** and Morales R JJ. Caries in deciduous teeth as potential predictor of caries in permanent teeth. J Dent Res 1993: 72 (Abstr).

10.- **Gutiérrez Salazar M.P.** Validación de un indicador predictivo del riesgo de aparición de caries en dientes permanentes. Tesis, Maestría en Investigación en Salud Pública. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. México 1990.

11.- **Gutiérrez SMP** and Díaz JA. Enamel defects and early loss of permanent teeth in children. J Dent Res 1997; 76: 430 (Abstr)

12.- Segovia Villanueva América del Rosario. Identificación de sujetos de alto riesgo e indicadores predictivos para caries dental en una población preescolar bajo responsabilidad de IMSS en Campeche, México. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Campeche, Marzo de 1999.

13.- Pérez Olivares Saydé Adelina. Modelo predictivo para caries dental en escolares de Seybaplaya Campeche. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Campeche, 1998.

14.- Vallejos Sánchez Ana Alicia. Prevalencia, severidad e indicadores de riesgo para fluorosis dental en escolares de seis a 12 años de edad en la ciudad de Campeche. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Campeche, 1998.

15.- Casanova Rosado Alejandro José. Prevalencia e indicadores de riesgo para la pérdida temprana del primer molar permanente en niños de 6 a 13 años de edad, en población escolar bajo el área de influencia del Centro de Salud Morelos de la Jurisdicción Sanitaria No. 1 de la Ciudad de Campeche, México en 1997. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Campeche, 1998.

16.- Vallejos SAA, Pérez OS, Casanova RA, **Gutiérrez SMP**. Prevalencia, severidad de fluorosis y caries dental en una población escolar de seis a 12 años de edad en la Ciudad de Campeche, 1997 – 98. Rev ADM 1998; 6: 266 – 271

17.- Segovia A, **Gutiérrez M**, Estrella R, Vallejos A, Pérez S and Jiménez G. Prevalence and risk indicators for caries high risk subjects. J Dent Res 1999; 78: 248 (Abstr. 1139).

18.- Casanova A and **Gutiérrez MP**. Risk factors for early loss of first permanent molar in children. J Dent Res 1999; 78: 545 (Abstr. 3519).

19.- Vallejos A, Pérez S, Gutiérrez P, Jiménez G. Risk indicators for dental fluorosis in children in Campeche México. J Dent Res 1999; 78: 165 (Abstr. 478)

20.- Jiménez G, Jiménez G, Herrera L, Zazueta M, Baroni L, **Gutiérrez MP**. Prevalence of severe caries and risk indicators. J Dent Res 1999; 78: 249 (Abstr. 1146).

21.- Casanova A, Casanova J, **Gutiérrez P**, Pérez S and Vallejos A. Dental caries and risk factors in urban Schoolars in Campeche, México. J Dent Res 2000; 79: 291 (Abstr.1177)

22.- Pérez S, Casanova J, Casanova A, **Gutiérrez P** and Vallejos A. Predictive model for dental caries in schoolchildren. J Dent Res 2000; 79: 291 (Abstr. 1178)

ENAMEL HARDNESS AND CARIES SUSCEPTIBILITY IN HUMAN TEETH

M. P. Gutiérrez-Salazar¹ and J. Reyes-Gasga²

1. Facultad de Odontología, UNAM Circuito de la Investigación Científica s/n

Cd Universitaria, 04510 Coyoacán, México

2. Instituto de Física, UNAM Apartado Postal 20-364, 01000 México D.F., México

Abstract.

This paper presents a comparative study of enamel hardness in teeth of human beings with different susceptibility to caries disease. Six orthodontic patients were classified as high or low caries risk, on the basis of caries experience. Then by taking transversal ground sections of premolar from classified patients hardness measurements were made. The hardness values found for sound enamel VHN 268 – 375 are in agreement with published data. The lower hardness values corresponded to high caries risk patients. The mean of VHN between the high and low caries risk groups differ significantly. The differences found in this study show a relationship of hardness enamel with high susceptibility to caries disease.

Keywords: Enamel, microhardness, caries susceptibility

Resumen.

Se presentan los resultados de un estudio comparativo sobre la dureza del esmalte entre sujetos con diferente susceptibilidad a la caries dental. Se emplearon seis premolares, extraídos por razones ortodóncicas, de pacientes clasificados como de alto o bajo riesgo, en base a la experiencia de caries que presentaron. Las mediciones de dureza se hicieron sobre cortes transversales pulidos. Los valores de dureza Vickers para esmalte sano, obtenidos en este estudio, concuerdan con otros reportados en la literatura. Los sujetos clasificados como de alto riesgo a la caries presentaron los valores de dureza más bajos, comparados con los sujetos de bajo riesgo. Las diferencias en los valores de dureza fueron altamente significativas. Los resultados muestran una asociación de la dureza del esmalte con la mayor susceptibilidad a caries.

Palabras Clave: Enamel, microdureza, susceptibilidad a las caries.

1. Introduction.

Knowledge of the mechanical properties of dental tissue is important to understand how mastication strain is distributed throughout a tooth, and for predicting how stress and strain are altered by dental restorative procedures, age and mainly by caries disease.

Between the mechanical properties the hardness of enamel is the most widely studied and has greater theoretical support. The enamel hardness values have been reported either by Knoop hardness number (KHN) or Vicker hardness number (VHN), depending on the method used. However, the values obtained with both methods showed no important differences, according to Rige's study [1]. In Craig's study [2] enamel hardness values were KHN 292 – 390. Collis [3] reported a value of KHN 354.9, Stephen [4] found a value KHN 271. Graspersic [5], in occlusal enamel, found VHN

359.5 – 424.3. Ryge [11] VHN 254 – 348. Reyes-Gasga [6] reported a range of VHN 254 – 383.

Microhardness indentation provides a relatively simple, nondestructive and rapid method for classification of materials and for comparative studies of their properties. However, the measurement can be affected by different factors. The large standard deviations in hardness value reported in early studies [2] show that very different values can be obtained in distinct sections of a tooth. In a recent enamel hardness study [6] it was found that factors as sample preparation, indenter position, and reading error in indentation length can influence the hardness measurements. Then it is important to control these factors to obtain reliably measurements. Other important factor is the selection of the area for hardness test. According to literature [6] in transversal

sections well shaped indentations are obtained more easily than along the length sections

In dental research, microhardness indentation measurements have been employed in the study of remineralization phenomena [4]. Featherstone [8] reported a relationship of enamel hardness values with mineral content of the tissue in a weight basis. More recently, Attin [9] found a significant correlation between initial enamel hardness and abrasion degree. Moreover, the hardness can influence the caries susceptibility because of the exposition of enamel to environmental oral factors.

Caries is a multifactorial disease and enamel represents an important factor in the caries risk condition.

Dental caries is a dynamic de-or remineralizing process resulting from microbial metabolism on the tooth surface which may result in a net loss of minerals, and subsequently cavitation [10]. The probability to reach cavitation level in lesions is variable for people, then low and high caries can be observed in the population. The high caries risk persons show a very fast process.

In this study we investigate the enamel hardness in teeth of human beings with different susceptibility to caries disease. The indentation lengths were measured on SEM images for least error in measurements.

Table 1. Caries experience in a sample of patients.

Patient	Age	Caries Experience				Risk qualification
		Decay	Missing	Filled	DMFT	
1 MR	13	0	0	0	0	Low susceptible
2 DS	13	0	0	0	0	Low susceptible
3 MM	14	3	0	6	9	High susceptible
4 LP	14	12	0	0	12	High susceptible
5 DC	24	0	0	8	8	Low susceptible
6 BB	24	0	3	8	11	High susceptible

2. Method

The study selected six premolars extracted from six orthodontic patients who had been chosen on the basis of their caries experience as low or high caries forming. Four of the patients were 13–14 and two 24 years old. Caries experience was recorded and the magnitude of caries lesion was measured according to known criteria [11].

Premolars in younger patients of both groups presented no caries lesions. The teeth from adults patients in low and high caries risk groups were filled, but the hardness tests were made in healthy enamel on a transversal section of the buccal cusp.

The premolars were embedded in acrylic resin, then were sectioned parallel to the occlusal surface. The first cut just below the buccal cusp was used for hardness tests. On transversal ground sections from each tooth fifteen hardness measurements were made. A Matuzawa microhardness tester

MHT2 with a Vickers diamond at a load of 25 g, for 15 s, was used. The indentation was observed and analyzed using both a light microscope (LM) and scanning electron microscope (SEM). The criteria for accepting a correct indentation were sharpness of diagonal edges, uniformity of diagonal shape (geometry) and freedom of interference from irregularities in the testing area [1]. The indentations were never closer to the edges of the specimen or to another indentation of less than two times the length of the diagonal. The measurements were done only by one observer. The reliability in reading indentation length was $\kappa = 0.90$. Then indentation length (IL) and Vickers hardness number (VHN) were obtained.

The statistical analysis was done using the SPSS statistical program. One way analysis of variance ANOVA and Scheffe post hoc test were employed to test the

165

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

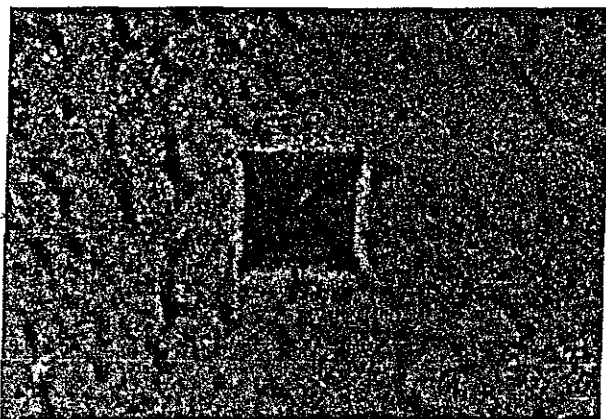


Fig 1 Well-shaped indentation on transversal section

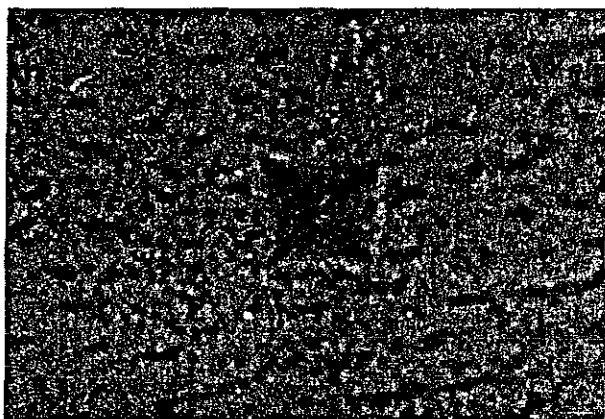


Fig 2. Indentation with irregular diagonal.

The structural features of tested surface were observed by SEM. Phosphoric acid was used during 60 seconds in order to develop the prism structure.

The chemical composition of enamel was analysed for patients 1 and 4, using the EDS method

3. Results

In this study only well-shaped indentations were considered and special attention was given to sample preparation and reading error of the indentation length. Figure 1 shows a well-shaped indentation. Because of the structural features of the enamel tissue, no well-shaped indentations can be obtained. A no well-shaped indentation is showed in Figure 2. The indentation can be easily observed by SEM and immediately accepted or rejected according with the shape they showed

Caries experience of selected patients is presented in table 1. Younger patients classified as low risk (patients 1, 2) do not show clinically carious lesions. The adult patient (patient 5) presented eight filled teeth, with no teeth loss or bigger fills. The fills only covered occlusal groove, because the caries lesions presented before the dental treatment must not have been extensive. Figure 3 shows the longitudinal section of tooth from this patient, the fill includes only enamel tissue. This patient did not have fast caries process. The oral condition is very different for the adult patient in the high caries risk group. She had loss the three first molars and had eight filled teeth.

The younger patients in this group (patients 3, 4) presented 9 and 12 affected teeth. For patient 3, three decayed teeth and six teeth were filled, in two of these, the fill covered two thirds of the crown. Patient 4 presented 12 decayed teeth; all these affecting enamel and dentin, and four with extended lesions.

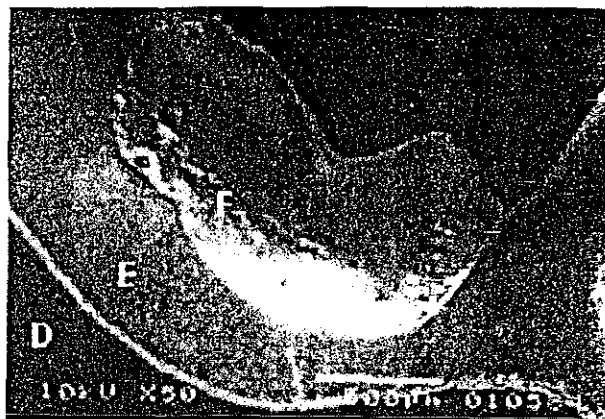


Fig. 3. SEM image of longitudinal section of tooth from patient 5. The fill include only enamel tissue. D dentin, E enamel, F fill

Table 2 presents the results of the hardness tests for six samples from patients. The mean and standard deviation for both indentation length and Vickers hardness number are indicated. The lower hardness values were for high caries risk patients, the mean of VHN between the groups differing significantly ($p < .0001$).

The hardness is a very sensitive scale. In table 2 for values of IL the standard deviations are $< 1\mu$ and these are in the hardness value up to 34 units. The difference of IL for patients 1 and 5 is 0.80μ , (11.93 - 11.13), and for hardness values the difference is so great (VHN 375.93 and 327.20 respectively) that it reaches statistic significance ($p < 0.1$).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Table 2 Hardness Enamel Values Indentation Length (IL) and Vickers Hardness Number (VHN) for the patient's samples studied

Patient	Mean IL (SD)	Mean VHN (SD)
1MR	11.93 (0.56)	327.20 (29.77)
2DS	11.97 (0.40)	324.67 (21.24)
3MM	12.83 (0.72)	283.07 (33.09)
4LP	13.03 (0.35)	273.27 (15.07)
5DC	11.13 (0.52)	375.93 (34.36)
6BB	13.18 (0.70)	268.07 (27.64)

Table 3 shows the homogeneous subset identified by the post hoc Scheffe test. The mean average for the three high caries risk patients is VHN 269.07, 273.27 and 285.40 and they do not differ significantly. On the other hand, the hardness values in the adult patient (patient 5) for the low risk group was specially high (VHN 375.93). It was significantly different than the hardness values for younger patients of the same group: VHN 324.67 and 327.20 respectively.

Table 3 Homogeneous subset for Vickers Hardness Values

Patient	Subset for alpha = .05		
	1	2	3
6	269.07		
4	273.27		
3	285.40		
2		324.67	
1		327.20	
5			375.20
Sig.	.762	1.00	1.00

Scheffe test

The SEM study of the structure of specimens surface showed differences in the demineralising patterns. The teeth from low risk patients presented preferential etching of the prism boundary while the specimens from high risk showed preferential etching of the prism core. The figures 4 and 5 show the pattern for low and high risk respectively.

The EDS analysis was done in patient 1 and 4, the chemical composition shows differences mainly in the sodium and magnesium content. The figure 6 present the values for these elements from enamel surface to amelo dentinal junction (ADJ).



Fig 4 Prisms pattern in low caries risk patient.



Fig 5 SEM image of prisms pattern in high caries risk patients

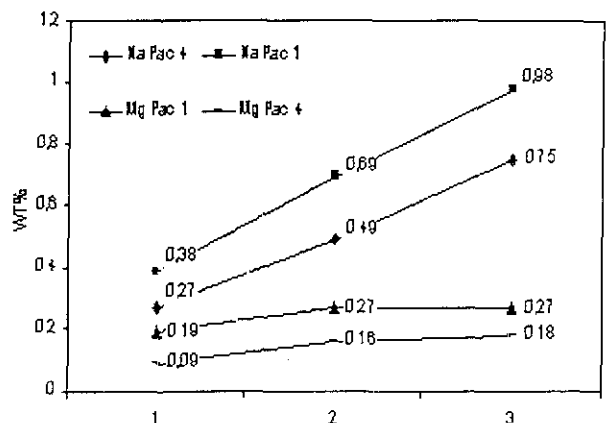


Fig 6 Mean distribution of sodium and magnesium from enamel outer surface (1) to ADJ (3) in samples from patients 1 y 4

167

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

4. Discussion

The hardness values found for sound enamel VHN 268 – 375, are in agreement with earlier published data [1 – 6]. Because the special features of the hardness scale, careful use of measurements, is necessary. So in this way reliable hardness values were obtained and differences in hardness value reflect differences in the properties being studied.

In the younger patients, the comparison was made in sound, no filled teeth for high and low caries risk categories. The age of these patients were similar while the differences in their oral condition must be attributed to faster caries process in the high risk group. The results of this study showed consistently higher hardness values for low risk patients, classified on base of caries experience. The hardness values for these patients were significantly higher than those for high caries risk group (Table 2).

Hardness is a property of enamel that can influence caries susceptibility because the enamel is exposed to different factors.

Attin [9] used bovine enamel and found a significant correlation, within all experimental groups, between initial hardness and abrasion degree. He concluded that susceptibility of eroded enamel to toothbrushing abrasion may depend on the hardness of the enamel of the particular specimen, because abrasion increases with decreasing hardness value.

The main feature found in the high caries risk individuals is the faster process of caries lesions, and that many factors are involved in this more susceptible condition. A number of results on salivary, microbiological and behavioral factors have been obtained but less information on enamel properties regarding high caries risk condition was found.

The different reactions of the core prism and prism boundary to acid treatment, found in this study, favor the view that dissimilar physical and/or chemical properties can be present that affect the hardness value.

The differences in chemical composition may be also important factors. It is important that the distribution of sodium and magnesium were similar for both patients, but the values for these elements, were different for low and high caries risk patients.

Among the patients selected on the basis of caries experience, the more susceptible individuals showed consistently significantly lower hardness values (Table 2). The selection of homogeneous subset (Table 3) shows the relationship of hardness enamel with caries experience. The differences found in this study show an association of low enamel hardness with high susceptibility to caries disease.

The differences in hardness of enamel can be associated to the mineral content in enamel [8, 12, 13]. Kodaka [7] found that small amounts of organic substances at sites of similar mineral content can have a strong influence on the microhardness values. Then, the presence of organic sub-

stances is another possible factor.

More studies are necessary to know exactly the factors that determine the differences in enamel hardness.

Acknowledgements.

We acknowledge the technical help from R. Trejo, J. Cañetas, R. Hernández, P. Mexia, C. Flores, M. Aguilar, C. Zorrilla, S. Tehuacanero, L. Rendón. We thank the economical support from CONACYT (Project 31695-N) and DGAPAUNAM (Project IN-103700).

References

1. G. Ryge, D. E. Foley and C. W. Faorhurst. Micro-indentation hardness. *J Dent Res*, 40, (1961) 1116 – 1126.
2. R. G. Craig and F. A. Peyton. The microhardness of enamel and dentin. *J Dent Res*, 37, (1958) 661 – 668.
3. K. Collys, D. Slop, R. Cleymaet, D. Coomans, Y. Michotte. Load dependency and reliability of microhardness measurement on acid-etched enamel surfaces. *Dent Mater* 8, (1992) 332 – 335.
4. H. Stephen, Y. Wei and T. Kuolorides. Electron microprobe and microhardness studies of enamel remineralization. *J Dent Res*, 51, (1972) 648 – 651.
5. D. Gaspersic. Enamel microhardness and histological features of composite enamel pearls of different size. *J Oral Pathol Med*, 24 (1995) 153 – 8.
6. J. Reyes-Gasga and M. P. Gutiérrez-Salzar. Microhardness of human tooth. Submitted to *Journal of Materials Science* (2001).
7. T. Kodaka, K. Debari, M. Yamada and M. Kuroiwa. Correlation between microhardness and mineral content in sound human enamel. *Caries Res*, 26 (1992) 139 – 141.
8. Featherstone JDB, ten Cate JM, Shariati M, Arends J. Composition of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Res*, 17 (1983) 385 – 391.
9. T. Attin, U. Koidl, W. Buchalla, H. G. Shaller, A. M. Kielbassa and E. Hellwig. Correlation of microhardness and wear in differently eroded bovine dental enamel. *Arch Oral Biol*, 42, (1997) 243 – 250.
10. O. Fejerskov. Concepts of dental caries and their consequences for understanding the disease. *Community Dent Oral Epidemiol*, 25, (1997) 5 – 12.
11. Gutiérrez SMP, Morales RJJ. Validación de un indicador predictivo de riesgo de aparición de caries en dientes permanentes. *Rev Med Distr Fed Méx*, 4, (1987) 183 – 187.
12. CL. Davidson, IS. Hoekstra and J. Arends. Microhardness of sound, decalcified and etched tooth enamel related to calcium content. *Caries Res*, 8, (1974) 135 – 144.
13. T. Kodaska, K. Debari. Structure, microhardness and calcification values of enamel tufts in human teeth. *Bull Tokyo Dent Coll*, 23, (1982) 227 – 238.

Anexo 2

Artículo: "Enamel hardness and caries susceptibility in human teeth".
Gutiérrez-Salazar MP and Reyes-Gasga J. Revista Latinoamericana de
Metalurgia y Materiales 2001; 21:36 - 40.

Artículo: "Microhardness of human tooth". Reyes-Ggasga J and **Gutiérrez-Salazar MP**. J of material science. Julio 20 2001

Introduction

Enamel, dentin, and pulp of human tooth are exposed to a different point-to-point pressure during mastication. Therefore, the study and analysis of their hardness is very important for understanding how masticatory strains are distributed throughout the tooth, and for predicting how stresses and strains are altered by dental restorative procedures, age and disease. Moreover, the hardness values can be related to other mechanical properties, such as Young's modulus and yield stress [1-2]. Because the structures that enamel and dentin present, prisms running from the enamel-dentin junction (EDJ) to the surface in the case of enamel and a heterogeneous composite material in the case of dentin, it is easy to imagine that their hardness are different, even from one site to other inside enamel and dentin themselves; and that this hardness would be chemically dependent.

Tooth enamel is the most mineralized tissue of the human body. Its composition is 96% inorganic material and 4% organic material and water. In dentin, the inorganic material represents 70%. The inorganic material, both in enamel and dentin, is mainly composed by a calcium phosphate related to hydroxyapatite, whose chemical formula is $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ [3].

Enamel prisms have a main transversal size of approximately 3 to 5 μm in diameter; and these prisms are formed of many small crystals [4]. The hydroxyapatite related crystals are elongated along the longitudinal section (the longitudinal section is a plane that cut the tooth in such away that contains the whole dentin, enamel and EDJ in the view, the transverse section is a plane that is perpendicular to the longitudinal section). For mature enamel the crystallite size, measured in transmission electron microscope (TEM) bright field images, was 50 nm approximately in diameter in transversal section and 600 nm (in some cases, 800 nm) in longitudinal section [4]. High-resolution TEM (HREM) images of enamel have shown the existence of an amorphous structure among the grains, surely remnant of organic material [4].

Dentin can be considered as a heterogeneous composite material that contains tubules of micrometers diameter surrounded by highly mineralized (around 95% mineral phase) peritubular dentin embedded within a partially mineralized (around 30% mineral phase) collagen matrix (intertubular dentin) [3]. The tubules run continuously between the enamel and the pulp, and vary in density from about 15,000/ mm^2 at the dentin-enamel interface (outer dentin) to 65,000/ mm^2 at the dentin-pulp interface (inner dentin) [6, 7].

Spectra of the x-ray energy dispersive spectroscopy (EDS) analysis of enamel and dentin showed the main components of the hydroxyapatite, excepting hydrogen [4]. From these studies it was also possible to analyze the presence of other elements in small quantities such as Na, Cl and Mg. X-ray diffractogram and electron diffraction analysis of enamel and dentin showed that their structure corresponds to the hexagonal hydroxyapatite structure [4].

Hardness testing, together with intra-oral models, has great importance in de- and re-mineralization experiments [8]. The hardness of enamel and dentin has been determined by a variety of methods, including abrasion [9], scratch [10], and indentation techniques [1, 2, 11-14]. Since it has been showed to have considerable local variations, the methods using a micro-scratch or micro-indentation have been preferred, and the Knoop diamond indenter has been used in a number of researches [2, 8, 13, 14]. It has been reported, however, that the Knoop values for enamel varied considerably from one location to another in the same tooth section [13, 14]. When compared with the microstructure of enamel and dentin, indentations represent micro-indentations. Recently, nano-indentation using an atomic force microscope (AFM) has been reported in hardness measurements of dentin [1].

Comparisons between Knoop (KHN) and Vicker (VHN) harnesses for different materials have showed approximately the same value [15]. The average hardness value for enamel and dentin is in the range from 270 to 350 KHN (or from 250 to 360 VHN) and from 50 to 70 KHN respectively [2]. However, the standard deviations (SD) for these averages showed broad and significant variations, although in dentin these variations are less pronounced. Thus, for example, Craig and Peyton [13] reported for enamel a hardness in the range from 344 ± 49 to 418 ± 60 VHN; Collis et al. [14] from 369 ± 25 to 431 ± 35 ; Wilson and Love [16] from 263 ± 26 to 327 ± 40 . The micro-hardness of the occlusal enamel varied from 359 to 424 VHN, and that of the cervical enamel from 227 to 342 VHN [14]. These variations can be produced by many factors, such as histology features, chemical composition, specimen preparation, and load and reading error in indentation length (IL). Craig has suggested that the load should be in the range from 50 to 100 g or over [13]; in the low-load range (lower than 25g), the load-hardness dependence was more pronounced for the Vicker's indenter [15].

In sound human enamel, it has been reported that the micro-hardness values, the mineral content, and the density gradually decrease from the outer surface to the EDJ [18-22]. More specific, Kodaka et al. [19] found a moderate correlation between the Vicker's hardness and P

concentration in enamel, but a low correlation with Ca. They indicated that VHN values, Ca and P percentage significantly decreased in the outer, middle and inner enamel sites. Other studies [11, 19] reported that the outer enamel surface is harder than the inner surface, and that hardness continuously decreases from the outer edge to EDJ. Gustafson and Kling [21] proposed that different hardness trends in enamel could be produced by variation in the direction of the series of indentations in a single tooth section. Others [13] have found any difference at all, only some slight indications that enamel is harder in the cusp and outer surface than in the cervical margin or EDJ, but the difference was less than the main SD indicated, and thus no definite statement can be made.

The Knoop hardness numbers for dentin in transverse section samples also varies. Because the larger size of the indentation in relation to the dentin microstructure, the micro-indenter provides only a composite average, and the variation in hardness values may be due to the differences in the dentinal tubule density at different locations. A specially modified atomic-force microscope was used by Kenney et al. [1] to measure the hardness of fully hydrated peritubular and intertubular dentin. They indicated that hydrated peritubular dentin has a hardness in the ranged from 2.2 to 2.5 GPa. independent of location, while in intertubular dentin did depend upon location, and was significantly greater near the EDJ (values ranged from 0.49 to 0.52 GPa) than near the pulp (from 0.12 to 0.18 GPa).

Another parameter that must be taken in account in hardness experiments is time. It was reported that enamel micro hardness indentation restored after time [13, 22]. However, in general, little is known about the way the size of microhardness indentations changes with time. Since enamel is a rather brittle material, time dependency of an indentation seems to be very small or negligible. On the other hand, in human demineralized dentin Herkstroter et al. [22] found that indentations relaxed (becomes smaller) over a period of 1 day; after that the indentations do not change statistically anymore. Some explanations for the relaxation of indentations could be the differences in the content of organic matrix and/or in the bonding between mineral and organic matrix.

In this work we obtain accurate Vickers hardness values (with minimum SD) for enamel and dentin in sound teeth. For this, we take care of the sample preparation method, the chemical composition all along the tooth, the relative orientation of the indenter with the enamel prisms and dentin tubules, to identify and control the parameters that statistically affect the hardness

measurement. Vickers hardness indentations were measured and analyzed with light microscopy (LM) and scanning electron microscopy (SEM).

Experimental procedure

Seven mature, sound premolars freshly extracted by orthodontic reasons were imbedded in self-curing resin. The imbedded teeth were sectioned either transversely or longitudinally using diamond wheel cutter Whiler Mod. Cutto-1. Three teeth were sectioned parallel to the occlusal surface, making cuts close to 0.5 mm from the cuspid, 1.5 mm in the cusp, in the medium third, and the cervical third. The others were sectioned bucolingually perpendicular to the mesiodistal axis of the tooth.

One of the factors that affect the hardness measurement is the specimen preparation, because any tilt or not flat surface would yield a too large IL and thus a smaller VHN value. Therefore, to produce a flat surface in the specimens is crucial in this type of analysis. With this in mind, the specimens were polished with silicon carbide papers from No. 1200 to 4000, in a progressively way, with water. Final polish was done with 0.05 polishing alumina on a low-speed metallurgical polisher Buehler, mod. Minimet, with light load on the specimen. Afterwards, the samples were cleaned by three periods of 5min each with distilled water inside a ultrasonic cleaner Bransonic mod. 52.

Vicker's hardness measurements were made with a micro hardness tester Matsuzawa Mod. MHT2 with a square based diamond indenter with 136° angle. This tester has a light microscope of high resolution and contrast with magnification of 400 x. Indentations were made with a rate of 20 seconds descending and loads of 10g, 25g, and 50g; and never close to any edge of the specimen or another indentation. The minimum distance between two indentations was bigger than 40 μm . The number of indentations made in any location of the tooth depended on the enamel and dentin thicknesses at such level. Therefore, this number was bigger in the cusp zone than in the cervical zone. Criteria for accepting an indentation were sharpness of diagonal edges, uniformity of diagonal shape (geometry) and freedom of interference from irregularities in the testing area. In longitudinal samples, the indentations were done from the enamel outer surface to dentin inner surface, going through EDJ in five zones: cervical, middle third, cusp, grove; and parallel to occlusal. In transverse samples, they were done in bucolingual to mesiodistal direction.

The length of the axes of the squared-shaped indentation (IL) was read either with the micrometer scale fitted to the eyepiece of the hardness tester, with other light microscope (LM), and with SEM. The VHN value was obtained from tables. The mean value and SD were calculated for both IL and VHN. Kappa statistics was used to assessment the reliability of the observer error in reading IL. A Kappa value of 0.90 was achieved. To reduce errors, the same observer made the reading. The Zeiss AxioTech LM and Jeol 5200 SEM microscopes were used for these observations. The results were analyzed comparing the diagonal indentation length values using the variance analysis ANOVA. For the EDS chemical analysis a Philips XL30 SEM, with a NORAN-EDS detector attached, was used.

Results

Figure 1 shows some of the main indentation irregularities produced in human teeth when some experimental parameters are not adequate; any of these irregularities allow the correct measurement of IL. Therefore, in this work, when one of them was observed, the sample was not used for hardness measurement because these are an indication that the sample preparation method, or the load, and/or the position of the indentation are not the correct ones. The observation of any of these irregularities was enough for re-checking the preparation and experimental procedure of the sample under analysis.

Figure 2 shows the shape of the VHN indentations that cover all the requirements for hardness measurements. Figure 2a shows an example of indentations produced through all the tooth thickness in a cusp longitudinal sample. Figure 2b shows some of the indentation produced in enamel, while figure 2c shows one in dentin. Because magnification in both images is the same, the hardness difference in enamel and dentin is straightforward. Figure 3 shows SEM images of some indentations produced in tooth enamel in longitudinal and transverse sections. This figure allows the comparison between the indentation size and the enamel prisms size: the indentation area covers seven prisms approximately. This indicates an indentation area of $50 \mu\text{m}^2$.

To avoid indentations such as those shown in figure 1, the sample preparation method was perfected and the analysis with loads of 10g, 25g, and 50g was carried out. The mean values for IL produced with these loads in the same zone and their corresponding VHN values are shown in table I. Taking in account the SD in each case, the similarity of the VHN values in the zone

analyzed is straightforward. However we should mention that the SD for loads of 10 and 50g are bigger than that for 25g. Collis et al. [14] suggested a load of 50g for studies of hardness in tooth because lower loads influence the indentation size. They suggested two aspects for this load influence: 1) the sample surface is altered during the polish process producing a coating bigger than the biggest depth reached for the indenter; 2) with lower loads, the difficulty to read the indentation marks increase. In this work, we did not observe, after the sample preparation method followed, any coating layer; even though, the enamel and dentin structure is always observed (fig.2). The depth reached with the square based diamond indenter used was of approximately 2 μm . Moreover, with load of 50g, almost all the indentations showed fracture and material accumulation, such as those shown in figure 1; and with load of 10g indentations were very difficult to read. The hardness values obtained with both 25g and 50g were statistically similar, but load of 25g produced less fracture and better indentation shapes. Therefore, after the analysis of table I, and taking in account all the above said, the load of 25g was chosen for the hardness measurements. Occasionally some slight fractures were observed in the outer edge of the groove zone (zone 4), and in the middle third (zone 2), close to the vestibular surface, but not in any of the others.

Time of load application is another parameter that we studied. McColm [23] indicated that 15 to 30 seg are quite recommended for ceramic materials. Therefore we applied the load of 25 g during 20 seg for this study. Figure 4 shows the different levels of the human tooth where the Vicker's hardness indentations were carried out.

Table II shows the main VHN values obtained with load of 25g for many teeth at the different tooth zones evaluated. It is observed in this table that the zone corresponding to the transverse section parallel to occlusal (zone 5) showed the biggest hardness values, whereas zone 1 (cervical) showed the lowest. Note that, however, taking in account the SD values, the difference between the hardness of zone 1 and zone 5 is minimum.

Figure 5 shows graphically all the main VHN values obtained from the different zones evaluated (table III). This figure immediately indicates that hardness in enamel is higher than in dentin, as expected, but it remains almost constant in all the enamel and dentin thicknesses respectively. Only around the EDJ there is a gap where it decreases from enamel's value to reach dentin's value. From this figure, and from all the data obtained, the zone with the minimum VHN value was zone 2 (the middle third) while the biggest was the zone 5 (parallel to the occlusal). In

general, the indentations in the transverse section samples were more easily reading, with very good shape and with minimum fracture mark. In longitudinal section, the indentations showed some indication of fracture, especially those of zone 2. Statistically speaking, the results obtained by ANOVA showed significative differences ($p > 0.5$) among the zone 5 and the other zones. From this, it can be concluded that zone 5 showed the hardness value that was significantly bigger than the others, whereas zone 1 showed the lowest.

The chemical analysis by EDS indicated that the Ca/P relationship was bigger in enamel than dentin (table IV). In enamel was around 1.63, compared with 1.67 in pure hydroxyapatite; that is, more Ca than P (table IVa). Na, Cl and Mg were also detected [24]. In general, in enamel Na and Mg showed a minimum in the enamel outer surface, but increase continuously until reach the EDJ, but Ca and P remain almost constant all along the enamel thickness (figure 6). Cl was detected in higher concentration in the enamel outer surface than in EDJ. In dentin, the ratio Ca/P was found around 1.5 (table IVb); that is, P is concentration higher in enamel than in dentin; Cl was not presented, Mg increased from EDJ to the inner surface, and Na decreased (figure 7). It is also worth noting, in table IV and figure 7, the behavior of the concentration of C and O detected in enamel and dentin: in dentin the percentage of C and O is higher than in enamel. This is an indication of the existence of more organic material in dentin than in enamel.

This chemical analysis, together with the hardness observations, indicates that the difference for the enamel and dentin hardness values is produced by the percentage of organic material they present, and there is not a clear dependence among Na, Cl, Mg, and VHN values.

Discussion

In tooth hardness studies, Vickers indenter is of more utility than Knoop's because the square shape has to be always conserved; and close to the outer surface and the EDJ, elongations of the diagonals of the indentations, that produce errors in hardness measurements, are easily observed. We have statistically found no significative difference among the many sound teeth analyzed but we do among the zones of the tooth itself, according with tables II and III. We have found hardness values in the range from 270 VHN to 360 VHN for enamel and from 50 VHN to 60 VHN for dentin; the differences depend on the zone evaluated. These results are similar to those reported by Craig and Peyton [13], but in our case although statistically these VHN values

presented an almost a constant behavior in all enamel and dentin thickness long for each zone. Slight increment was observed from zone 1 to zone 5; that is, from the cervical zone in longitudinal section to the transverse section, parallel to occlusal.

Some authors have also found variations in hardness from the tooth outer surface compared with those close to EDJ, similar to the ones reported in table II. So, they suggested bigger VHN values in the outer surface than in the EDJ, indicating, as Gustafson and Kling [21], that these differences in hardness of these areas are produced by the wrinkled structure that prisms present in the outer surface. In this work, statistically speaking the hardness values remain almost constant, and they only changed close to the EDJ. We have taken into account that there is a gap of around 20 μm before and after the EDJ where the indentation shape showed some irregularities, such as one of the diagonals is bigger than the other. This gives place to the diminution of the hardness value that they reported. We decide not to include these values in our measurements, because they did not fulfill all the requisites to be accepted for a Vicker's hardness analysis.

It is clear that the difference in VHN between enamel and dentin is due to the difference in the content of organic and inorganic materials, as it is well known. According with our results, the VHN found are not influenced by the minor elements contained in enamel and dentin, but the percentage of mineralization of these tissues.

Conclusions

The tooth Vickers hardness values do not show statistically any change from the outer surface to the EDJ, and they remain constant all along enamel and dentin thickness in the zone under analysis. However, the hardness is bigger along the transversal section than along the longitudinal section, and slightly bigger from zone 1 to zone 5. The difference in VHN between enamel and dentin is produced by the percentage of mineralization they present.

Acknowledgements

We acknowledge the technical help from R. Trejo, J. Cañetas, R. Hernández, P. Mexia, C. Flores, M. Aguilar, C. Zorrilla, S. Tehuacanero, L. Rendón. We thank the economical support from CONACYT (Project 31695-N) and DGAPAUNAM (Project IN-103700).

References

1. J.H. Kinney, M. Balooch, S.J. Marshall, G.W. Marshall Jr, and T.P. Weihs, *Archs Oral Biol.* **41** (1996) 9-13.
2. N. Meredith, M. Sherriff, D. J. Setchell, and S.A.V. Swanson, *Archs, Oral Biol.* **41** (1996) 539-545.
3. R. Z. Le Geros, "Calcium phosphates in oral biology and medicine" (Howard M. Myers, Ed., San Francisco California, 1991).
4. J. Reyes-Gasga, C.M. Alcantara-Rodriguez, A.M. Gonzalez-Trejo and A. Madrigal-Colin, *Acta Microscopica* **6**, **24**-(1997) 38.
5. G. W. Marshall, *Quintessence Int.* **24** (1993) 606-617.
6. G. Fosse, P.K. Saele and R. Eibe, *Acta Odontol. Scand*, **50** (1992) 201-210.
7. R. Garberoglio and M. Brannstrom, *Archs Oral Biol.* **21** (1976) 355-362.
8. Stephen H. Y. Wei and T. Koulourides, *J. Dent. Res.* **51** (1972) 648-651.
9. F. Taketa, H.S. Perdue, W.F. O'Rourke, H.W. Sievert and P.H. Phillips, *J. Dent. Res.* **36** (1957) 739.
10. V.P. Totah, *J. Dent. Res.* **21** (1942) 99.
11. R.C. Caldwell, M.L. Muntz, R. Gilmore and W. Pigman, *J. Dent. Res.* **36** (1957) 732.
12. W.T. Sweeney, *J. Dent. Res.* **21** (1942) 303.
13. R.G. Craig, and F.A. Peyton, *J. Dent. Res.* **37** (1958) 661-668.
14. K. Collys, D. Slop, R. Cleymaet, D. Coomanss, and Y Michotte, *Dent Mater.* **8** (1992) 332-335.
15. G. Ryge, D.E. Foley and C.W. Fairhurst, *J.Dent. Res.* **40** (1961) 1116-1121.
16. T.G. Wilson and B. Love. *Am. J. Orth. and Dentofacial Orthop*, **107** (1995) 379-381.
17. D. Gaspersic, *J. Oral Pathol. Med.* **24** (1995) 153-158.
18. C. Robinson J.A. Weatherell and A.S. Hallsworth, *Caries Res.* **15** (1981) 70-77.
19. T. Kodaka, K. Debari, M. Yamada, and M. Kuroiwa, *Caries Res.* **26** (1992) 139-141.
20. C.L. Davidson, I.S. Hoekstra, and J. Arends, *Caries Res.* **8** (1974) 135-144.
21. G. Gustafson and O. Kling, *Odontol. Tskr.* **56** (1948) 23
22. Fe.M. Herkströter, M. Witjes, J. Ruben, and J. Arends, *Caries Res.* **23** (1989) 342-344.
23. I.J. McColm, "Introduction and overview in ceramic hardness" (Plenum Press, New York, 1990).
24. C. Robinson, J.A. Weatherell, and A.S. Hallsworth, *Caries Res* **15** (1981) 70-77.

Captions of Figures

Fig. 1. Light microscope images of the irregularities commonly observed in the hardness indentation of the human tooth produced by non-flat surfaces. For those on/or close the EDJ (a,b) the deformation is produced by the difference in hardness of enamel and dentin. Some indentations showed some cracking and accumulation of material around it (c, indicated by the arrow). E: enamel; D: dentin.

Fig. 2. Light microscope images of well-shaped indentations in enamel. They present good shapes to obtain the VHN values of human tooth because both diagonals have the same length and they are straightly reading. a) Sequence of indentations through enamel, EDJ, and dentin corresponding to the cusp zone (zone 3). b) Indentations in enamel. c) indentation in dentin.

Fig. 3. SEM images of good-shaped indentations in enamel. In the transverse (a) and longitudinal (b) sections. In these images the indentation size and enamel prisms can be compared. The indentation area is of $50 \mu\text{m}^2$ approximately in both cases.

Fig. 4. Human tooth cuts where the Vicker's hardness indentations were carried out. a) Longitudinal section, b) transverse section. The numbers indicate the zones under analysis: cervical (1), middle third (2), cusp (3), groove (4), and parallel to occlusal (5).

Fig. 5. Graphics of the VHN values from the outer tooth enamel surface (■) to dentin (▲) passing through the EDJ (●). These graphics show the main data from table III for the different zones analyzed: middle third (a), cusp (b), groove (c), and parallel to occlusal (d). The cervical area was not included because it was too small that only few indentations could be possible. Each number represents a multiple of $40 \mu\text{m}$ approximately.

Fig. 6. Graphics of the major elements, (O, C, Ca and P) detected in the human tooth, from the outer enamel surface (number 1) to dentin inner layer (number 6), through the EDJ (number 3 and 4). Each number represents a multiple of $40 \mu\text{m}$ approximately. See table IVa. Note the difference in distribution of oxygen and carbon in enamel and dentin.

Fig. 7. Graphics of the minor elements (Na, Mg, and Cl) detected in the human tooth from the outer enamel surface (number 1) to dentin inner layer (number 6) through the EDJ (numbers 3 and 4). Note the increment of Na and the decrement of Cl from the outer enamel surface to the EDJ. In dentin Na shows a decrement after the EDJ, and Cl is not present. Mg concentration shows an increment from the outer enamel surface to the inner dentin surface. See table IVb. Each number represents a multiple of 40 μm approximately.

Captions of Tables

Table I. Vicker's hardness number (VHN) and indentation length (IL) for different loads in the same tooth zone. Mean values and standard deviations (SD) for IL and VHN are shown. N is the number of indentations, taken from the 7 samples, and taken in account for statistics. Note the increment of SD for 10g, because the error in IL measurement is bigger, and 50g, because excessive load.

Table II. Vicker's hardness number (VHN) and indentation length (IL) for the five analyzed zones from the 7 samples analyzed. Mean values and standard deviation (SD) for IL and VHN are shown. N is the number of indentations taken from the 7 samples, and taken in account for statistics. These data was obtained with a load of 25g. Note the small variations in VHN values for the first four zones when SD, indicated by (*), is taken in account. The parallel to occlusal zone presents the bigger VHN value.

Table III. Main VHN values for the five zones from the 7 samples analyzed. Zone 1 (cervical) was not included because its very small thickness allowed only few good indentations (always less than four). The value for EDJ represents indentations in enamel, 20 μm away from it. These data are shown graphically in figure 6.

Table IV. EDS results for enamel (a) and dentin (b). Data in at% and they are the main values from 3 samples analyzed. EDS analysis was carried out from the outer enamel surface to EDJ in enamel, and from EDJ to the inner dentin layer in dentin. These data are shown graphically in figure 6 and 7.

TELIS CON
FALLA DE ORIGEN

AC 117
11/10/20 11:11 AM