

CONSULTA EN SALA

Tesis Doctoral:

«Modificaciones microscópicas
y ultraestructurales
del esmalte en interacción
con agentes microbianos
y medios artificiales,
en un modelo de ensayo «in vitro»
para el inicio de caries.»



DOCTORANDO: KARINA ALEJANDRA MAYOCCHI.

UNIVERSIDAD DEL SALVADOR

USAL
UNIVERSIDAD
DEL SALVADOR

*Dame, Señor,
agudeza para entender,
capacidad para retener,
método y facultad para aprender,
sutileza para interpretar,
gracia y abundancia para hablar.*

*Dame, Señor,
acierto al empezar,
dirección al progresar,
y perfección al concluir.*



Agradecimientos:

Al Dr. Francisco V. Domínguez, quien me mostró que los verdaderos descubrimientos no consisten en buscar objetivos, sino en saber mirar con otros ojos.
Al Dr. Mario Restelli, por haber creído en mí, por su apoyo, dedicación y paciencia en la realización de este trabajo, por ser mi guía en el camino que inicié.
A la familia Restelli, por el apoyo y la colaboración que me brindaron.
A la Dra. Haydeé C. de Casaretto, y a las Dras. Mónica Cesetti, Graciela Schoj y Débora Dricas, del equipo del Servicio Materno Infantil de la Asociación Odontológica Argentina, por el impulso que me dieron desde mis primeros pasos.
A los Servicios de Bacteriología, Micología y Farmacología del Hospital San Juan de Dios de La Plata.
A la Cátedra de Geología y Mineralogía de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de La Plata, Dras. Andrea Ramis y Silvia Ametrano.
Al Dr. Ishikawa quien me acompañó en mis primeros años de Odontopediatría,
A la Dra. Fabiana Baglietto, Laboratorio Naf s.a.
A mis padres, a mis abuelos, quien siempre estuvieron a mi lado, por el apoyo y el amor que me dieron,
A Juan por su comprensión,
A Gaby, por estar siempre a mi lado,
A mis amigos Lic. Nidya Maliandi y Ricardo Paggi,
A mis amigas Laura Marzano, M. Eugenia Blanco, Anabel González, Sandra D'Alesandro, por la ayuda incondicional que me ofrecieron,
Al Ratón Pérez, quien muchas veces me permitió compartir la ilusión de tener mi primer diente de leche,
A mis pacientes, quienes confiaron en mí.

Desdico este trabajo a Martín y Gastón, en representación de los Niños,
porque me enseñaron a valorar la grandeza de lo pequeño.
A la memoria de la Abuela y la Tía Blanca.

Indice

Introducción	5
Antecedentes. <i>qué se sabe de los factores</i>	6
Características del Esmalte Dental	7
Características de la Placa Bacteriana	12
Reacciones Físico-químicas del esmalte a la placa bacteriana	16
Estudios Complementarios. <i>qué nos faltaba</i>	19
Estudio comparado de la ultraestructura y cristalografía de esmalte temporario y permanente (trabajo de investigación).	20
Estudio de la ultraestructura y morfología de la Placa Bacteriana de una población infanto juvenil de la ciudad de La Plata (trabajo de investigación).	36
Hipótesis	47
Experiencias. <i>cómo interactúan.</i>	49
Materiales y métodos	50
Resultados	55
Discusión y Conclusiones	62
Conclusiones	66
Referencias Bibliográficas	68



Fe de erratas:

- Pág. 3 donde dice s.a. léase S.A.
- Pág. 3 donde dice Desdico, léase Dedico
- Pág. 4 donde dice Bibliográficas, léase Bibliográficas
- Pág. 7 donde dice define, léase definen
- Pág. 38 Tabla 2 falta Referencia: $f=n^{\circ}$ de casos
- Pág. 38 Tabla 3 falta Referencia: $f= n^{\circ}$ de casos
- Págs. 39, 45 y 46 donde dice Candida albicans,
léase *Candida albicans*
- Pág. 39 donde dice Candida kruzei, léase *Candida kruzei*.

Introducción

Las características morfológicas y fisiológicas del diente se desarrollan a partir de una secuencia de periodos. No obstante, su modelo morfológico queda establecido por morfodiferenciación, es decir, por crecimiento diferencial de sus partes (Bhaskar, 1986), respondiendo a un modelo generativo de desarrollo embrionario.

Particularmente el esmalte, presenta características anatómicas e histológicas que reflejan la capacidad de adaptación a las condiciones del medio. Numerosas investigaciones reflejan un espectro parcial de cambios ultraestructurales, pero cuando las conclusiones extraídas se amplían a un análisis comparado, las interpretaciones morfológicas y funcionales pueden variar. (Leith, 1989). Así, las variaciones estructurales parecen ajustarse para la adaptación del esmalte al medio bucal, pero en algunos casos se presentan variantes que responden a cambios ambientales específicos. Cabría preguntarse si todas las adquisiciones estructurales responden de la misma forma, y hasta qué punto las variaciones en los hábitos personales pueden asociarse con las distintas modificaciones estructurales alcanzadas por el esmalte.

En los procesos biológicos relacionados con el desarrollo de la lesión caries, es necesario correlacionar los factores que predisponen a modificar las estructuras de los tejidos dentarios. La caries responde al tipo de modelo en el cual interaccionan un huésped susceptible (esmalte dental), un agente (la microflora con potencial cariogénico) y un sustrato local adecuado, que proporciona los requisitos nutricionales y energéticos para los microorganismos (placa microbiana).

(Nikiforuk, 1986). Las condiciones microambientales y la complejidad de la ecología bucal, determinan que otros factores influyan sobre la velocidad en el inicio y progresión de las lesiones, teniendo importancia predictiva. (Thylstrup y Fejerskov, 1988)

Las áreas de investigación en éstos procesos se extienden desde la física y química de los tejidos mineralizados, hasta la forma en que actúan los hábitos personales (Menaker y col. 1986), sin dejar de lado aquellos procesos biológicos de maduración y adaptación de cada tejido al medio bucal, la formación de los depósitos microbianos y su metabolismo, (Thylstrup y Fejerskov, 1988), y las características propias de la población, en una situación, muchas veces de confrontación, entre la observación clínica y los hallazgos experimentales, debido a la multicausalidad de la enfermedad.

Antecedentes



USAL
UNIVERSIDAD
DEL SALVADOR

Características del Esmalte Dental

Por su composición química y estructura ordenada, el esmalte es el tejido duro más electrodenso.

A la inspección clínica, la superficie del diente presenta surcos, fosas y fisuras con una superficie adamantina aparentemente lisa e inerte, pero que es susceptible de cambios. (Menaker y col. 1986).

Esos cambios podemos ordenarlos en:

- Cambios fisicoquímicos, dependientes de la cantidad y calidad iónica.
- Cambios cristalográficos, dependientes de la caracterización del tipo de apatita.
- Cambios histológicos, dependientes de la ultraestructura.
- Cambios clínicos, en cuanto a color, dureza y consistencia del tejido.

Las propiedades físicas, químicas y biológicas del esmalte dental dependen del comportamiento de su estructura cristalina, que lejos de ser un sistema mineral inerte, se trata de un sistema químico activo, que participa de diversas reacciones transportando iones desde su estructura superficial al medio y viceversa. (Menaker y col. 1986).

Los elementos estructurales más grandes del esmalte dental son los prismas, que se disponen en forma empaquetada desde el límite amelodentinario (LAD) hacia la superficie del esmalte. Cada prisma tiene un espesor aproximado de 10 μm y hasta 3 mm de longitud, y está formado por cristalitos submicroscópicos que guardan una disposición espacial para la conformación de su estructura. Cada cristalito, a su vez, se compone por miles de subunidades denominadas celdas unitarias, que guardan una configuración espacial de alta organización. (Menaker y col. 1986).

En el comienzo de la amelogénesis, el primer ordenamiento mineral aparece en forma de cintas alargadas y delgadas alrededor de la punta de las cúspides del germen en desarrollo. Estos cristalitos tienen la longitud del prisma maduro, pero de espesor mínimo. (Mjör y Fejerskov, 1989). Siguen un trayecto ondulado, pudiendo sugerir fallas estructurales por desalineación o falta de átomos, que luego pueden permanecer en los núcleos cristalinos maduros del prisma. (Menaker y col. 1986).

Los componentes minerales del esmalte dental son descritos como formas impuras de hidroxiapatita $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2]$, con una configuración tendiendo a hexagonal en cada celda unitaria. Los ejes a y b forman ángulos de 120° , y el eje c es perpendicular a los otros dos. La dimensión longitudinal de un cristalito se corresponde con el eje c. (Menaker y col. 1986).

Las muestras de hidroxiapatita biológica se caracterizan por sus relaciones molares de Ca/P, pero en el modelo estructural, común a todas las apatitas, se producen sustituciones iónicas que perturban química y estructuralmente, afectando las propiedades fisicoquímicas del mineral, influyendo en su reactividad química.

Los grupos hidroxilos en la hidroxiapatita, se disponen en columnas paralelas al eje c, rodeadas de canales formados por triángulos de calcio, que se repiten a lo largo del eje c de una celda unitaria a la siguiente, conformando un cilindro.

Los grupos hidroxilos y fosfatos ocupan la mayoría del espacio entre los canales de calcio, los oxígenos provenientes de los mismos define dichos triángulos. Los grupos hidroxilos están alineados a lo largo de los ejes centrales de los canales de calcio, formando columnas a lo largo del eje c, desplazados ligeramente de los triángulos de calcio y orientados con su átomo de hidrógeno hacia afuera de dicho triángulo, a lo largo del canal. (Esq. A). Por su estructura cristalina es birrefringente, con ligera negatividad, motivada por las distintas inclinaciones de los cristales respecto al eje c. (Bhaskar.1986)

La fase mineral del esmalte es casi hidroxiapatita pura (Thylstrup y Fejerskov,1988), pero

en este modelo cristalino pueden producirse sustituciones variables de otros iones, constituyendo una serie isomórfica (Menaker y col.1988). Estos componentes menores no se distribuyen en forma homogénea en la estructura del esmalte, sino que algunos muestran mayor concentración en la zona superficial, como F⁻, Cl⁻ y Zn⁺. Otros muestran un gradiente invertido, como el Na⁺, CO₃⁻ y Mg⁺⁺, y otros no varían con la profundidad, como el Sr⁺⁺ y el Cu⁺⁺. (Thylstrup y Fejerskov, 1988). Así, los iones pequeños pueden incorporarse en los cristallitos reemplazando un OH⁻ por otro tipo de ión.

El F⁻ se incorpora a la hidroxiapatita sustituyendo a los OH⁻, por lo tanto ocupan posiciones a lo largo de las columnas, dentro de los canales formados por los triángulos de calcio, pero equidistando de sus tres iones. Su incorporación provoca efectos sustanciales, puesto que al ocupar una posición central en el triángulo de calcio, el F⁻, que es pequeño, puede formar interacciones iónicas de Coulomb más fuerte con Ca⁺⁺ que el OH⁻ (la distancia calcio-flúor es menor que la calcio-hidroxilo). (Esq. A)(Einspahr y Bugg, 1986).

También se pueden establecer enlaces de hidrógeno con hidroxilos vecinos, que le dan más estabilidad a la fluorapatita formada. Esto se pone de manifiesto por una menor solubilidad a los ácidos, reducción de la desmineralización y aumento de la remineralización y recristalización.

Otros tipos de iones pueden inducir efectos sobre la ultraestructura del esmalte. La incorporación de CO₃⁻ a la estructura de la hidroxiapatita, modifica las condiciones geométricas establecidas en las apatitas, ya que el CO₃⁻ es un ión plano y no tetraédrico, por lo que afecta la estabilidad de la hidroxiapatita en medio ácido, pudiendo además modificar las propiedades ópticas, aumentando la birrefringencia.

Las sustituciones de Ca⁺⁺ por Sr⁺⁺ provocan aumento de la densidad, y la presencia de Mn⁺⁺ puede variar el color a rosa pálido, aumentando del mismo modo la densidad.

Los miembros de la serie isomórfica de apatitas que contienen Cl⁻, registran aumento de la densidad por variación del número atómico. (Menaker y col. 1986).

Aunque estas sustituciones afectan las propiedades fisicoquímicas del esmalte dental, existen otras sustituciones heteroiónicas en la superficie del esmalte, que condicionan la formación de lesiones cariosas. Los análisis químicos indican que el proceso principal es una desmineralización, seguida por la sustitución del material disuelto en agua a la que se une débilmente. (Einspahr y Bugg, 1986). Ésta se produce cuando la imbibición de H⁺ procedentes del medio difunden en el esmalte. Como consecuencia del gradiente de presión, el Ca⁺⁺ y PO₄[°] se disuelven de la capa de solvatación que rodea a cada cristallito, eliminándose hacia la superficie, dejando espacios ocupados por agua y otros iones en solución, creando de esta manera microespacios y poros intercristalinos que desestabilizan la ultraestructura de la hidroxiapatita. (Ostrom, 1986). Los triángulos de calcio están parcialmente estabilizados por sus interacciones con los grupos hidroxilos, de forma que la reacción ácida de dichos grupos para conformar agua, debilitaría la configuración para el calcio, desestabilizando aún más la región de la reacción.

Ultraestructura de la superficie del esmalte humano:

La superficie del esmalte dentario está caracterizado por un patrón incremental que varía desde cervical hacia oclusal o incisal. (Thylstrup y Fejerskov, 1988), Debemos considerar que en un mismo diente en erupción hay distintos periodos de maduración en el esmalte, que también varían desde cervical a oclusal o incisal. (Mjör y Fejerskov, 1989). En el esmalte preeruptivo, los límites prismáticos se hallan repletos de proteínas y agua, y la eliminación de los mismos da espacio suficiente para el crecimiento de sus cristales, pudiendo formar vías de difusión entre la superficie del esmalte y la película salival. La mayor cantidad de mineral se halla en las capas más profundas del esmalte, pero el intercambio iónico es mayor en la superficie del mismo. (Thylstrup y Fejerskov, 1988)

La estructura adamantina y la mineralización también se ven afectados por la cronología eruptiva. El primer grupo de prismas comienza a formarse alrededor de la punta de la

cúspide embrionaria, mientras que el segundo grupo surge a ambos lados de los prismas cuspídeos primitivos. (Mjör y Fejerskov, 1989)

Los 5 a 15 μm más internos del esmalte formado inicialmente, carecen de patrón prismático, debido al estadio precoz del desarrollo del ameloblasto. De modo similar el cese de la secreción de la matriz del esmalte una vez logrado el espesor total hace que los cristales se dispongan en forma paralela a la superficie del esmalte. Esto es evidente en las superficies lisas de los dientes temporarios y áreas cervicales de dientes permanentes. (Mjör y Fejerskov, 1989; Cesetti, 1986).

En la zona aprismática de ambas denticiones, el contorno del prisma termina por debajo de la zona superficial y los cristallitos de hidroxapatita cubren en forma difusa la superficie del esmalte, con sus ejes longitudinales paralelos entre sí y perpendiculares a dicha superficie. (Mjör y Fejerskov, 1989).

En dientes permanentes puede observarse un cambio brusco en la dirección de los cristales que puede darse dentro de un prisma, sin modificación en la dirección de los mismos, o producir cambios en la dirección principal. Por la naturaleza física de la formación del esmalte, se refleja la existencia de crestas u ondulaciones de 30 a 100 μm (Thylstrup y Fejerskov, 1988) de ancho que corren paralelamente alrededor del diente, recibiendo el nombre de líneas de imbricación de Pickerill. Estas crestas se hallan separadas entre sí por surcos o canaletas llamadas periquematías, que representan la manifestación externa de las estrías de Retzius (líneas incrementales). Son más definidas y claramente visibles en el tercio cervical y menos evidentes en dientes temporarios. (Mjör y Fejerskov, 1989)

A modo descriptivo, la superficie del esmalte puede dividirse en tres tercios: cervical, medio e incisal.

El esmalte de la zona cervical se dispone en delgadas capas cabalgadas entre sí (Mjör y Fejerskov, 1989) con aspecto ondulado en dientes permanentes. Los escalones son redondeados y separados entre sí por las aberturas de las estrías de Retzius. El borde de cada capa consta de fositas que se corresponden con los procesos de Tomes de los ameloblastos. El esmalte de las capas expuestas presenta esmalte interprismático liso, pero a lo largo de los mismos se hallan orificios crateriformes y casquetes, que pueden aparecer como elevaciones protusivas o fusionados con el esmalte circundante; en cambio, los orificios focales son agujeros delimitados, de bordes lisos, con evidente patrón cristalino (Thylstrup y Fejerskov, 1988). Se observan microporos en toda la superficie. A lo largo del fondo de los surcos se observa la presencia de los extremos de los prismas que corresponden a las fositas de los procesos de Tomes. La parte oclusal del extremo del prisma suele estar en forma de arcada, que pueden dar lugar a defectos del desarrollo en la superficie del esmalte. (Mjör y Fejerskov, 1989).

En el diente temporario, el aspecto cervical varía notablemente. Las aberturas de las estrías de Retzius son menores. Hay mayor cantidad de poros interprismáticos pero de menor tamaño. (Mjör y Fejerskov, 1989). Las protusiones son mayores, hasta de 100 μm (Mjör y Fejerskov, 1989) alterando el patrón incremental. Aparecen zonas con extremo de prismas en forma irregular, donde se pueden observar cristales. (Thylstrup y Fejerskov, 1988).

En la zona media e incisal de diente permanente se encuentran profundas hipoplasias a maneras de hoyos, donde se pone de manifiesto el esmalte prismático e interprismático compuesto por los extremos de los cristales en el fondo de los mismos (Mjör y Fejerskov, 1989). En esmalte temporario se evidencia la presencia de numerosos macrodefectos, con gran contenido orgánico. También se observan en ambos esmaltes, estructuras finas y foliadas, que podrían corresponder a laminillas, de origen embrionario, que llegan muchas veces al LAD. (Llamas Cadaval y col, 1994). Estas fallas estructurales constituyen vías de difusión. En los estadios precoces de la disolución del esmalte, implican una desintegración de la superficie que llega a microcavitaciones. En éstas se evidencia un clásico patrón de prismas, y se observan las aberturas de las estrías de Retzius, que dejan huellas a modo de fositas. Las superficies del esmalte que rodea a las microcavitaciones, muestran marcadas abrasiones irregulares entre los surcos correspondientes a los procesos de Tomes. Como el