



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**EVALUACIÓN COMPARATIVA HISTOLÓGICA DEL ESMALTE DENTAL EN
HUMANOS, BOVINOS, PORCINOS Y OVINOS**

Línea de investigación:

Biomateriales

Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

Autora:

Cabrera Olivera, Esmeralda

Asesora:

Vílchez Reynaga Luzmila
(ORCID: 0000-0002-3089-6536)

Jurado:

Peltroche Adrianzen, Nimia Olimpia

Vargas Garcia, Dalila Liliana

Mejía Ticona, Lourdes Alicia

Lima - Perú

2022

Referencia:

Cabrera, E. (2022). *Evaluación comparativa histológica del esmalte dental en humanos, bovinos, porcinos y ovinos*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Federico Villarreal]. Repositorio Institucional UNFV. <http://repositorio.unfv.edu.pe/handle/UNFV/5868>



Reconocimiento - No comercial - Sin obra derivada (CC BY-NC-ND)

El autor sólo permite que se pueda descargar esta obra y compartirla con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se puede generar obras derivadas ni se puede utilizar comercialmente.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VRIN | VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EVALUACIÓN COMPARATIVA HISTOLÓGICA DEL ESMALTE DENTAL EN
HUMANOS, BOVINOS, PORCINOS Y OVINOS

Línea de investigación:

Biomateriales

Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista

Autora:

Cabrera Olivera, Esmeralda

Asesora:

Vílchez Reynaga Luzmila

(ORCID: 0000-0002-3089-6536)

Jurado:

Peltroche Adrianzen, Nimia Olimpia

Vargas Garcia, Dalila Liliana

Mejía Ticona, Lourdes Alicia

Lima- Perú
2022

Agradecimiento

A Dios por siempre guiarme en esta trayectoria.

A mi asesora Dra. Esp. Vílchez Reynaga Luzmila por la paciencia, tiempo y apoyo dedicado para despejar dudas y mejorar cada parte de esta investigación.

Al Dr. Tito Sánchez Rojas y al Ing. Roberth Eusebio Teheran por el apoyo en los procesos de ejecución de esta investigación.

A mi hermana Thalía y mi amiga Roxana quienes siempre me motivaron y alentaron en todo momento.

Dedicatoria

A mis padres Teodoro Cabrera Guerrero y Yolanda Olivera Ochoa quienes han apoyado todo mi camino con su apoyo incondicional, amor y una paciencia infinita, todos mis logros,

todo lo que hoy soy es gracias a ellos.

A mis hermanas Thalía, que más que hermana es mi amiga, siempre apoyándome en mis metas y objetivos, animándome en mis fracasos y aplaudiendo mis logros.

A mi abuelo Pedro y mi hermana Darma que ya no están presentes conmigo, pero me dieron los mejores regalos de mi infancia y de mi vida. Siempre serán parte de mi historia y siempre estarán en mi vida.

Índice

Resumen	
Abstract	
I. Introducción	1
1.1 Descripción y formulación del problema	2
1.2 Antecedentes	3
1.3 Objetivos	7
- Objetivo general	7
- Objetivos específicos	7
1.4 Justificación	8
1.5 Hipótesis	9
II. Marco teórico	10
2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación	10
2.1.1 Esmalte	10
2.1.1.1 Propiedades químicas y físicas del esmalte dental	13
2.1.2 Dientes de humano	16
2.1.3 Dientes de bovino	19
2.1.4 Dientes de porcino	20
2.1.5 Dientes de ovino	21
2.1.6 Ácido fosfórico	23
2.1.7 Grabado dental	24
III. Método	25
3.1 Tipo de investigación	25

3.2	Ámbito temporal y espacial	25
3.3	Variables	25
3.4	Población y muestra	26
3.5	Instrumentos	27
3.6	Procedimiento	28
3.7	Análisis de datos	30
3.8	Consideraciones éticas	30
IV.	Resultados	31
V.	Discusión de resultados	34
VI.	Conclusiones	36
VII.	Recomendaciones	37
VIII.	Referencias	38
IX	Anexos	43

Resumen

Objetivo: Comparar histológicamente el esmalte en dientes humanos, bovinos, porcinos y ovinos realizando pequeños cortes que serán analizados en el microscopio electrónico de barrido. **Metodología:** El estudio es observacional, transversal, prospectivo y comparativo. Se evaluaron 64 especímenes, obtenidos después de realizar los criterios de selección, en los cuales se realizaron los cortes para ser llevados al microscopio electrónico de barrido. Se evaluó la forma, longitud y anchura de los prismas del esmalte en humanos, bovinos, porcinos y ovinos. **Resultados:** Al observar los cuatro tejidos dentales, se encontraron diferencias, los prismas del esmalte humano tenían forma de ojo de cerradura, los prismas bovinos elípticas ligeramente alargadas, los porcinos de forma elíptica y en ovinos a hojas ligeramente ovaladas; la mayor longitud promedio encontrada del prisma de esmalte fue en bovinos con 8.379 μm , seguido por los porcinos con 6.689 μm , los humanos con 6.573 μm y por último los ovinos con 6.550 μm . Al comparar estas mediciones, se encontró diferencias significativas entre bovinos respecto a humanos y también entre bovinos respecto a ovinos ($P < 0.05$); a nivel de anchura el mayor promedio encontrado fue en bovinos con 5.673 μm , seguido por los humanos con 4.747 μm , por último, los porcinos con 3.914 μm y los ovinos con 3.638 μm . Al comparar estos valores, se encontró diferencias significativas entre bovinos y porcinos y también entre bovinos y ovinos ($P < 0.05$). **Conclusión:** La investigación realizó la comparación histológica del esmalte de humanos, bovinos, porcinos y ovinos, se evaluó forma, longitud y ancho donde se encontró una diferencia significativa a nivel de la forma en los cuatro sustratos, diferencias en su longitud y ancho particularmente en el esmalte bovino.

Palabras clave: humanos, bovinos, porcinos, ovinos, esmalte.

Abstract

Objective: To compare histologically the enamel in human, bovine, porcine and ovine teeth by making small sections that will be analysed by scanning electron microscopy. **Methodology:** The study is observational, cross-sectional, prospective and comparative. Sixty-four specimens were evaluated, obtained after fulfilling the selection criteria, on which cuts were made to be taken to the scanning electron microscope. The shape, length and width of the enamel prisms in humans, cattle, pigs and sheep were evaluated. **Results:** When observing the four dental tissues, differences were found, human enamel prisms were keyhole shaped, bovine prisms were elliptical slightly elongated, porcine prisms were elliptical and ovine prisms were slightly oval bladed; the longest average enamel prism length found was in bovine with 8,379 um, followed by porcine with 6,689 um, human with 6,573 um and finally ovine with 6,550 um. When comparing these measurements, significant differences were found between bovines with respect to humans and also between bovines with respect to sheep ($P < 0.05$); at the width level the highest average found was in bovines with 5,673 um, followed by humans with 4,747 um, finally, pigs with 3,914 um and sheep with 3,638 um. When comparing these values, significant differences were found between cattle and pigs and also between cattle and sheep ($P < 0.05$). **Conclusion:** The research carried out a histological comparison of human, bovine, porcine and ovine enamel, evaluating shape, length and width, where a significant difference was found at the level of shape in the four substrates, differences in length and width, particularly in the bovine enamel.

Keywords: humans, cattle, pigs, sheep, enamel.

I. Introducción

Actualmente, la investigación odontológica en sus diferentes áreas requiere como elemento principal para su desarrollo la recolección de dientes humanos, los que son usados y analizados para poder tener resultados con gran porcentaje de aprobación que garanticen un estudio confiable y acertado. Para estos hallazgos clínicos es de vital importancia la obtención del elemento dental, la cantidad de dientes y su estado estructural son las reglas primordiales para ejecutar una buena investigación, sin embargo, estos requerimientos protocolares son difíciles de encontrar en una cantidad sustentable para una investigación.

Hay estudios realizados como los de Ghaeth et al. (2011) quienes mencionan que existen varias limitaciones en investigaciones con dientes humanos, es difícil adquirirlos en cantidades suficientes y con la calidad adecuada para su estudio, sin embargo, dientes de animales son utilizados en varios estudios in vitro actualmente.

De igual modo Olek et al. (2020) nos aclaran que los dientes humanos suelen extraerse debido a los graves daños causados por la caries o por enfermedad periodontal. Además, la creciente concientización de los pacientes que se orientan hacia la preservación de sus propios dientes y la amplia capacidad de reconstrucción causan serios problemas para obtener un número suficiente de dientes naturales para una investigación.

Los sustratos dentales por tener estas limitaciones según Olek et al. (2020) pueden ser reemplazados por tejidos dentales de mamíferos cercanos bovinos, porcinos y ovinos, los que mantiene condiciones de vida similares facilitando la estandarización y la comparabilidad de los estudios experimentales.

Los dientes humanos han sido sustituidos frecuentemente por incisivos bovinos y molares porcinos en el campo de la ciencia de los materiales y la odontología. (Olek et al. 2020, p. 2)

El diente bovino según Ghaeth et al. (2011) es la opción más frecuente, escogida por la mayoría de investigadores, por su facilidad de obtención en grandes cantidades, en buen estado y con una composición más uniforme que la de los dientes humanos, estos animales son parte del abastecimiento de la nutrición humana, no solo ayudarían con el consumo de su carne, sino también con el uso de sus dientes, ya que son desechados, es decir, no son utilizados para ningún recurso adicional.

Además, los dientes de bovino tienen una superficie plana relativamente grande, no tienen lesiones de caries y otros defectos, los que nos permitirán actuar con una amplia observación y utilización del recurso disminuyendo el margen de error. (Ghaeth et al. 2011, p. 273)

Por ello, muchos autores han optado por utilizar para sus estudios in vitro dientes de animales como alternativa a los dientes humanos, los más utilizados son los bovinos, aunque también se utilizaron dientes de porcino, ovino, equino, e incluso de tiburón. (Taruél, 2018, p. 23)

Así existiendo un número reducido de publicaciones, tratando específicamente las diferencias y semejanzas entre dientes humanos y otras especies, Taruél (2018) menciona que es importante el conocimiento de otras características de estos sustratos ya que no existen investigaciones suficientes directamente relacionadas a su estructura.

1.1 Descripción y Formulación del problema

A lo largo de los años la ciencia y los avances están superando todo tipo de fronteras. El Perú que a pesar de ser un país subdesarrollado no es la excepción, está intentando superar su calidad de investigación en las áreas de salud, mejorando así su calidad de vida, sin embargo, la población sigue viviendo con mucha falta de concientización a nivel de salud dental y los recursos dentales, si hablamos del área de investigación, los dientes humanos son el elemento

más requerido y la falta de una cantidad sostenible de estos ocasionará adquisiciones indebidas y desmesuradas.

Así como en el área de histología, la microestructura dental humana se ha estudiado cuidadosamente y en otras áreas odontológicas las propiedades químicas, mecánicas, adhesión, entre otros se han estudiado a fondo, los tejidos de los dientes de otros mamíferos cercanos como bovinos, porcinos y ovinos han sido analizados, sin embargo, toda esta información recopilada no es suficiente para ayudarnos de estos tejidos y que sean usados dentro del ambiente odontológico.

Frente a ello, la predisposición actual en el ámbito odontológico es generar mayor fuerza a la actividad de investigación sobre las diferencias que existen entre el esmalte humano, bovino, porcino y ovino como parte fundamental de desarrollo a la comunidad científica; es decir, viene a ser un modo de ver cómo y qué características pueden ser encontradas sometiéndolos a una observación histológica de tejidos dentales que contengan esmalte y poder corroborar, forma y tamaño que nos permitan utilizarlos como remplazo de los dientes humanos.

Por tal fundamento, la presente investigación procura evaluar las principales semejanzas y diferencias histológicas existentes en el esmalte humano, bovino, porcino y ovino. Frente a lo anteriormente expuesto motiva a realizar la siguiente pregunta: ¿Existirán diferencias histológicas en el esmalte dental humano, bovino, porcino y ovino?

1.2 Antecedentes

Olek et al. (2020) se encargaron de realizar un análisis comparativo de la morfología del esmalte de los dientes permanentes humanos, bovinos y porcinos con microscopía electrónica. Analizaron 10 dientes humanos, 10 bovinos y 10 porcinos, todos los dientes lo seccionaron y las mitades las dividieron aleatoriamente en 2 grupos según el tejido examinado (esmalte vestibular a media altura de la corona dental y en la zona cervical). Grabaron el

esmalte humano y bovino durante 15 segundos y el esmalte porcino durante 30 segundos. Para el análisis utilizaron el microscopio electrónico de barrido, la longitud y la anchura de los prismas del esmalte, lo determinaron con el programa informático "Met-Ilo". Los resultados encontrados en las muestras de esmalte, revelaron el mismo patrón de grabado, el esmalte bovino mostró una porosidad y una cantidad de esmalte interprismáticas similar a la del esmalte humano, mientras que la cantidad y la anchura de las bandas de esmalte interprismático en el esmalte porcino fueron evidentemente mayores, la forma de los prismas porcinos era visualmente similar a la de los prismas humanos, aunque las dimensiones eran significativamente diferentes. Sin embargo, los prismas bovinos diferían en forma y parecían ser claramente alargados. En conclusión, la investigación realizó la comparación de la microanatomía y las dimensiones de los prismas del esmalte humano, bovino y porcino. Encontraron similitudes en la disposición de los prismas del esmalte y el mismo patrón de grabado para las tres especies. Sin embargo, las diferencias en la forma y dimensiones de los prismas, especialmente en el esmalte bovino, en los dientes porcinos, observaron diferencias significativas en la microanatomía y el tiempo de grabado, por lo que se requiere una mayor exposición de este tejido a los agentes grabadores en las pruebas in vitro.

Teruel (2018) su objetivo fue estudiar las discrepancias entre las nanoestructuras del esmalte y la dentina de la especie humana, bovina, porcina y ovina. Fragmentos de esmalte y dentina obtenidos de premolares y molares humanos extraídos por razones de ortodoncia, dientes de bovinos, porcinos y ovinos extraídos de animales eutanasiados en mataderos industriales. Todos los dientes fueron lavados para eliminar cualquier rastro de sangre y almacenados en agua destilada la cual cambiaban diariamente para evitar su deterioro, los dientes fueron triturados mecánicamente hasta alcanzar un tamaño final de partícula de $< 100 \mu\text{m}$. Los resultados encontrados en esmalte humano y la dentina mostraron longitudes del eje a y del eje c de la red cristalina de apatita carbonatada más cercana a la hidroxiapatita sintética,

que tenía el tamaño más pequeño. Los tamaños de los cristales del esmalte fueron siempre superiores a los de la dentina para todas las especies. El esmalte y la dentina de humano tenían el cristal más grande, seguido de las muestras de bovino. La hidroxiapatita en el esmalte tenía un índice de cristalinidad más alto que la dentina correspondiente al mismo grupo. Esmalte y dentina tenían los indicadores más altos de cristalinidad, seguidos por el esmalte ovino. El tamaño de los nanocristales y la cristalinidad se correlacionaron significativa y negativamente con la fase proteica de todos los sustratos. Concluyen que encontraron diferencias en el contenido orgánico e inorgánico de los esmaltes y dentadura humana, cuando se utilizan sustratos bovinos, porcinos u ovinos como sustitutos del material humano en los estudios experimentales, no sólo hay que tener en cuenta las diferencias morfológicas y la composición química, sino también las diferencias estructurales deben tenerse en cuenta para interpretar correctamente los resultados.

Wang et al. (2021) tuvieron como objetivo comparar las microestructuras del esmalte de los dientes bovinos y humanos en relación con su similitud funcional. Para este propósito, realizaron un estudio donde hicieron una comparación microestructural del esmalte dental y el esmalte bovino, colocando a los dientes bovinos como alternativas potenciales de remplazo para los dientes humanos en investigaciones científicas. El análisis fue llevado a cabo con microscopía electrónica de barrido, utilizaron 16 dientes humanos sanos y la edad media de los pacientes era de 46 a 50 años, los dientes se almacenaron a 4°C en solución de timol al 1%. Encontrando como resultado que los dientes humanos y bovinos tienen una microestructura del esmalte relativamente diferente, el esmalte bovino presenta zonas de transición entre bandas adyacentes de HSBS. Además, presenta abundantes interprismas entrelazados con prismas. En conclusión, dada la cercanía de la microestructura del esmalte en los dientes de ambos animales los dientes bovinos podrían utilizarse como una excelente alternativa a los dientes humanos en las investigaciones dentales.

Yilmaz (2018) elaboró una investigación con el objetivo de hacer una descripción estructural profunda de la morfología del esmalte bovino, en este estudio utilizaron incisivos mandibulares de bovinos, los dientes los extrajeron en un matadero local, cortaron las raíces, extrajeron el interior de la pulpa, tras lo cual desinfectaron en una solución de timol al 0,1% durante 24 horas. A continuación, los dientes fueron enjuagados y almacenados en una solución salina equilibrada de Hank, hasta la preparación de la muestra para evitar desmineralización. El resultado fue la aparición de las regiones límite entre cristalitas y prismas, se contradice con el conocido concepto de vaina proteica, los cristalitas y prismas vecinos no están separados por zonas de separación prominentes, sino que están en gran medida en contacto entre sí. Las proteínas podrían existir dentro de los poros de 20-30nm que se distribuyen de forma no homogénea por las regiones limítrofes, en lugar de proteínas que cubren cada cristalito y prisma. En conclusión, los tipos de esmalte se definen principalmente por la orientación de prismas en relación con la DEJ y entre sí. Se reconocieron tres tipos de esmalte.

Fernández y Paiva (2014) realizaron un estudio en el cual el objetivo fue comparar la morfología y propiedades físicas de la estructura del esmalte de dientes bovinos, búfalos y humanos. Fue realizado con microscopía electrónica de barrido, se analizó composición mineral, microdureza y rugosidad superficial del esmalte donde utilizaron 41 dientes de bovino, 41 dientes de búfalo y 41 dientes de humano. Los resultados mostraron que la morfología del esmalte revela una significativa similitud de las especies estudiadas con las encontradas en las muestras humanas. En conclusión, las características y propiedades del esmalte bovino presentaron una morfología semejante a la de humanos, arquitectura similar, microdureza y composición mineral equivalente al tejido dental humano tornándose modelo de referencia para investigaciones científicas.

Ghaeth (2011) tuvo el objetivo de revisar los estudios in vitro e in situ que comparan directamente el uso de dientes bovinos como sustituto de los dientes humanos en experimentos

dentales. Realizó una búsqueda en PubMed de artículos publicados hasta el 30 de diciembre 2010, utilizando las siguientes palabras clave: "human bovine esmalte" o "dentina bovina humana" o "dientes bovinos". Se leyeron los resúmenes de los estudios resultantes de la búsqueda de palabras clave, y se leyeron todos los artículos que comparaban dientes humanos y bovinos. Los resultados mostraron que, de los setenta y seis estudios seleccionados inicialmente, sesenta y ocho cumplían los dictámenes de selección para la inclusión. Los estudios abarcaban siete categorías: morfología dental, composición química, propiedades físicas, caries, erosión y abrasión dental, fuerza de adhesión, microfiltración adhesivo y microfugas marginales. En conclusión, existen datos inconsistentes sobre si los dientes bovinos pueden considerarse un sustituto adecuado de los dientes humanos en la investigación dental, las diferencias morfológicas, de composición química y de propiedades físicas entre los sustratos deben tenerse en cuenta a la hora de interpretar los resultados obtenidos en cualquier experimento que utilice un sustrato dental bovino.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Comparar histológicamente el esmalte dental humano, esmalte bovino, esmalte porcino y esmalte ovino.

1.3.2 Objetivos Específicos

Evaluar la forma de los prismas del esmalte en humanos, bovinos, porcinos y ovinos.

Evaluar la longitud de los prismas del esmalte en humanos, bovinos, porcinos y ovinos.

Evaluar la anchura de los prismas del esmalte en humanos, bovinos, porcinos y ovinos.

Comparar los datos obtenidos en forma, longitud y anchura del esmalte dental en humanos, bovinos, porcinos y ovinos.

1.4 Justificación

La investigación sobre la evaluación comparativa histológica del esmalte dental, se consideró importante por la necesidad de encontrar sustratos dentales sustitutos a los dientes humanos ya que son de vital utilidad y esenciales en el desarrollo de investigaciones científicas, es decir, cuando se desea realizar una investigación con tejidos dentales, comúnmente son usados premolares o terceras molares que han sido extraídos por tratamiento ortodóntico, el problema se encuentra en recolectar cierta cantidad de estos tejidos aptos para ser evaluados, por lo que esta recolección puede llevar meses, causando que la investigación tome más tiempo de lo planteado. Por otro lado, es importante saber que muchas veces el requerimiento de estos tejidos crea una venta ilícita de los mismos.

Los tejidos dentales humanos pueden ser remplazados por tejidos con gran similitud y rápido acceso, los que podrían ser de bovinos, porcinos u ovinos, por ello el punto más relevante es determinar la diferencia y similitud que podemos encontrar examinando dientes bovinos, porcinos y ovinos a nivel histológicos, dándole así a las investigaciones odontológicas un acceso amplio a alternativas de tejidos suplentes de fácil recolección y obtención de datos, donde se puedan tener los mismos resultados disminuyendo el grado de dificultad y el tiempo de recolección. La investigación aportará al área científica odontológica alternativas de solución frente al gran requerimiento o demanda de tejido dental humano, así como la recolección de información fehaciente acerca de las características encontradas en los sustratos sustitutos.

1.5 Hipótesis

Dado que estructuralmente los dientes de bovinos, porcinos y ovinos están envueltos en una capa muy resistente que es el esmalte y cumplen funciones inherentes con los dientes humanos entonces no tendrá diferencias histológicas con el esmalte dental bovino, porcino y

ovino, por lo que estos tejidos pueden ser sustitutos en los avances científicos y las futuras investigaciones mejorando el acceso y desarrollo.

II. Marco teórico

2.1 Bases Teóricas Sobre el Tema de Investigación

2.1.1 Esmalte

El esmalte dental es un tejido considerado por Gomez y Campos (2009) como una de las estructuras más dura y con mayor concentración de calcio en el cuerpo humano, siendo así el más mineralizado del organismo que cubre a la dentina en la sección coronaria, dando protección al complejo tisular subyacente, En su superficie interna, entra en contacto con la dentina, formando la conexión amelodentinaria (CAD), mientras que su superficie externa, se encuentra en contacto directo con el medio ambiente bucal.

Su función específica es formar una cubierta resistente para los dientes lo que los hace adecuados para la masticación (Albertí et al, 2007, p.2).

En las investigaciones por encontrar su composición exacta, Ferguson (1999) afirma que “está formado por un 96% de material inorgánico, 1% de material orgánico y 3% de agua. Su espesor varía, desde unas pocas μm a nivel cervical hasta 2,5 mm en las cúspides”

Para comprender mejor la composición y como se inicia la formación del esmalte dentario es preciso tener en cuenta algunas consideraciones generales sobre la organogénesis dentaria. Según Albertí (2007):

Clásicamente se describe este fenómeno según un esquema de cuatro etapas sucesivas que comienza con la diferenciación de las yemas epiteliales que se forman por la profundización y proliferación del epitelio de la lámina dental en la mesénquima subyacente y en el lugar que ocuparán los futuros órganos dentales. Luego pasa por la constitución de los órganos en casquete y campana, concluye con la morfogénesis de los folículos en el seno de los cuales se elaboran los tejidos dentarios. (p.3)

Se consideran 4 etapas o procesos por las que van a pasar para culminar su proceso embriológico:

- ***Etapa de Yema.*** en el área de la lámina dental, una prominencia en forma de disco que integrará las yemas epiteliales. La mesénquima subyacente en relación con la yema presenta una concentración esférica de células mesenquimatosas que se desarrollará para constituir la papila dental (Albertí, 2007).
- ***Etapa de Casquete.*** quedan diferenciadas estructuras como el órgano dental epitelial, la papila dental y el saco dental, encargados de la formación de todos los tejidos del diente y del periodonto. Inicia la histodiferenciación del órgano dental (Albertí, 2007).
- ***Etapa de Campana.*** se disponen las guías coronarias de cúspides bordes y fisuras. Florece el estrato intermedio entre el retículo estrellado y el epitelio adamantino interno el cual es fundamental en la formación del esmalte al elaborarse los materiales que pasan a los ameloblastos y a la matriz del esmalte durante la amelogénesis. El retículo estrellado se extiende por aumento de la sustancia intercelular. Al término de esta etapa el epitelio adamantino externo se ubica en pliegues en los que ingresan proyecciones del saco dental que aportan vasos capilares al órgano del esmalte durante la amelogénesis. Se genera la diferenciación de los ameloblastos y de los odontoblastos (Albertí, 2007).
- ***Etapa de Folículo.*** el revestimiento adamantino interno muestra una fuerte actividad citogenética en esta etapa y está apartado de la papila dental por la lámina basal, cuya frontera será la futura unión amelodentinal. Las células del epitelio externo del órgano dental, se vuelven desiguales y en su lado convexo aparecen pliegues en el interior de los cuales ingresan capilares del saco dental, que asegurarán la contribución nutricional al órgano dentario en las etapas siguientes al detenerse el aporte de la papila dental cuando se construye las primeras capas de dentina (Albertí, 2007).

Luego llegando a la formación de la membrana dentino-esmalte, según Gómez y Campos (2009) la matriz se deposita dibujando una proyección cónica en el polo apical denominado proceso Tomes mediante el cual se continuará la secreción del esmalte.

Este proceso de secreción de los ameloblastos secretores, según Tolcachir (2016):

Se caracteriza por alternar estadios de secreción rápida y otros más lentos que pueden ser usados como indicadores del crecimiento y desarrollo dentario. El ameloblasto secretor sigue produciendo matriz adamantina hasta alcanzar el espesor definitivo del esmalte, seguido por la mineralización o calcificación de la misma, lo que implica la eliminación del material orgánico y del agua, así como la incorporación continua de iones calcio y fosfato. (p. 9)

Esto señala que el esmalte se encontrará listo con el espesor, calcificación y mineralización necesarios para cumplir sus funciones dentro de la masticación.

El esmalte dental estructuralmente, está constituido por millones de prismas, según Gómez y Campos (2009) “Son estructuras longitudinales de aproximadamente 4 μm de espesor que van desde la unión amelodentinaria a la zona externa con el medio bucal. Su número varía en relación al tamaño de la corona, desde 5 a 12 millones” (p.105).

Su distribución varía según el corte, en un corte longitudinal se notan bandas delgadas irregulares, en un corte transversal se presentan como secciones hexagonales irregulares, ovoides o como en una forma que asemeja escamas de pescado (Gómez y Campos, 2009, p.106).

Modelos más actuales, guiados por estudios de microscopía, permiten identificar los prismas de una forma diferente, así como lo menciona Guzmán (2007), “Como bastones irregularmente paralelos en un corte longitudinal y en cortes transversales como una morfología en ojo de cerradura” (p.12). Lo que permite identificar un cuerpo, zona más ancha, de 5 μm de diámetro y una cola cuya longitud es de 9 μm .

Su disposición tiene relación entre sí, pues las colas están siempre unidas a los cuerpos de los otros prismas, este sistema le otorga mayor resistencia al esmalte, pues su ordenamiento

permite una distribución de fuerzas (Guzmán, 2007, p.12). Es por ello que siempre vamos a observar que la cabeza de los prismas se dirige a incisal y la cola a la zona gingival del diente.

En un nivel más pequeño encontramos dentro del esmalte los cristales de hidroxiapatita, Barrancos et al. (2006) plantean que estos cristales son densos y están dispuestos en varillas que van desde la dentina hasta la superficie del esmalte, su composición química varía dependiendo del medio líquido donde se originan, siendo los que están ubicados en la superficie del esmalte los más ricos en flúor, hierro, estaño y cinc que los ubicados en la gran masa del esmalte.

La longitud considerada por Manneschi (2006) va de 100-1000nm y ancho de 30-70nm. La forma y el tamaño del cristal maduro varían según el grado de mineralización que puedan tener y ubicación dentro del esmalte, es decir, los cristales que encontraremos a nivel incisal no serán los mismos que veamos a nivel cervical del mismo sustrato. Estos cristales son de naturaleza iónica, por el fosfato y calcio que mantienen en su composición.

Los cristales van a presentar una disposición particular, Manneschi (2006) comenta que estas disposiciones se dan paralelos entre sí en algunas regiones, en otras oblicuas e incluso perpendicularmente. Respecto a los prismas, la disposición de los cristales es paralela al eje mayor en su parte central. En el resto, los cristales están inclinados con relación al eje medio formando ángulos de valores variables, no debemos olvidar que el prisma es un cuerpo tridimensional y los cristales van a estar siempre orientados según el plano considerado.

2.1.1.1 Propiedades Químicas y Físicas del Esmalte Dental.

A. *Propiedades Químicas.* El esmalte está compuesto en su mayor porcentaje por matriz inorgánica, agua y 1% de sustancia orgánica. Nylen (1992) nos habla que el componente inorgánico del esmalte está compuesto principalmente por fosfato y calcio que forman una matriz cristalina similar a la hidroxiapatita, $(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$. Los cristales de hidroxiapatita son hexagonales cuando el corte es perpendicular al eje longitudinal del cristal

y rectangulares cuando el corte es paralelo al mismo, la estructura del cristal puede ser concebida como serie de placas de forma hexagonal apiladas una encima de otra, donde cada una de ellas gira 60° en relación con sus vecinas inmediatas.

Sin embargo, Garcia-godoy (2008) nos menciona que la apatita del esmalte y de hecho, la de todos de los tejidos mineralizados, no es pura, sino que mantiene una serie de variaciones en su composición como la pérdida de algunos iones, en particular calcio e hidroxilo y a su vez incorpora otros como carbonato, sodio, magnesio, cloro y pequeñas cantidades de fluoruro.

B. Propiedades Físicas. Entre las propiedades físicas del esmalte encontramos las más resaltantes e importantes que lo caracterizan como dureza, elasticidad, permeabilidad, radiopacidad, transparencia y color.

Dureza. Resistencia superficial, en este caso el esmalte dental a ser rayado o sufrir deformación permanente frente a una carga o presión de contacto, esta dureza le proporciona la hidroxiapatita que es el mineral más duro del cuerpo humano. (Tolcachir, 2016, p.29)

Existen pruebas para poder medir la dureza del esmalte, Giraldez (2014) menciona algunas de ellas como Berkovich, Vickers y Knoop, estas serían las pruebas más exactas debido a que sus geometrías permiten el cálculo de la dureza de materiales duros de una manera adecuada.

Los valores de microdureza según Tolcachir (2016):

La prueba Vickers muestra que el esmalte oscila entre 324.1 y 420 HV, aumentando desde el límite amelodentinario hacia la superficie, es decir está en directa relación con el grado de mineralización. Estas variaciones de los valores de microdureza, son adjudicadas por algunos investigadores al carácter anisótropo del esmalte en donde las diferencias en la estructura y organización cristalográfica sería la responsable de estas diferencias. (p.31)

Elasticidad. La elasticidad del esmalte es una propiedad intrínseca, depende de la densidad de sus prismas, del contenido de agua y del material orgánico. La elasticidad es escasa puesto que la cantidad de agua y sustancia orgánica es muy reducida. (Giraldez, 2014,p.47)

Por lo general, los valores medios del módulo de elasticidad que Giraldez (2014) nos menciona que oscilan entre 72,7 y 87,5GPa cuando las mediciones se realizan en paralelo o perpendiculares al eje de los prismas, respectivamente. De aquí comprendemos entonces que la elasticidad es menor en la zona de la cola y en la vaina de los prismas por tener su mayor contenido en sustancia orgánica.

Permeabilidad. Si bien la composición del esmalte nos muestra que la permeabilidad del esmalte es bastante reducida, Gomez y Campos (2009) nos explica que utilizandose algunos marcadores radioactivos en el esmalte esta puede actuar como una membrana semipermeable. Se ha sugerido que existen vías submicroscópicas de transporte molecular que toleran cierto intercambio iónico del esmalte con el medio bucal.

La permeabilidad del esmalte dental se puede utilizar en diversos tratamientos clínicos a nivel dental, según Giraldez, (2014):

Los tratamientos de blanqueamiento ya que permite que el gel de blanqueamiento penetre dentro de los tejidos dentales. En algunos estudios han comprobado que a medida que se extiende la concentración de peróxido de hidrógeno, la permeabilidad del esmalte y dentina también lo hace. (p.51)

Radiopacidad. Propiedad de no ser atravesado por los rayos X. En el caso del esmalte es muy alta, constituyendo la estructura con más radiopacidad del organismo humano por su alto rango de mineralización. (Gomez y Campos, 2009,p.292)

Transparencia y color. El esmalte es translúcido, esta propiedad puede atribuirse al grado de calcificación del mismo y a la forma en que la luz blanca difunde a través de los espacios intercristalinos. A mayor mineralización, mayor translucidez (Gomez y Campos,

2009,p.293). Por lo tanto, la translucidez del esmalte y el color de la dentina son prácticamente los que determinan el color del diente, por esta razón, decimos que el color es una propiedad del diente más que del esmalte en particular.

El diente natural no puede ser considerado con un solo color, Tolcachir (2016) explica que el diente es más bien policromático, ya que está compuesto por estructuras de diferentes densidades y propiedades ópticas, con volúmenes diferentes y de manera no uniforme. Así encontramos un grado de color más intenso hacia gingival, un color blanco amarillento, donde el espesor de esmalte es mínimo, un color más grisáceo en las cúspides y un color prácticamente translúcido en los bordes incisales donde el espesor de esmalte es mayor especialmente en personas jóvenes. Puede ser afectado por tinciones, manchas o alteraciones de color de los dientes en zonas localizadas.

El blanqueamiento es un proceso que según Giraldez (2014), “Genera cambios en el color del esmalte, mientras que en la translucidez parece no haber consenso entre los autores” (p.51).

2.1.2 Dientes Humanos

Conocer las estructuras dentales es importante para poder comprender parte de la evolución del hombre a lo largo del tiempo, Reyes et al. (2010) habla que el hombre no es sino uno más entre los vertebrados, y que son los dientes los que confirman estas relaciones de parentesco. Los dientes fueron durante mucho tiempo el distintivo más estudiado de la biología de los animales vertebrados, y este interés particular se centró en cómo se desarrollaron, su número y su composición estructural, donde observaron que los dientes humanos había ido transformándose con el paso de los años y toda la evolución desde su existencia, siguiendo procesos de adaptación y modos de vivir típicos de cada grupo en particular.

Y es muy importante destacar que los dientes s “Al estar constituidos histológicamente por elementos muy duros, resisten fácilmente el paso del tiempo llegando a convertirse en el

tejido humano menos destructible, es la única evidencia de la presencia del hombre dentro de la arqueología” (Reyes et al., 2010, p.20).

Cada estudio realizado sobre los dientes ha proporcionado “un importante registro de rasgos marcadores en la clasificación de la especie humana introduciendo valiosa información sobre la edad, sexo, patrón étnico y hábitos alimenticios” (Rodríguez, 2003, p.167).

El diente “es un material excesivamente variable pues su composición y propiedades fisicoquímicas se adaptan a la función masticatoria y sus características varían según la historia particular de cada diente y de cada persona” (Gonzales et al. 2014, p.11).

Existen muchos factores entre ellos “La edad, la genética, la nutrición, la presencia o ausencia de microelementos, los hábitos, los medicamentos, patologías afectan sus propiedades” (Gonzales et al. 2014, p.11).

La dentición humana ha tenido cambios en el número de dientes en boca a través de los años, es decir, se sabe que muchos años atrás los humanos contaban con 4ta y 3ra molares.

En la actualidad, según Ayala et al. (2018):

La especie humana posee dos tipos de denticiones, la decidua compuesta por 20 dientes, y la permanente con 32. Los dientes se desarrollan a partir de los brotes epiteliales en la porción anterior de los maxilares y en dirección posterior. Luego de la formación y mineralización de las coronas, empiezan a formarse las raíces de los dientes y los tejidos de soporte. (p.3)

La primera dentición que encontramos en el hombre según Gallego (2008) es la decidua o temporal, la cual permanece hasta los 12 años aproximadamente, para esta edad ya encontramos la nueva dentición o detención permanente la que se mantendrá durante toda la vida, por lo tanto, entre los 6 y 12 años encontraremos el recambio entre ambas denticiones coexistiendo dientes deciduos y permanentes a la que llamaremos dentición mixta.

Los dientes permanentes establecen una oclusión funcional que permite todas las funciones mencionadas y un equilibrio armonioso a todo el sistema estomatognático, durante toda la vida. (Ayala et al. 2018, p.3)

De ahí que, las predicciones más usadas sean las de Mayoral y Mayoral (1984) que decretan, el comienzo del botón de los dientes permanentes con los dientes molares inferiores, siguiendo los molares superiores a los 6 años, incisivos centrales inferiores y superiores a los 7 años, incisivos laterales inferiores a los 8 años, seguidos de los incisivos laterales superiores, caninos inferiores a los 9 años y la primera premolar superior, después primera premolar inferior, a los 10 años, sigue el canino superior, a los 11 años segunda premolar inferior y superior, a los 12 años segundo molar superior e inferior.

Los terceros molares son particularmente los dientes más retirados de la boca porque no llegan a ser usados dentro de la masticación y la ubicación que mantienen en muchas oportunidades causa molestias ya que “son las últimas piezas en salir, con gran margen de tiempo, en los cuales es muy frecuente la agenesia, retenciones dentarias y retraso eruptivo, que se considera en un rango entre los 15 y 20 años” (Ayala et al. 2018, p.6). Por estas razones no se incluye en el pronóstico de crecimiento y erupción de los dientes permanentes.

En la dentición permanente Paz (2011) comenta que la erupción dentaria es más temprana en niñas, debido a los procesos hormonales presentes en ellas; afirmando que en las niñas existe una formación acelerada de la raíz y cierre apical, que puede conducir a una erupción más rápida, es decir, está relacionado con un acelerado desarrollo físico. Asegura que el cromosoma X está enlazado a la formación del diente; de ahí la marcada discrepancia en el tiempo del desarrollo y erupción del diente entre ambos géneros.

2.1.3 Dientes de Bovino

Los bovinos son animales mamíferos y rumiantes de gran tamaño con dientes denominados por Luz (2011):

Difiodontes, ya que poseen un conjunto de dientes que rompen en inicio de la vida, dientes deciduos o de leche, que son sustituidos por dientes permanentes con la misma designación. El conjunto deciduo de los dientes consiste en incisivos y pre-molares. Los molares no son precedidos por los dientes deciduos, siendo así parte del conjunto de dientes permanentes. (p.1)

Lezcano et al. (2016) sostiene que “presentan ocho incisivos ubicados en la parte anterior del maxilar inferior, están dispuestos en forma de arco, similar a la ubicación de los dientes humanos, la zona superficial del esmalte maduro de bovino cuenta con coloración y brillo equivalente al humano” (p.2).

Los dientes incisivos según Luz (2011) son 8 e integran una sola disposición en la mandíbula y son los más empleados en la determinación de la edad, por su visibilidad y acceso para ser contados y evaluados. Por su distribución se conocen como Pinzas, Primeros Medios, Segundos Medios y Extremos. No poseen caninos o colmillos, ni incisivos superiores, siendo estos últimos reemplazados por un recubrimiento espeso de la mucosa en la quijada.

El primer premolar es el menor de los dientes premolares; el segundo y tercero premolares son semejantes, excepto del tercero premolar provisional que tienen tres raíces, en vez de dos como presentan el primero y segundo premolares provisionales (Luz, 2011).

Es importante mencionar que los dientes bovinos no son ajenos estructuralmente a los dientes humanos, Posada et al. (2009) resalta que los dientes de mamíferos que más similitud mantienen con la dentición humano, son los dientes de bovino; tienen propiedades que se asemejan bastante en forma, composición, histología, entre otras.

Los dientes de bovino en relación con los dientes humanos muestran muchas ventajas para su manejo en la investigación, Posada et al. (2009) principalmente resaltan que es debido a la facilidad para obtener una colección de dientes bovinos y para la posibilidad de estandarizar la edad dental, la dieta y otras condiciones ambientales, reduciendo el riesgo de discrepancia entre los sustratos, ya que aquellos aspectos no son posibles de controlar cuando se trata de dientes humanos. En base a esto, los dientes de bovino se han utilizado en muchas pruebas comparando ambos sustratos que pretenden establecer la idoneidad del diente bovino.

2.1.4 Dientes de Porcinos

El cerdo es un mamífero que puede estar en estado salvaje o doméstico, Rodríguez (2014) dice que es un descendiente directo del jabalí, teniendo la posibilidad de entrecruzarse, así mismo los cerdos domésticos mantiene unas 80 razas diferentes, la mayor parte de estas desarrolladas para el uso de su carne, y su tamaño varía desde 30 kg de crecimiento completo, a más de 900 kg , incluso hay especies criadas y escogidas porque tiene un tamaño extremadamente pequeño, llamado “mini” o “micro cerdos”, que sólo llegan a los 18 kg de crecimiento completo.

Podríamos establecer que “el ciclo productivo del cerdo comienza desde el momento de su nacimiento y por ello es indispensable tener en cuenta todas las recomendaciones sobre manejo y cuidados con el lechón recién nacido” (Carrero, 2005, p. 9).

Los lechones mantienen una “etapa de lactancia que oscila generalmente desde 49 a 63 días dependiendo de las instalaciones y el manejo que se tenga en la porqueriza” (Carrero, 2005, p. 9).

Los cerdos son animales difiodontos según Carrero (2005) es decir, poseen dentición de leche y dentición permanente, la dentición decidua consta de 32 dientes, mientras que su dentición permanente es de 44 dientes que corresponden a 6 incisivos, 2 caninos, 8 premolares y 6 molares. Mientras premolares y molares están estupendamente adecuados a la trituración

de alimento vegetal, los incisivos y los caninos que en los machos, pueden estar bastante desarrollados ya que son de crecimiento continuo, les facultan para la captura y desgarrar de carne y otras materias de origen animal.

Las características de los dientes tienden a mantenerse en la mayoría de las razas según Carrero, (2005):

Incisivos: Alargados y cilíndricos, principalmente en la mandíbula. Incisivos superiores separados y los inferiores más cercanos y casi horizontales.

Caninos: Muy desarrollados, en especial en el macho.

Molares: Aumentan de tamaño de los primeros a los últimos. (p.9)

2.1.5 Dientes de Ovinos

Las ovejas son mamíferos ungulados, es decir, sus extremidades finalizan en pezuña o casco, artiodáctilo porque las extremidades tienen un número par de dedos, rumiante ya que en su estómago presenta cuatro cavidades y los machos disponen de cuernos en espiral (Cuellar et al. 2011,p.88).

Hablar de los dientes de ovino, es interesante ya que presentan características parecidas y diferentes a otros mamífero, Cuellar et al. (2011) plantea que el ovino es heterodonto, porque posee distintas piezas dentarias llamadas incisivos, premolares y molares incompleta, porque no tiene caninos, difiodonta porque posee inicialmente dientes de leche o deciduos que luego son reemplazados por dientes definitivos o permanentes y en el paladar superior no posee incisivos sino una protección fibromucosa llamado rodete.

La determinación de edad o cronología dentaria de los ovinos, se efectúa mediante la observación de los dientes, es decir, el cambio de dientes de leche por dientes definitivos o permanentes (Cuellar et al. 2011,p.88).

Los dientes de leche son más pequeños y más amarillentos que los dientes de adulto, según Romero (2015):

El cordero nace sin dientes, a la primera semana nacen los dos primeros incisivos, en la segunda semana nacen los segundos incisivos, en la tercera semana nacen los terceros incisivos y en la cuarta semana nacen los últimos o extremos, el cordero tiene la boca llena con dientes de leche aproximadamente al mes de vida, dependiendo de varios factores, entre ellos el más importante es la raza, ya que existen razas más precoces que otras (p.3).

Los corderos poseen una dentición decidua, Romero (2015) explica que tienen 8 dientes de leche en su mandíbula, entretanto en su etapa adulta, una oveja posee 32 dientes, 8 incisivos y 24 son molares, comenzando entre los 12 a 18 meses de edad los primeros incisivos definitivos, mejor conocidas como pinzas permanentes, entre los 24 a 30 meses, aparecen los primeros medianos, entre los 36 a 40 meses nacen los segundos medianos, entre los 48 a 50 meses llegan los extremos, de esta forma la boca está completa. Toda esta fase de recambio, de dientes de leche a los dientes de adulto ayuda mucho en determinar la edad en los ovinos.

Sin embargo, con el proceso de alimentación estos dientes van perdiendo estructura, Tinari (2010) indica que un ovino es un animal de boca llena de los 4 a 5 años de vida, es a partir de esta edad que inicia el desgaste de sus dientes pasando por las etapas de $\frac{3}{4}$ de diente, mitad de diente, $\frac{1}{4}$ de diente y terminando en un diente completamente gastado, a medida que envejecen los ovinos, el desgaste dental aumenta y eventualmente van fracturandose. Un ovino adulto puede seguir viviendo sin sus incisivos mientras que sus molares mantengan buena estructura.

2.1.6 Ácido Fosfórico

Daza et al. (2005) define el ácido como una sustancia corrosiva que forma parte de numerosos compuestos orgánicos y en formas libres aunque en menores proporciones, lo podemos encontrar en sólido transparente y sin olor o también lo encontramos en estado líquido

claro y espeso, este ácido es utilizado para proteger el tratamiento del agua, detergente en alimentos, en la corrosión de los metales y en el grabado dental.

Como recordamos “Desde que Buonocore introdujo el ácido fosfórico para el grabado de la superficie dentaria se logró mayor receptividad para la adhesión y que la odontología hubiera progresado y mejorado en las técnicas restaurativas” (Daza et al.2005, p.4). Es a partir de allí que el ácido fosfórico se convierte en el agente desmineralizante más usado en la odontología.

El ácido fosfórico de 35 o 40% con un tiempo de aplicación de 15 a 60 segundos para dientes permanentes y primarios, demuestra la producción de adhesión adecuada para la resina, mientras que reduce la pérdida de superficie del esmalte (Quesada et al. 2014, p. 2).

Habitualmente, en la praxis odontológica el ácido fosfórico al 37% ha sido utilizado como un agente de grabado óptimo, ya que amplía el área de superficie del esmalte y genera una especie de degradación, llegando a producir ciertas microporosidades (Daza et al. 2005).

Como el ácido retira la capa superficial de esmalte alrededor de 10 micrómetros y crea una capa de porosidades de 5 a 50 micrómetros, la aplicación del adhesivo permite que fluya por capilaridad, llene estos microporos siendo entonces polimerizado (Passos, 2013, p. 4).

El tiempo de aplicación del ácido según Guzmán (2007) “no debe ser muy largo ya que la reacción es autolimitante y se puede producir una reprecipitación de fosfato de Calcio sobre el esmalte, lo que oblitera los poros generados y disminuye la capacidad de unión” (p.16).

El ácido se retira lavando con agua como menciona Guzmán (2007) por un tiempo igual o mayor al que se aplicó el ácido, con una fuerte aplicación para retirar de entre los poros todos los restos de ácido y las sales de calcio disueltas en el líquido, dejando el área preparada para recibir otros materiales, más que por remoción directa, el ácido se elimina por una dilución de éste desde el fondo de las grietas en que está atrapado.

2.1.7 Grabado Dental

El gran impacto generado en la odontología por la introducción de la técnica del grabado del esmalte, ha generado cambios verdaderamente esenciales en los tratamientos dentales y en la posibilidad de cambiar en diferentes aspectos las formas más tradicionales de la práctica dental (Carrillo, 2018).

El grabado dental es un procedimiento utilizado para unir exitosamente un tejido dental con una prótesis o restauración, con una corona, con una carilla o una incrustación, se realiza con ácido ortofosfórico al 37%, que provoca una disolución selectiva del esmalte (Suárez et al. 2010, p.8).

El ácido aplicado al sustrato dental según Carrillo (2018) “generaba irregularidades microscópicas en la superficie del esmalte, sobre la cual el material a base de resina podía fluir y penetrar en las indentaciones creadas para favorecer una unión mecánica sobre la estructura acondicionada al momento de endurecer” (p. 137).

III. Método

3.1 Tipo de Investigación

De acuerdo con Sampieri (2014), el tipo de investigación es Observacional ya que se tuvo una exploración y registro de acontecimientos sin intervenir en el curso natural de estos. Transversal, la medición de los parámetros evaluados fue realizada una sola vez. Prospectivo, los datos son recolectados a medida que van avanzando las evaluaciones y observaciones de la investigación. Comparativa, porque se comparó las variables del estudio para validar sus resultados.

3.2 Ámbito Temporal y Espacial

El actual estudio se desarrolló en el laboratorio de la empresa High Technology Laboratory el cual cuenta con micrótopo para poder realizar los cortes de cada diente y en el Laboratorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, este laboratorio cuenta con todos los instrumentos necesarios para la preparación de las muestras(deshidratación, stubs y sputter) microscopio electrónico de barrido Philips S-505 para evaluar los cortes histológicos necesarios para la investigación.

3.3 Variables

Esmalte dental de humanos, bovinos, porcinos y ovinos.

3.3.1 Operacionalización de Variables

Variable	Concepto	Dimensión	Indicadores	Escala	Valor
Esmalte dental en humanos, bovinos, porcinos y ovinos.	Esmalte dental es el sustrato más duro y con mayor concentración de calcio que cubre la dentina en la sección coronaria. Dicha resistencia lo convierte en la capa de protección más adecuada en el proceso de la masticación.	Características morfológicas de los prismas del esmalte	Forma de los prismas del esmalte	Nominal	-Ojo de cerradura -Elíptica -Hoja ovalada
			Longitud de los prismas del esmalte	Razón	0-X um
			Anchura de los prismas del esmalte	Razón	0-X um

3.4 Población y Muestra

3.4.1 Población

Terceras molares y premolares de dientes humanos, incisivos de dientes bovinos, molares de dientes porcinos e incisivos de dientes ovinos.

3.4.2 Muestra

Según el ISO/TS 11405/2003 (Anexo 1) la muestra debe mantener un mínimo de 15 especímenes por grupo, la muestra tomada para este estudio fue de 16 especímenes (n=16).

3.4.3 Unidad de Análisis

En esmalte del diente humano, bovino, porcinos y ovinos.

3.4.4 Criterios de Selección

3.4.4.1 Criterios de Inclusión. Para el presente trabajo de investigación se utilizaron los siguientes criterios de inclusión para los cuatro tejidos dentales:

Incisivos, premolares, molares y terceras molares sin caries (se utilizó detector de caries: nombre comercial Redamin)

Incisivos, premolares, molares y terceras molares sin fracturas o desgaste coronal (observación clínica para comprobar que no tengan facetas de desgaste)

Piezas extraídas con un máximo de 3 meses.

3.4.4.2 Criterios de Exclusiones. Para el presente trabajo de investigación se utilizaron los siguientes criterios de exclusión para los cuatro tejidos dentales:

Tejido dental humano, bovino, porcino y ovino con la superficie muy dañada.

Incisivos, premolares, molares y terceras molares con alteraciones en la estructura del esmalte.

Piezas dentales de otros animales que no sean humanos, bovinos, porcinos y ovinos.

3.5 Instrumentos

3.5.1 Materiales

Los datos obtenidos fueron registrados en la ficha de recolección de datos (anexo B) y almacenados en una base de datos (Excel), luego fueron procesados en una computadora utilizando el programa estadístico SPSS

3.5.2 Herramientas

Se realizó la evaluación y observación en un microscopio electrónico de barrido (MEB) Philips S-505

3.5.3 Técnica

La técnica está basada según los protocolos establecidos del ISO/TS 11405/2003(anexo A) el cual según este, recolectamos la muestra por un tiempo determinado para poder someterlas a un proceso de deshidratación y metalizado manteniendo las estructuras intactas, así como también el análisis estadístico para los valores que recolectamos.

3.6 Procedimiento

Para realizar el estudio se procedió a la recolección de 16 dientes humanos totalmente erupcionados extraídos por razones médicas, 16 dientes bovinos, 16 dientes porcinos y 16

dientes ovinos obtenidos del frigorífico camal San Pedro, todos los especímenes fueron limpiados y se eliminaron todos los restos de tejido periodontal(ver anexo F), luego fueron almacenados por separado, en recipientes etiquetados con el nombre de la especie (ver anexo F) que contenían suero fisiológico o agua destilada grado 3, la que era cambiada cada semana con la asepsia adecuada hasta completar el total de la muestra, incluye que la recolección de los dientes debe ser igual o menor a 3 meses según el ISO/TS 11405/2003.

Con la recolección total de los dientes de ambas procedencias se procedió con los cortes de raíces 1mm por debajo de la unión cemento-esmalte con un micromotor de baja velocidad, el proceso siguiente fue colocar las coronas de los dientes en bases de silicona (ver anexo H) para mantener su estabilidad, una vez allí, procedimos a realizar el grabado ácido en la cara vestibular con ácido fosfórico al 35%(Ultra-Etch) para revelar la estructura de los prismas y luego enjuagamos con abundante agua destilada. El grabado para los dientes humanos bovinos y ovinos fue de 15 segundos, el esmalte porcino fue grabado durante 30 segundos tomando como referencia los datos de los antecedentes.

Pasando a los cortes a nivel de corona hicimos cortes longitudinales, horizontales y tangenciales obteniendo muestras de 3mm de alto, 3mm de ancho y 2mm de espesor, las que se pulieron para obtener las superficies lisas.

Las muestras se deshidrataron con etanol (ver anexo I) en una gradiente ascendente de 25-100% durante 20 minutos cada vez, pasado este tiempo fueron llevadas y sumergidas en etanol absoluto (ver anexo N) para tener un desecado en punto crítico, este procedimiento nos ayudará a eliminar todo el agua que se encuentra en la muestra así como a conservar las estructuras de la superficie de las muestras.

Se procedió a colocar las muestras deshidratadas en stubs (porta muestra de microscopio) nos ayudaremos de un microscopio simple para estabilizar y ubicar cada muestra

cuidando que cada una mantenga un espacio de la otra, donde cada stub permitió transportar una cantidad exacta de muestras (Ver anexo O).

Con las muestras separadas y ubicadas, estas son colocadas en un sputtering, donde fueron bañadas con oro para permitir la conducción de electricidad, este proceso es vital porque permite generar la visualización de las estructuras del esmalte en el MEB, este proceso duro 15 segundos, a partir de aquí las muestras estaba listas para ser llevadas y observadas en microscopia electrónica de barrido (Ver anexo P).

Las muestras de esmalte humano, bovinos, porcino y ovino estuvieron colocadas, dispuestas para ser observadas en un microscopio electrónico de barrido Philips S-505, donde fueron observadas y analizadas una a una por especie en tres bloques(ver anexo R), es decir, observamos las muestras de esmalte humano y a continuación las muestras de bovino hasta terminar con las cuatro especies y seguimos con el segundo bloque de muestras en la misma disposición para poder validar características visibles en el momento de la observación y dejar registro detallado de lo encontrado en cada uno de ellos (Ver anexo S).

Completando todos los registros, procedimos a ordenar la información, empezaremos de acuerdo a las características similares presentadas en las unidades analizadas, validando su registro y su porcentaje, seguidamente comenzamos a ordenar las informaciones que se encontraron con diferencias resaltantes, de la misma forma la toma de registro y su porcentaje.

3.7 Análisis de Datos

Para todos los resultados obtenidos en la investigación se elaboró tablas y figuras según corresponda.

Para evaluar y comparar más de dos medias se utilizó la prueba F (Anova) con un nivel de confianza del 95% y una significancia de $P < 0.05$.

3.8 Consideraciones Éticas

El presente estudio tuvo implicaciones éticas ya que se contó con la recolección de dientes humanos y también de dientes bovinos, porcinos y ovinos, donde los dientes humanos fueron recolectados de manera aleatoria, los individuos fueron informados de la investigación dando su consentimiento voluntario de participación, de esta manera se mantendrá también protegida su privacidad, en el caso de los dientes bovinos, porcinos y ovinos se solicitó la recolección de un centro frigorífico para poder adquirirlos.

Esta investigación buscó mejorar la salud y el conocimiento odontológico, siendo metodológica y sensata donde los participantes de la investigación, tejidos dentales, fueron seleccionados en forma justa y equitativa, sin prejuicios personales o preferenciales, el riesgo fue mínimo y los resultados exponenciales ayudaron a tener acceso a sustratos de otras especies para poder realizar investigaciones sin limitaciones y ganar más conocimientos en el área odontológica.

IV. Resultados

En la presente investigación de la evaluación comparativa histológica del esmalte dental en humanos, bovinos, porcinos, ovinos. Las comparaciones obtenidas a través de microscopía electrónica de barrido en muestras de esmalte humano, bovino, porcino y ovino efectivamente grabado con ácido fosfórico al 35%, deshidratadas y metalizadas, fueron estudiadas con un aumento de 10 um y 20 um, permitiendo la visualización de las estructuras morfológicas en gran escala y pequeña escala, observamos la forma que presentaban los prismas, largo y ancho, donde se obtuvo los siguientes resultados que fueron estadísticamente significativas ($P < 0.05$)

En las micrografías se observan en los cuatro tejidos dentales que los prismas mantienen una diferencia significativa en su forma.

Tabla 1

Forma de los prismas del esmalte en humanos, bovinos, porcinos y ovinos.

Forma	Grupo Humanos	Bovinos	Porcinos	Ovinos
Ojo de cerradura	16			
Elíptica Alargada		16		
Elíptica			16	
Hoja Ovalada				16

Prueba estadística de resumen. Fuente: base de datos.

Nota. La forma de los prismas del esmalte en humanos, bovinos, porcinos y ovinos es muy diferente entre ellas, pues así tenemos que en los humanos es ojo de cerradura, en bovinos es elíptica alargada, en porcinos es elíptica y en ovinos es hoja ovalada.

Tabla 2

Longitud de los prismas del esmalte en humanos, bovinos, porcinos y ovinos.

Grupo	Media	D.S.	N°	F	P
Humanos	6.573	0.7448	16	4.02	0.0169
Bovinos	8.379	1.9525	16		
Porcinos	6.689	1.2674	16		
Ovinos	6.550	0.5688	16		

Prueba F. Fuente: base de datos

Nota. Se observa la longitud de los prismas del esmalte en 16 muestras de humanos, bovinos, porcinos y ovinos, donde los que presentaron mayor longitud promedio fueron los bovinos con 8.379 μm , seguido por los porcinos con 6.689 μm , los humanos con 6.573 μm y por último los ovinos con 6.550 μm . Al comparar estas mediciones, se encontró diferencias significativas entre bovinos con humanos ($P < 0.05$) y también entre bovinos y ovinos ($P < 0.05$).

Figura 1

Longitud de los prismas del esmalte en humanos, bovinos, porcinos y ovinos

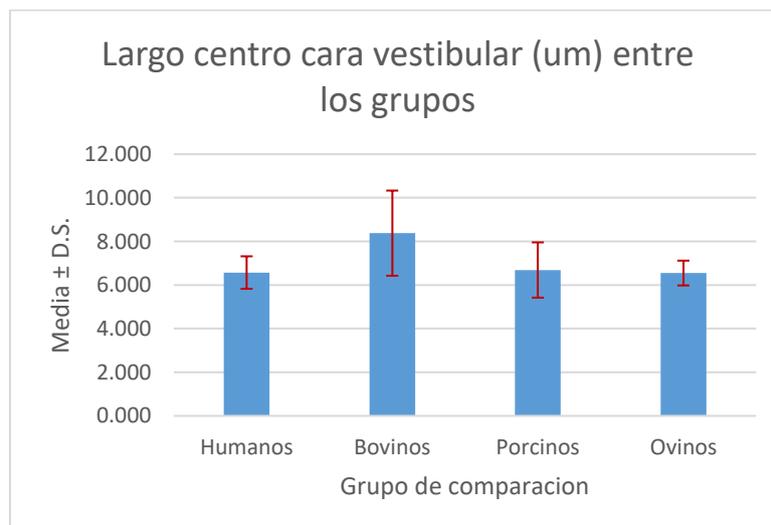


Tabla 3

Anchura de los prismas del esmalte en humanos, bovinos, porcinos y ovinos

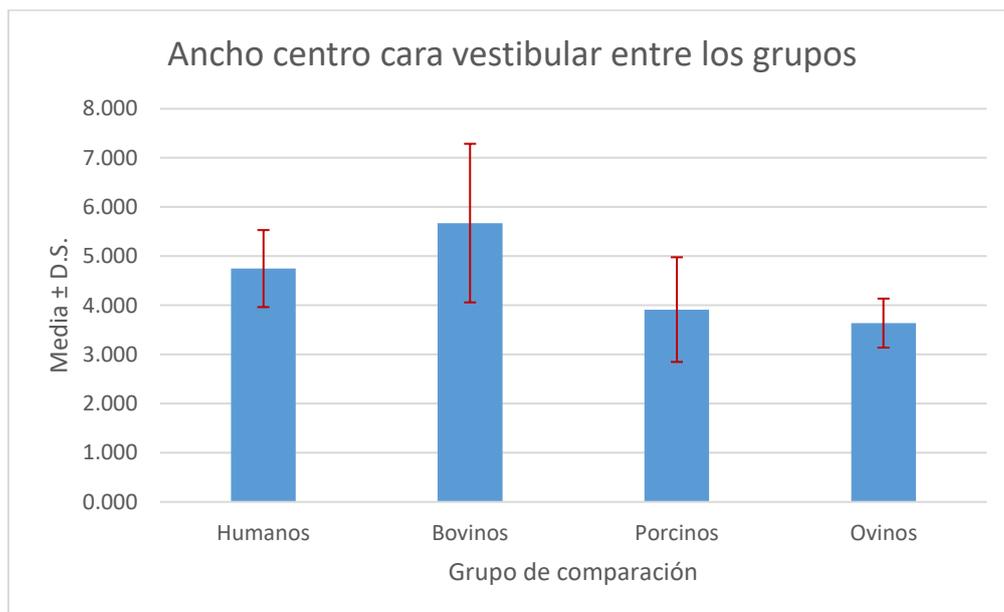
Grupo	Media	D.S.	N°	F	P
Humanos	4.747	0.784	16	5.85	0.0031
Bovinos	5.673	1.614	16		
Porcinos	3.914	1.065	16		
Ovinos	3.638	0.498	16		

Prueba F. Fuente: base de datos

Nota. Con respecto a la anchura de los prismas del esmalte, se observa que los que presentaron el mayor promedio fueron los bovinos con 5.673 um, seguido por los humanos con 4.747 um, por último, los porcinos con 3.914 um y los ovinos con 3.638 um. Al comparar estos valores, se encontró diferencias significativas entre bovinos y porcinos ($P < 0.05$) y también entre bovinos y ovinos ($P < 0.05$).

Figura 2

Anchura de los prismas del esmalte



V. Discusión de Resultados

Este estudio tuvo como fin, evaluar histológicamente el esmalte dental en humanos, bovinos, porcinos y ovinos para poder apreciar cuál de estos tejidos dentales tiene valores iguales o cercanos al tejido dental humano, logrando sustituirlos en diferentes investigaciones científicas, promoviendo la odontología preventiva y conservadora, disminuyendo así el uso de estos sustratos y permitiendo una recolección más rápida y segura.

Los procedimientos ejecutados en este estudio como la recopilación, selección, almacenamiento, deshidratación, manipulación de las muestras y métodos de prueba para evaluar el esmalte dental de las cuatro especies a través de microscopía electrónica de barrido (MEB), se apoyaron en las descripciones determinadas por ISO/TS 11405/2003, se utilizó 64 especímenes correspondiendo para cada grupo o especie 16.

De los resultados obtenidos se encontró diferencias en la forma de los cuatro tejidos de esmalte, se debe resaltar que la forma encontrada al observar los prismas humanos a través de microscopía electrónica de barrido fue ojo de cerradura (ver tabla 1), este resultado ha sido encontrado por diferentes investigadores así como Navarro (2012) donde menciona que presenta esta misma forma, la que hace distinguir dos zonas en el prisma como la cabeza que va en dirección hacia la superficie y la cola que entra en contacto con la dentina.

Yilmaz (2018) en su investigación respecto a las observaciones obtenidas en la forma del esmalte bovino encontró en la región media una forma elíptica y zonas alargadas, con una anchura que va de 4-8 μm en promedio, lo que confirma una similitud en los resultados obtenidos en las muestras observadas, ya que la media encontrada en bovinos fue de 5.673 μm (ver tabla 3) y una forma elíptica alargada en los prismas.

Así mismo dentro de los resultados obtenidos en la longitud, se rescató que existe una diferencia entre los valores obtenidos en la longitud de los prismas de los bovinos, siendo el más grande con 8.379 μm (ver tabla 2) encontrando diferencia significativa respecto a humanos

y ovinos ($P < 0.05$). Estos resultados obtenidos muestran que los prismas más grandes en promedio fueron los prismas bovinos, confirmando los resultados obtenidos por Olek et al.(2020) donde comenta que la mayor longitud promedio encontrada fue el de bovinos con una media de $8.105 \mu\text{m}$.

En el esmalte porcinos existe una diferencia significativa respecto a humanos, bovinos y ovinos en el tiempo de grabado ya que requiere un mayor tiempo de exposición al agente grabador, nos confirma Olek et al. (2020) que un grabado más corto en el esmalte porcino es ineficaz para exponer la estructura de los prismas del esmalte y que puedan ser observados.

Al encontrar diferencias en la comparación de estas microestructuras podría darnos una idea de la evolución y desarrollo de los dientes adaptándose al medio donde se desarrollan, coincidiendo con el estudio de Wang (2021) donde nos menciona que los mamíferos tiene un origen evolutivo similar, la diferencia se atribuye a la adaptación dietética que generan cambios en las microestructuras como los prismas para cumplir con su función de protección hacia las microestructuras adyacentes (como la dentina).

VI. Conclusiones

- La observación del esmalte dental bovino, utilizando microscopia electrónica de barrido expone diferencias significativas respecto al esmalte humano en forma, longitud y anchura, por lo que no debe usarse como sustituto al tejido dental humano según estos indicadores.
- El esmalte porcino permitió encontrar diferencias significativas en forma y tiempo de grabado lo que restringe su uso como sustituto dental.
- La evaluación del esmalte dental ovino deja a la vista que pueden ser tomado como principal sustituto de sustrato dental humano ya que no se encontraron diferencias significativas.
- La adaptación del esmalte dental en los mamíferos (bovinos, porcinos y ovinos) a su ambiente ha permitido que se desarrollen cambios a nivel de sus microestructuras permitiendo mantener un soporte o protección a los tejidos adyacentes.

VII. Recomendaciones

- Realizar estudios que ayuden a complementar información sobre otras áreas del esmalte, con la finalidad de comparar prismas de las diferentes zonas del esmalte (incisal, media, cervical) en las cuatro especies.
- Realizar investigaciones complementarias como fuerza y resistencia a la fractura a nivel de esmalte, con el fin de saber el sustituto idóneo para esta área en los cuatro tejidos y compararlos.
- Se debería realizar investigaciones en tejido dental de las mismas especies a nivel de dentina, con el objetivo de comparar las estructuras de esta región.

VIII. Referencias

- Alberti, L., Más, M., Méndez, M., y Martínez, S. (2007). Histogénesis del esmalte dentario. Consideraciones generales. *Revista Archivo Médico de Camagüey*, 11(3), 3-5.
<http://scielo.sld.cu/scielo>
- Ayala, Y.; Carralero, L. y Leyva, B. (2018) La erupción dentaria y sus factores influyentes. *Correo Científico Médico*, 22(4), 681-694.
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1560-43812018000400013
- Barrancos, J. B. (2006) *Operatoria dental integración clínica*. (4ª ed.). Panamericana.
- Cabrera, J., Martínez, R., & Fernández, E. (2011). Microdureza del esmalte dental de los incisivos centrales permanentes de 2 genotipos bovinos. *Revista Medico Veterinaria Zootecnista MVZ*, 16(1), 2310-2316.
- Carrero, H. (2005). Manual de producción porcícola. *Sena* (pp. 7-14).
<http://www.ciap.org.ar/Sitio/Archivos/Manual%20de%20produccion%20porcicola.pdf>
- Carrillo, C. (2018). Michael G. Bounocore, father of modern adhesive dentistry, 63 years of the development of the Enamel Etching technique. *Revista ADM*, 75(3), 135-142.
- Cuellar, J., García, E., y Aguilar, C. (2011). Manual práctico para la cría ovina. *Revista Veterinaria Argentina*, pp. 29-33.
- Daza, L., Sarmiento, L., y Guiza, E. (2005). Determination of the pattern etching with laser and 37% orthophosphoric acid on the dental enamel. *Universitas Odontologica*, 25(56), 31-40.
- Ferguson, D. B., Shuttleworth, A., y Whittaker, D. K. (1999). *Oral bioscience*. Churchill Livingstone.

- Flury, S. (2011). Principios de la adhesión y de la técnica adhesiva, *Quintessenz Team – Journal*, 41(2), 595-600. <https://www.elsevier.es/es-revista-quintessence-9-pdf-S021409851200219X>
- Gallegos, C. (2008). Los dientes cuentan la historia, *Revista digital de Arqueología de Cuba y el Caribe*, 1(1), 25-29.
- García-Godoy, F. y Hicks, M. (2008) Maintaining the integrity of the enamel surface: the role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. *Journal of the American Dental Association*, pp.25-34. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2008.0352>
- Ghaeth, H. Yassen, Jeffrey, A. y Platt, A. (2011) Bovine teeth as substitute for human teeth in dental research: a review of Department of Preventive and Community Dentistry *Journal of oral science*, 53(3), 273–282. <https://doi.org/10.2334/josnusd.53.273>
- Giráldez, L. (2014) *Caracterización mecánica del esmalte tratado con peróxido de hidrógeno a alta concentración* [Tesis doctoral, Universidad Rey Juan Carlos de Madrid]. BURJC Digital. <https://burjcdigital.urjc.es/bitstream/handle/10115/12480/TESIS%20DOCTORAL%20Isabel%20Gir%C3%A1ldez.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Gómez, M. y Campos, A. (2009). *Histología, Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental*. Panamericana.
- González, L., Úsuga, M. y Torres, C. (2014) Biobanco de dientes humanos para investigación en odontología. *Acta Odontológica Colombiana* 4(1), 9-21. <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/actaodontocol>
- Guzmán, C. (2007). *Estudio comparativo in vitro al microscopio electrónico de barrido del efecto sobre el esmalte dental de la técnica de grabado ácido convencional v/s tres sistemas adhesivos autograbantes*. [Tesis de pregrado, Universidad de Chile].

Repositorio Académico de la Universidad de Chile.

<https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/139594/Estudio-comparativo-in-vitro-al-microscopio-electr%C3%B3nico-de-barrido-del-efecto-sobre-el-esmalte-dental.pdf?sequence=1>

- Lezcano, M., Navarro, J., Gili, M. y Zamudio, M. (2016). Caracterización histológica de tejidos dentarios bovinos con utilización del microtomo isomet en la técnica histológica. <https://www.actaodontologica.com/ediciones/2016/1/art-2/>
- Lopes, F., Markarian, R., Sendyk CL, Duarte, C. y Arana- Chavez, V. (2006) Swine teeth as potential substitutes for in vitro studies in tooth adhesion: a SEM observation. *Arch Oral Biol.* 51(7), 48–51.
- Luz, I. (2011). *Cronología dentaria de los bovinos*. Argentina. D.Sc. Produção Animal https://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/denticion_y_protesis/27-Cronologia_dentaria.pdf
- Martinez, R., y Abbiati, N. (2011). Factores que influyen en el desgaste dental de los bovinos. *Revista Veterinaria Argentina*, 28(277), 1-4. https://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/denticion_y_protesis/22-Desgaste.pdf
- Mayoral, J. y Mayoral, G. (1984) Desarrollo de los dientes y la oclusión. En: Ortodoncia Principios fundamentales y práctica. *La Habana: Científico – Técnica* (pp.59- 72).
- Navarro, R. (2012). *Estudio mediante microscopio electrónico de barrido de los efectos producidos por coca-cola y schweppes limón en el esmalte intacto y en el esmalte grabado y sellado con una resina ortodóncica* [tesis fin de grado, Universidad de Murcia]. Digitum. <http://hdl.handle.net/10201/26885>
- Nogueira, B., Fernandes, P., Paiva, P., Fagundes, N., Teixeira, F. y Lima, R. (2014). Avaliação comparativa da ultraestrutura e propriedades físicas do esmalte bovino,

- bubalino e humano. *Pesq. Vet. Bras.* 34(5), 485-490.
<https://www.scielo.br/j/pvb/a/YhZdrhHGTyWpcHTzzbBGdPt/?format=pdf&lang=pt>
- Nylen, M. (1992). Electron microscope and allied biophysical approaches to the study of enamel mineralization. *Journal. Royal Microscopical Society (Great Britain)*, 83, 135–141. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2818.1964.tb00522.x>
- Olek, A., Klimek, I., y Boltacz, E. (2020). Comparative scanning electron microscope analysis of the enamel of permanent human, bovine and porcine teeth. *Journal of veterinary science*, 21(6), 83. <https://doi.org/10.4142/jvs.2020.21.e83>
- Paz, M. (2011) *Maduración y desarrollo de los dientes permanentes en niños de la comunidad de Madrid: aplicación a la estimación de la edad dentaria* [Tesis de investigación, Universidad Complutense de Madrid Facultad de Odontología de Madrid]. Eprints. https://eprints.ucm.es/id/eprint/19916/1/Marta_Paz_Cort%C3%A9s-trabajo_de_investigaci%C3%B3n.pdf
- Posada, M., Sánchez, C., Gallego, G., Peláez Vargas, A., Restrepo, L., y López, J. (2009). Dientes de bovino como sustituto de dientes humanos para su uso en la odontología. *CES Odontología*, 19(1), 63-68.
<http://revistas.ces.edu.co/index.php/odontologia/article/view/188>
- Quesada, J., Porra, R., Torres, J. y Hernández, T. (2014). Grabado del esmalte en dientes temporales: evaluación con microscopía electrónica de barrido. *Oral* 15(48), 1138-1141. <https://www.medigraphic.com/pdfs/oral/ora-2014/ora1448h.pdf>
- Reyes, G., Bonomie, J., Guevara, E., Palacios, M., Malgosa, A., Chimenos, E., Jordana, X. y García-Sívoli, C. (2010) El sistema dental y su importancia en el estudio de la evolución humana: Revisión bibliográfica. *Boletín Antropológico*. 28(78), 16-43.
- Rodríguez, J. (2003). *Dientes y Diversidad Humana, Avances de la Antropología Dental*. Editora Guadalupe Ltda.

- Rodríguez, L. (2014). Impacto de la caudofagia y descolmille en el bienestar animal en porcinos de engorde. *Spei Domus* 10(21), 63-67. <http://dx.doi.org/10.16925/sp>
- Romero, Y. (2015). *Evaluación de la Condición Corporal y Edad de los ovinos*. Temuco: Informativo INIA Carillanca (pp. 1-4). <https://www.inia.cl/>
- Sampieri, H. (2014). *Metodología de la investigación*. (6a ed.). McGraw-Hill.
- Suárez, D., García, C., Velazco, G., y Ortiz, R. (2010). Análisis ultraestructural del tejido adamantino vs polímero de obturación directa. *Odous Científica*, 11(2), 6-16. <https://biblat.unam.mx/es/revista/odous-cientifica/articulo/analisis-ultraestructural-del-tejido-adamantino-vs-polimero-de-obturacion-directa>
- Teruel, J. (2017). *Estudio comparativo de la composición y estructura cristalina del esmalte y dentina humano, bovino, ovino y cerdos* [Tesis doctoral, Universidad de Murcia] <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2017.12.012>
- Tinari, M., Lynch, G., Mc Cormick, M. y Simonetti, L. (2010) Determinación de la edad en el ovino: práctica de boqueo. https://www.produccion-animal.com.ar/produccion_ovina/produccion_ovina/228-tinari_et_al.pdf
- Wang, C., Fang, Y., Zhang, L., Su, Z., Xu, J., & Fu, B. (2021). Enamel microstructural features of bovine and human incisors: A comparative study. *Annals of anatomy, Official organ of the Anatomische Gesellschaft*, 235. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2021.151700>
- Yilmaz, E. (2018) On the systematic documentation of the structural characteristics of bovine enamel: A critic to the protein sheath concept. *Dental Materials*. 34(10), 1518-1530. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2018.06.006>

IX. Anexos**Anexo A***ISO/TS11405-2003***TECHNICAL
SPECIFICATION****ISO/TS
11405**Second edition
2003-02-01

**Dental materials — Testing of adhesion
to tooth structure***Produits dentaires — Essai d'adhésion à la structure de la dent*Reference number
ISO/TS 11405:2003(E)

© ISO 2003

ISO/TS 11405:2003(E)**PDF disclaimer**

This PDF file may contain embedded typefaces. In accordance with Adobe's licensing policy, this file may be printed or viewed but shall not be edited unless the typefaces which are embedded are licensed to and installed on the computer performing the editing. In downloading this file, parties accept therein the responsibility of not infringing Adobe's licensing policy. The ISO Central Secretariat accepts no liability in this area.

Adobe is a trademark of Adobe Systems Incorporated.

Details of the software products used to create this PDF file can be found in the General Info relative to the file; the PDF-creation parameters were optimized for printing. Every care has been taken to ensure that the file is suitable for use by ISO member bodies. In the unlikely event that a problem relating to it is found, please inform the Central Secretariat at the address given below.

© ISO 2003

All rights reserved. Unless otherwise specified, no part of this publication may be reproduced or utilized in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopying and microfilm, without permission in writing from either ISO at the address below or ISO's member body in the country of the requester.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

Published in Switzerland

Contents

Page

Foreword	iv
Introduction	v
1 Scope	1
2 Normative references	1
3 Terms and definitions	1
4 Sampling	2
5 Test methods	2
5.1 General	2
5.2 Bond strength tests	2
5.3 Gap measurement test for adhesion to dentine	7
5.4 Microleakage test	8
5.5 Clinical usage tests	10
Annex A (informative) Test methods for measurement of bond strength	13
Bibliography	15

ISO/TS 11405:2003(E)

Foreword

ISO (the International Organization for Standardization) is a worldwide federation of national standards bodies (ISO member bodies). The work of preparing International Standards is normally carried out through ISO technical committees. Each member body interested in a subject for which a technical committee has been established has the right to be represented on that committee. International organizations, governmental and non-governmental, in liaison with ISO, also take part in the work. ISO collaborates closely with the International Electrotechnical Commission (IEC) on all matters of electrotechnical standardization.

International Standards are drafted in accordance with the rules given in the ISO/IEC Directives, Part 2.

The main task of technical committees is to prepare International Standards. Draft International Standards adopted by the technical committees are circulated to the member bodies for voting. Publication as an International Standard requires approval by at least 75 % of the member bodies casting a vote.

In other circumstances, particularly when there is an urgent market requirement for such documents, a technical committee may decide to publish other types of normative document:

— an ISO Publicly Available Specification (ISO/PAS) represents an agreement between technical experts in an ISO working group and is accepted for publication if it is approved by more than 50 % of the members of the parent committee casting a vote;

— an ISO Technical Specification (ISO/TS) represents an agreement between the members of a technical committee and is accepted for publication if it is approved by 2/3 of the members of the committee casting a vote.

An ISO/PAS or ISO/TS is reviewed after three years in order to decide whether it will be confirmed for a further three years, revised to become an International Standard, or withdrawn. If the ISO/PAS or ISO/TS is confirmed, it is reviewed again after a further three years, at which time it must either be transformed into an International Standard or be withdrawn.

Attention is drawn to the possibility that some of the elements of this document may be the subject of patent rights. ISO shall not be held responsible for identifying any or all such patent rights.

ISO/TS 11405 was prepared by Technical Committee ISO/TC 106, *Dentistry*, Subcommittee SC 1, *Filling and restorative materials*.

This second edition cancels and replaces the first edition (11405:1994), which has been technically revised.

Introduction

The increasing importance of adhesion in restorative dentistry has made it evident that information is needed on the relative performance of materials that are claimed to bond to tooth structure. In the absence of comparative clinical trials, much emphasis has been placed on laboratory assessment of bond strength. While bond strengths cannot predict exact clinical behaviour, they may be useful for batch quality control.

Adhesive materials are used in many types of restorative and preventive work. Even if the stress on the bond in most circumstances can be defined as either tensile, shear or a combination of these, there are no specific laboratory or clinical tests which can be valid for all the various clinical applications of adhesive materials.

It is, therefore, intended with this Technical Specification to standardize as far as possible different laboratory procedures whereby the effect or quality of a bond between a dental material and tooth structure can be substantiated. By gaining experience with a specific testing system, a correlation between laboratory and clinical performance of the materials can be sought.

Dental materials — Testing of adhesion to tooth structure

1 Scope

This Technical Specification gives guidance on substrate selection, storage and handling as well as essential characteristics of different test methods for quality testing of the adhesive bond between restorative dental materials and tooth structure, i.e. enamel and dentine. It specifies two bond strength measurements tests (tensile and shear), a test for measurement of marginal gaps around fillings and a microleakage test, as well as giving recommendations on clinical usage tests for such materials. It also presents some specific test methods for bond strength measurements.

2 Normative references

The following referenced documents are indispensable for the application of this document. For dated references, only the edition cited applies. For undated references, the latest edition of the referenced document (including any amendments) applies.

ISO 3696:1987, *Water for analytical laboratory use — Specification and test methods*

ISO 3823-1:1997, *Dental rotary instruments — Burs — Part 1: Steel and carbide burs*

ISO 6344-1:1998, *Coated abrasives — Grain size analysis — Part 1: Grain size distribution test*

ISO 14155-1¹⁾, *Clinical investigation of medical devices for human subjects — Part 1: General requirements*

ISO 14155-2¹⁾, *Clinical investigation of medical devices for human subjects — Part 2: Clinical investigation plans*

3 Terms and definitions

For the purposes of this document, the following terms and definitions apply. See also [1], [2].

3.1

adhere

to be in a state of adherence

3.2

adherence

state in which two surfaces are held together by interfacial forces

3.3

adherend

body that is held or is intended to be held to another body by an adhesive

1) To be published. (Replaces ISO 14155:1996)

ISO/TS 11405:2003(E)

3.4

adhesion

state in which two surfaces are held together by chemical or physical forces or both with the aid of an adhesive

3.5

adhesive

substance capable of holding materials together

3.6

bond strength

force per unit area required to break a bonded assembly with failure occurring in or near the adhesive/adherend interface

3.7

microleakage

passage of substances such as saliva, ions, compounds, or bacterial by-products between a cavity wall and the restorative material

3.8

substrate

material upon the surface of which an adhesive is spread for any purpose, such as bonding or coating

4 Sampling

The amount of test material should be sufficient for all planned tests and be from the same batch.

5 Test methods

© 2003

All rights reserved.

5.1 General

This Technical Specification describes essential characteristics of various types of tests:

- a) bond strength measurements — tensile and shear;
- b) gap measurement test for adhesion to dentine;
- c) microleakage test;
- d) clinical usage tests.

For substrate selection, storage and handling, specific characteristics are given in detail. While for the apparatus used for bond strength measurements, general guidelines are given. It is not the intention to recommend testing each material by every test, as some tests will not be appropriate. However, the quality and sophistication of a laboratory test cannot compensate for the fact that the final evidence of adhesive properties must be a clinical usage test.

5.2 Bond strength tests

5.2.1 Overview

Adhesive materials are used for many different purposes in the mouth. The choice of test must be considered according to the intended use of the material. This Technical Specification specifies two types of tests: tensile and shear. In addition, several variations are described, such as application in thin film and bulk, short or long exposure time in a wet environment. A set of tests could be necessary for the proper evaluation of the bond strength of a material. When bond strength is to be measured, the raw data will be in units of force (newtons).

It is necessary to convert this into stress units — i.e. force per unit area in megapascals. Hence, control of the area and smoothness of the surface for application of the adhesive material are paramount.

Several apparatus are available for measuring the tensile or shear bond strength of an adhesive system. The critical requirements for selection of a suitable instrument for the small and sometimes fragile specimens are the following:

- the ability to mount the tooth/material specimen in the apparatus and the universal testing machine without application of load (tensile, bending, shear or torsion) on the specimen;
- a rigid construction, in order to avoid elastic deformation (or displacement) of the apparatus and the connection to the testing machine;
- for tensile testing, the ability to apply a slow and even tensile load and to align the specimen to avoid uneven stress distribution during loading;
- for shear testing, the ability to apply a load at a clearly defined area and position on the specimen, to secure an exact position for the specimen during loading until fracture, and to have an absolute minimum of friction during movement of the load applicator (shearing blade).

5.2.2 Tooth substrate and storage

5.2.2.1 Substrate

Human permanent premolars/molars or bovine mandibular incisors of animals not more than five years old should be used for the measurement of bond strength.

When measuring bond strength to human dentine, the superficial dentine (i.e. as close to enamel as possible) on the buccal surface should be used in order to reduce variations. It is preferable to use third permanent molars from 16- to 40- year-old individuals if possible.

5.2.2.2 Time after extraction

There is increasing evidence that changes in dentine occurring after extraction could influence bond strength measurements. The effect may vary with different types of bonding materials. Ideally, bond strengths should be measured immediately post-extraction, but this is not generally feasible. It appears that most changes occur in the initial days or weeks after extraction. Therefore, teeth one month, but not more than six months, after extraction should be used.

NOTE Teeth that have been extracted for longer than six months could undergo degenerative changes in dentinal protein.

5.2.2.3 Condition of teeth

Human teeth used for bond strength measurement should be caries-free and preferably unrestored. However, small and superficial restorations not in the adhesion test area may be present. Root filled teeth should not be used.

There is some evidence to suggest that different teeth in the dentition may give different results with bonding to dentine and enamel. It is neither possible to have complete control of variables such as age of the donating patient, cultural and dietary history or state of health, nor to standardize the composition and structure of the teeth.

5.2.2.4 Storage of teeth

Immediately after extraction, the teeth should be thoroughly washed in running water and, in the case of human teeth, all blood and adherent tissue removed, preferably by the clinician. The soft tissue in the pulp chamber of bovine teeth should be mechanically removed.

ISO/TS 11405:2003(E)

The teeth should then be placed in distilled water (grade 3, ISO 3696) or in a 0,5 % chloramine-T trihydrate bacteriostatic/bacteriocidal solution for a maximum of one week, and thereafter stored in distilled water either in a refrigerator (i.e. nominal 4 °C), or frozen at below –5 °C. To minimize deterioration, the storage medium should be replaced periodically. It is essential that no other chemical agents be used, as they may be absorbed by, and alter, tooth substance.

5.2.2.5 Tooth surface preparation

A standard, reproducible, flat surface is required. Tooth surfaces should be kept wet at all times. Exposure of a tooth surface to the air for several minutes may cause irreversible changes in bonding character. Dentine is especially sensitive to dehydration.

To control the planing and the angle of the surface during preparation, the tooth should be mounted in a holder by means of dental die stone or cold-curing resin.

The absorption of resin and the heat of polymerization may adversely affect the tooth. Use a slow-setting, viscous resin. The pulp chamber of bovine teeth should be blocked (e.g. by wax) to prevent penetration of resin into dentin.

Ensure that the tooth has form, undercuts, holes or retentive pins that will secure retention in the mounting medium. The part of the tooth of interest for planing, polishing and bonding should be positioned above the upper surface of the mounting material so that polishing can be performed without contaminating the tooth surface with traces of the mounting material. Place the mounted tooth in water at (23 ± 2) °C as soon as possible.

Resins will set under water. Gypsum materials should be allowed to set in 100 % relative humidity, an

A standard surface should be prepared by planing against silicon carbide abrasive paper with a grit size of P600 in accordance with ISO 6344-1:1998 [median grain size $(25,8 \pm 1)$ µm] under running water.

Plane the exposed surface of the tooth on the wet carborundum paper fixed to a hard, plane surface. Grind until the surface is even and smooth when inspected by 2× magnification. Discard teeth that have perforations into the pulp chamber.

5.2.2.6 Application of adhesive

The tooth surface prepared for application of adhesive material should be preconditioned according to the manufacturer's instructions. If no instructions are given, rinse with running water for 10 s and remove visible water on the surface with a filter paper or by a light/brief stream of oil-free compressed air immediately before application of the adhesive material. Mix if necessary and apply the adhesive material according to the manufacturer's instructions. The procedure should be performed at (23 ± 2) °C and (50 ± 5) % relative humidity.

5.2.3 Treatment of results

The bond strength values obtained by tensile or shear testing generally show large coefficients of variation — i.e. 20 % to 50 % — and should be tested statistically by an appropriate method. If the variation is above 50 %, a thorough inspection of the overall procedure is recommended.

Bond strength results should be based on sound statistical methods and a sufficient number of specimens. If the data are normally distributed, a mean, standard deviation and coefficient of variation can be calculated. Means can be compared by analysis of variance (ANOVA). However, very often results from adhesion testing are not normally distributed. Therefore, the use of probability of failure, calculated from the Weibull distribution function, provides a suitable means of comparing many materials [3]. The stress to give 10 % failure (P_{f10}) and that to give 90 % failure (P_{f90}) are convenient ways of characterizing the strength of a bond. A minimum of 15 specimens is required in each group for the application of Weibull statistics.

5.2.4 Tensile bond strength

5.2.4.1 General requirements

Two critical parameters should be considered when designing test equipment and preparing specimens for tensile testing of bond strength:

- a) alignment of the tensile forces acting on the specimen;
- b) a clear limitation of the bonding area.

5.2.4.2 Alignment

The test apparatus should secure alignment between substrate and adhesive material, i.e. the tensile force should be applied at a 90° angle in respect of the planed substrate surface.

The connection between the apparatus and the crosshead of the universal testing machine should be by a universal joint, chain or string.

5.2.4.3 Adhesive and/or adherend material in bulk

If it is intended that the adhesive be applied as a thin film with the adherend material in bulk, or that the adhesive material be applied in bulk, a limitation of the bonding area is important. This can be achieved by a material holder having a sharp edge contacting the tooth surface and able to stabilize the material or materials on the tooth surface for curing.

For light-curing adhesives or adherend materials, the material holder should give sufficient access to the curing light (e.g. by being made partly or totally of a transparent material).

When using material holders for multiple uses, coat the inner part of the material holder with a mould-releasing agent. Avoid coating the edge of the holder. Apply a thin layer of the adhesive material onto the tooth surface. Fill the material holder to slight excess with the adhesive or the adherend material and place it firmly in the correct position on the tooth. Ensure that the material holder maintains contact with the tooth surface in the correct alignment during fixation. The fixation of the material holder should be finished within the manufacturer's stated working time of the adhesive material.

5.2.4.4 Adhesive material as thin film and adherend material as preformed rod

When using a preformed rod as the adherend material, fix to the planed tooth surface a thin tape of material non-reactive with the adhesive and having a hole of the same dimensions as the contact area of the rod. Apply a thin layer of the adhesive material on the tooth surface inside the hole in the tape and lower the adherend rod to contact the adhesive material inside the hole. Fix the rod in exact position and alignment and place a load of 10 N on top for 10 s. The total procedure from application of the material to the fixation of the upper rod should be performed within the manufacturer's stated working time. Remove the tape after curing, without applying any adverse force on the bonded specimen. See also 5.2.5.3.2.

5.2.4.5 Storage of test specimens

Test specimens should be prepared at $(23 \pm 2) ^\circ\text{C}$ and stored in water at $(37 \pm 2) ^\circ\text{C}$ prior to testing. Storage in water for 24 h is normally sufficient to discriminate between those materials that cannot and those that can withstand a wet environment. Thermal cycling between 5 °C and 55 °C may be used as an accelerated ageing test. Longer periods of water storage may be necessary to show durability of the bond.

The recommended procedures are the following.

- Test type 1: short-term test after 24 h in water at 37 °C.

Anexo C*Constancia de visualización MEB del Laboratorio de Ciencias Biológicas de la UNMSM.*

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Constancia de Visualización MEB**

Por el presente documento dejamos constancia que la Srta. Esmeralda Cabrera Olivera, ex alumna de la Universidad Nacional Federico Villarreal, desarrolló el montaje de muestras, metalizado y visualización en Microscopio Electrónico de Barrido MEB-SEM, con el objetivo de desarrollar y obtener resultados para su trabajo de tesis titulado:

"EVALUACIÓN COMPARATIVA HISTOLÓGICA DEL ESMALTE DENTAL EN HUMANOS, BOVINOS, PORCINOS Y OVINOS"

Estos procedimientos fueron realizados en el Laboratorio de Equipamiento Especializado (LEE) de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNMSM en el mes de noviembre del presente año, se expide este documento dejando constancia de la misma.

Lima 30 de noviembre del 2021.

Atentamente



Dr. TITO LIBIO SÁNCHEZ ROJAS
Director CEE
Coordinador LEE-FCB-UNMSM

Anexo D

Constancia de Ejecución de High Technology Laboratory



- LABORATORIO ESPECIALIZADO EN ENSAYOS MECÁNICOS DE MATERIALES.
- LABORATORIO ESPECIALIZADO EN CALIBRACIONES.

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN

N°031-2021

EL QUE SUSCRIBE JEFE DEL LABORATORIO HIGH TECHNOLOGY LABORATORY CERTIFICATE S.A.C. DEJA CONSTANCIA:

Es grato dirigirme a Ud. para saludarlo a nombre del laboratorio HIGH TECHNOLOGY LABORATORY CERTIFICATE S.A.C; así mismo comunicarle la ejecución del proyecto de tesis denominado "EVALUACIÓN COMPARATIVA HISTOLÓGICA DEL ESMALTE DENTAL EN HUMANOS, BOVINOS, PORCINOS Y OVINOS". donde se realizó Cortes y pulidos de diferentes tipos de diente odontológicos, que se encuentra realizado la tesista Esmeralda Cabrera Olivera, con DNI: 47572703; Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Federico Villarreal.

Se expide la presente a solicitud del interesado, para los fines que estime conveniente.

Lima, 30 de Noviembre del 2021



ROBERT NICK EUSEBIO TEHERAN

Jefe de Ensayo Mecánicos

Laboratorio HTL Certificate

HIGH TECHNOLOGY LABORATORY CERTIFICATE SAC

Boulevard Los Mirables Nro. 1319 Lote 48 Mz. M Urb. Los Jardines 2da Etapa San Juan de Lurigancho
Telf.: +51(01) 4065 215 - 997 123 584 Lunes a Viernes de 08:00 am - 07:00 pm - Sábados de 09:00 am - 5:00 pm
E-mail.: robert.etmec@gmail.com

Anexo E

Extracción de dientes humanos, bovinos, porcinos y ovinos



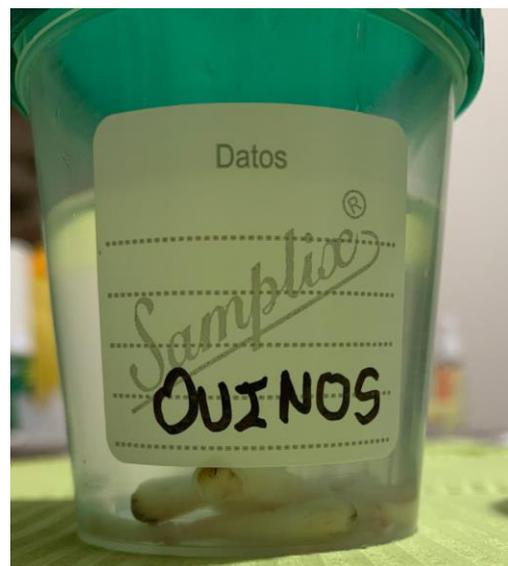
Anexo F

Extracción de pulpa eliminación de tejido periodontal y corte de la raíz de cada diente



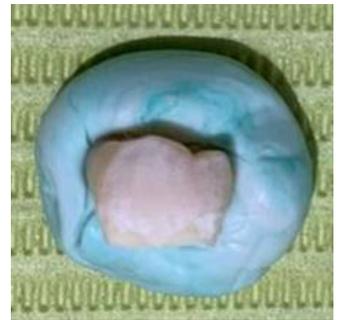
Anexo G

Se sumergió las muestras en agua destilada y colocadas a 4 grados centígrados



Anexo H

Colocación de las piezas en bases de silicona



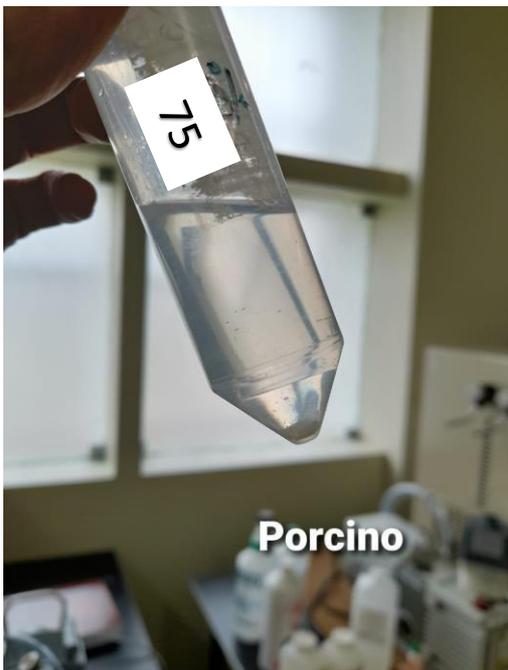
Anexo I

Deshidratación de las piezas en etanol al 25%, 50%, 75 – Humanos



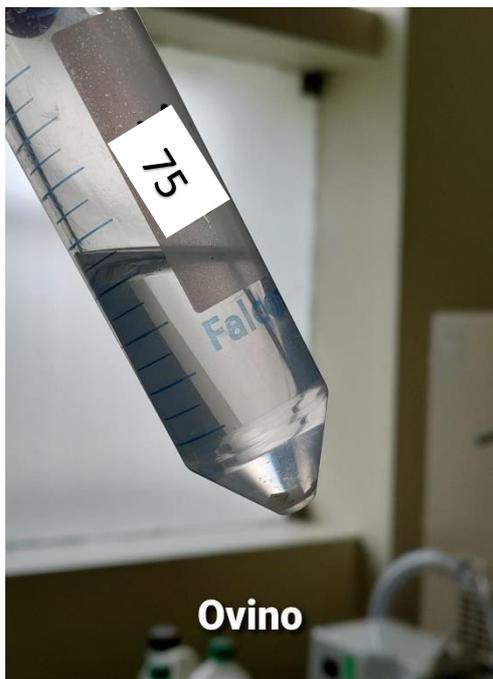
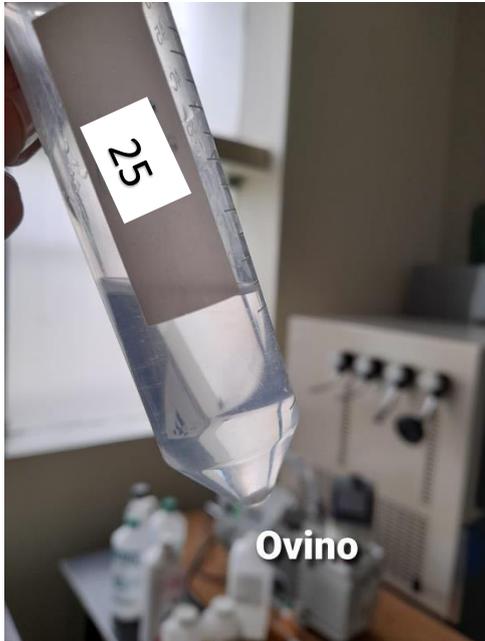
Anexo J

Deshidratación de las piezas en etanol al 25%, 50%, 75 – Porcinos



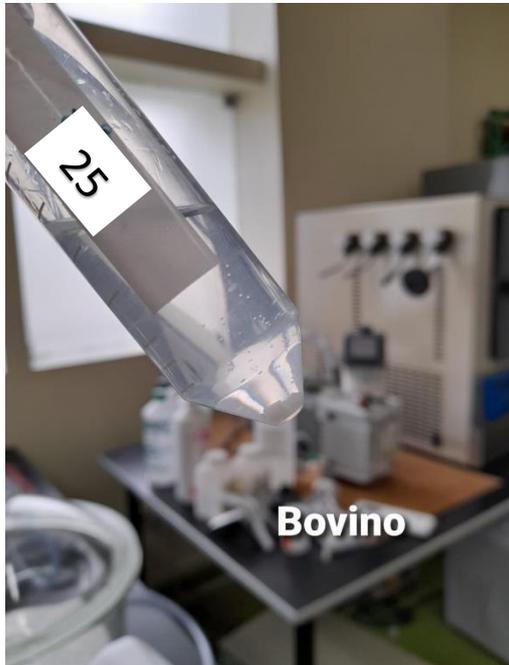
Anexo K

Deshidratación de las piezas en etanol al 25%, 50%, 75 – Ovinos



Anexo L

Deshidratación de las piezas en etanol al 25%, 50%, 75 – Bovinos



Anexo M

Piezas sumergidas en etanol por 20 minutos en cada gradiente



Anexo N

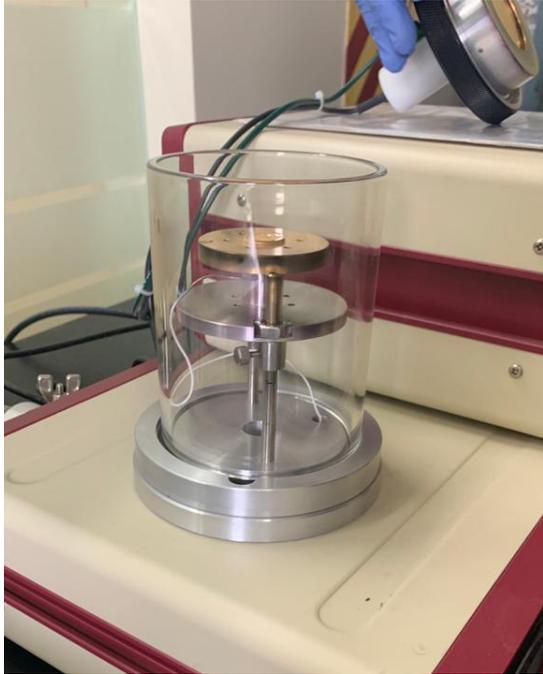
Colocamos las piezas en etanol absoluto y las llevamos al desecado de punto crítico



Anexo O*Alineamiento de muestras*

Anexo P

Colocamos las muestras en sputtering para ser roseadas en oro



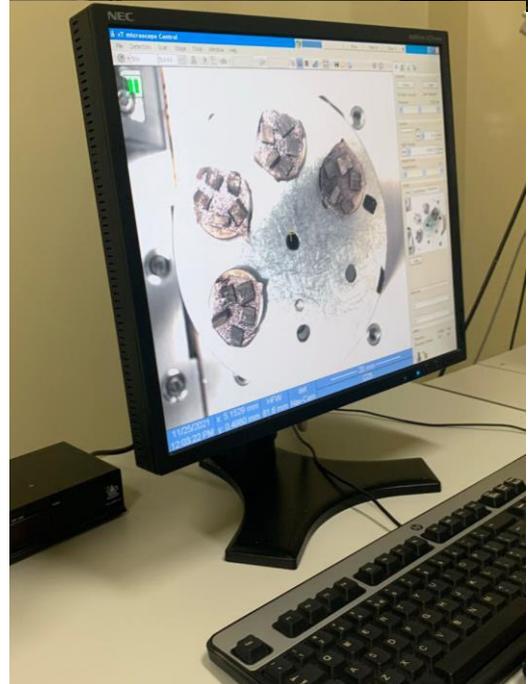
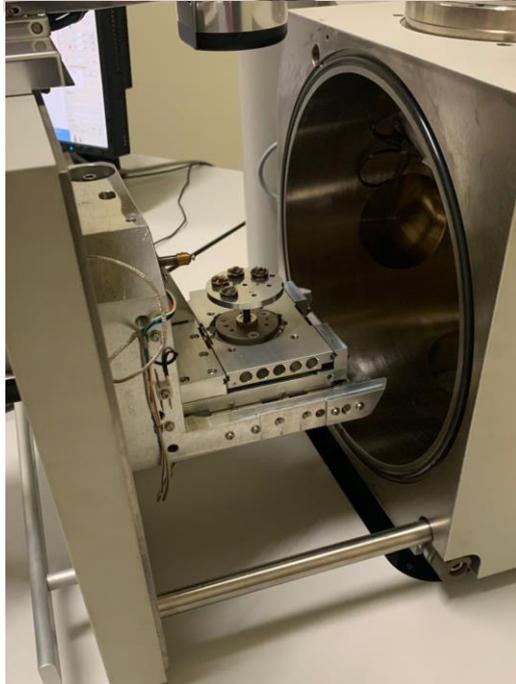
Anexo Q

Dejamos las muestras a menos de 20 grados durante 15 segundos



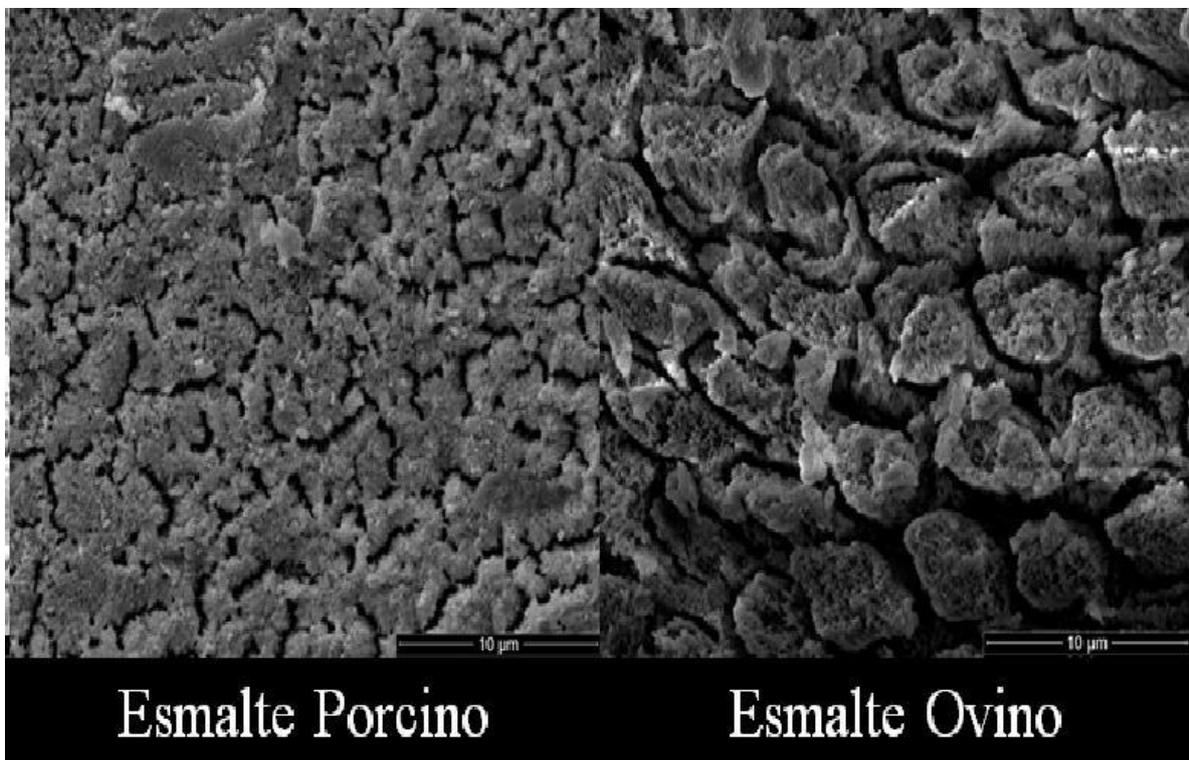
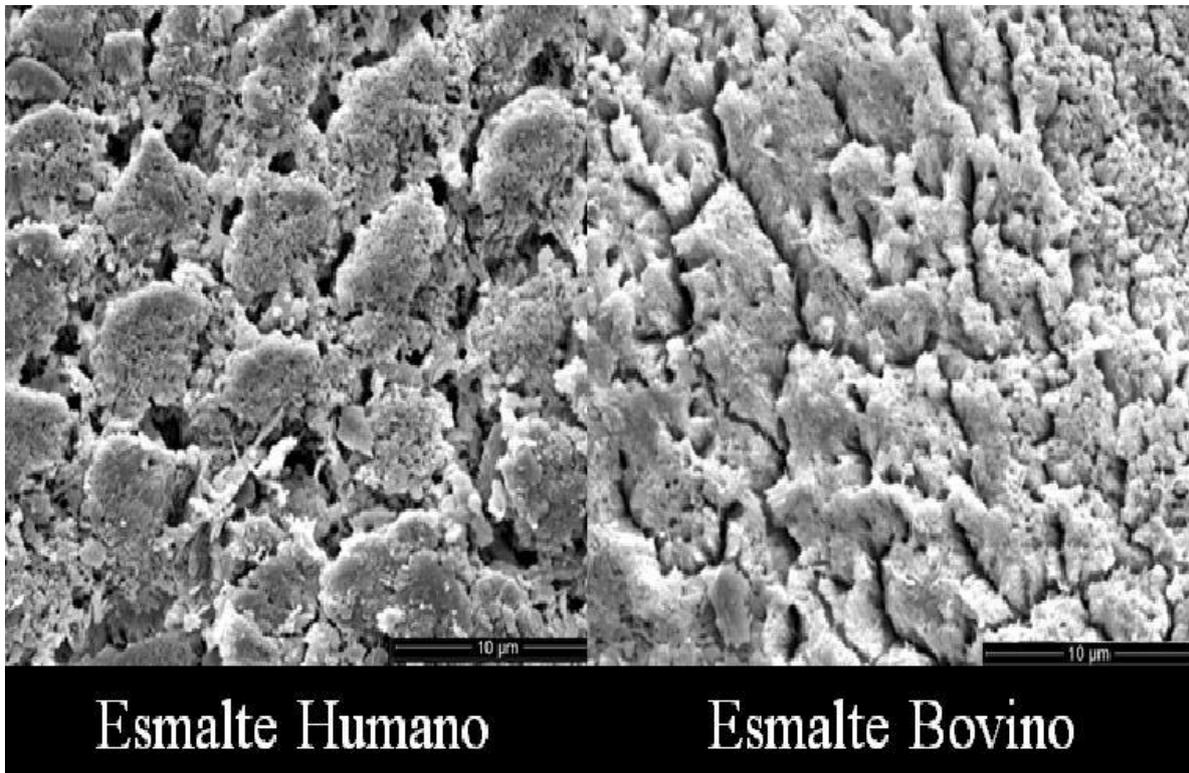
Anexo R

Colocamos las muestras dentro de la cámara del microscopio y observamos



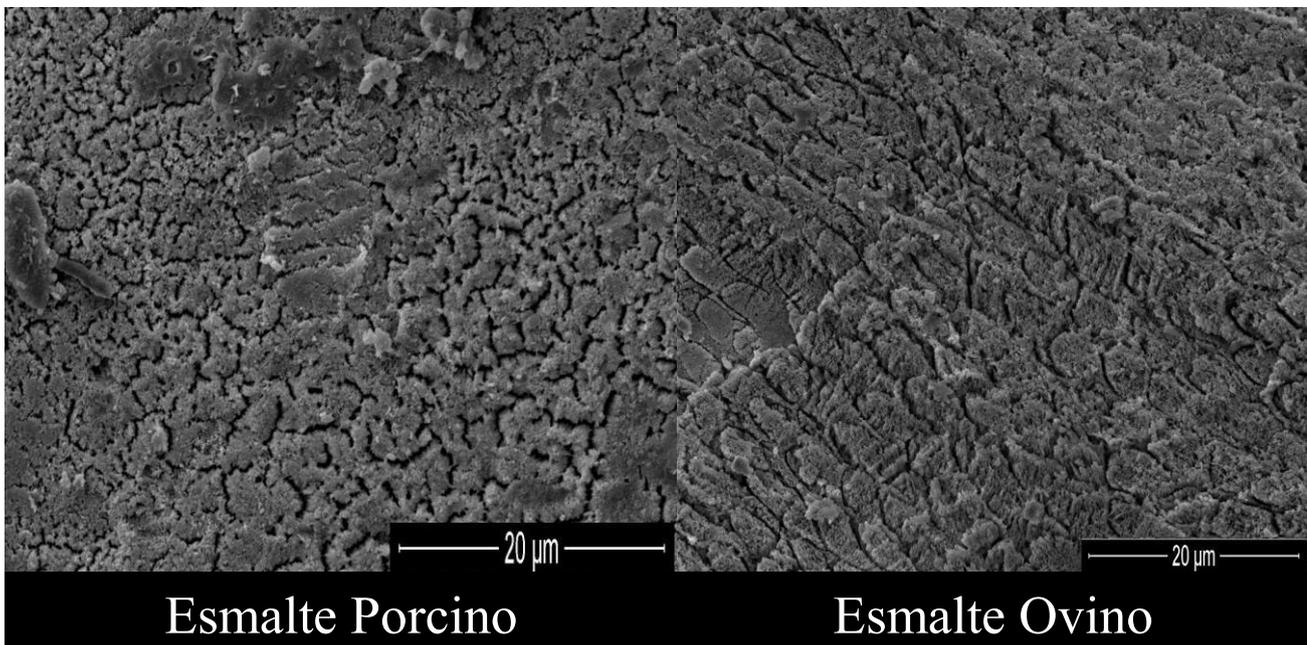
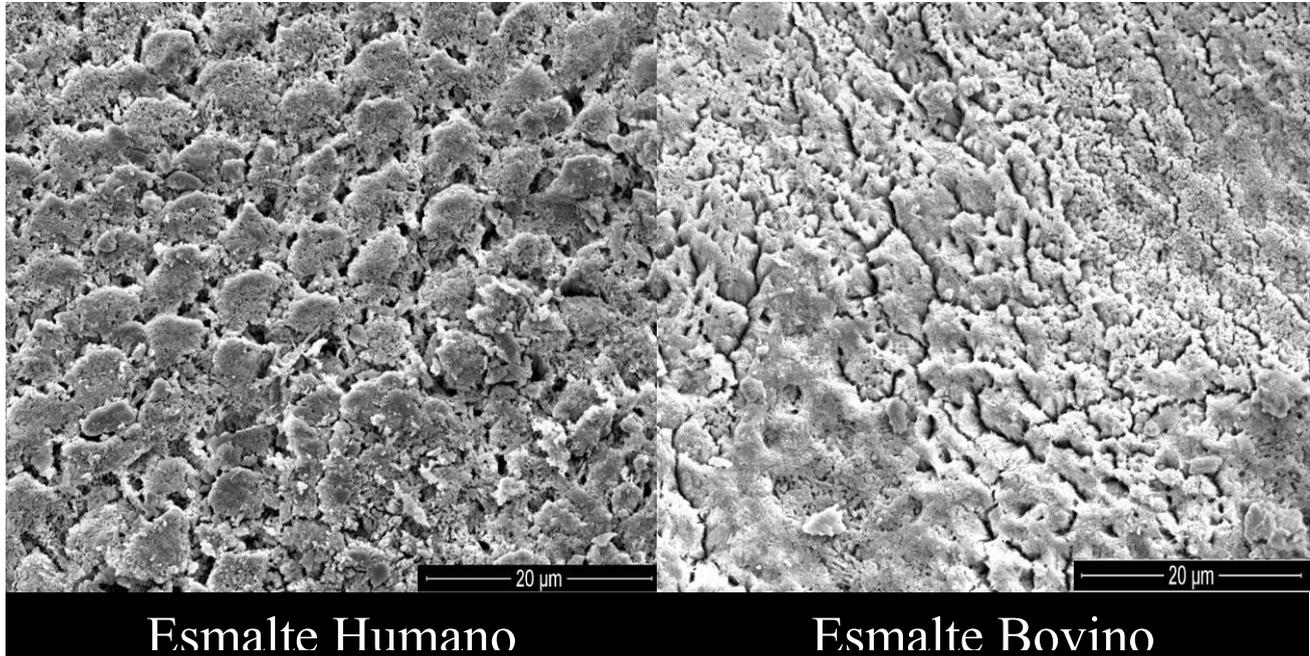
Anexo S

Observación de las muestras en microscopio electrónico de barrido 10um



Anexo T

Observación de las muestras en microscopio electrónico de barrido 20um



Anexo U

MATRIZ DE CONSISTENCIA

FORMULACION DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES					MATERIALES Y METODOS
¿Existirán diferencias histológicas en el esmalte dental humano, bovino, porcino y ovino?	OBJETIVO GENERAL	Dado que estructuralmente los dientes de bovinos, porcinos y ovinos están envueltos en una capa muy resistente que es el esmalte y cumplen funciones inherentes con los dientes humanos entonces no tendrá diferencias histológicas con el esmalte dental bovino, porcino y ovino, por lo que estos tejidos pueden ser sustitutos en los avances científicos y las futuras investigaciones mejorando el acceso y desarrollo.	DEFINICION	Dimisión	INDICADOR	ESCALA	VALOR	TIPO DE ESTUDIO, Observacional, transversal, prospectivo y comparativo.
	OBJETIVO ESPECIFICO		Esmalte dental es el sustrato más duro y con mayor concentración de calcio que cubre la dentina en la sección coronaria. Dicha resistencia lo convierte en la capa de protección más adecuada en el proceso de la masticación.	Características morfológicas de los prismas del esmalte	Forma de los primas del esmalte	Nominal	Ojo de cerradura Elíptica Hoja ovalada	
	Comparar histológicamente el esmalte dental humano, esmalte bovino, esmalte porcino y esmalte ovino				Longitud de los prismas del esmalte	Razón	0-X um	
	-Evaluar la forma de los prismas del esmalte en humanos, bovinos, porcinos y ovinos. -Evaluar la longitud de los prismas del esmalte en humanos, bovinos, porcinos y ovinos. -Evaluar la anchura de los prismas del esmalte en humanos, bovinos, porcinos y ovinos.				Anchura de los prismas del esmalte	Razón	0-X um	CRITERIO DE INCLUSION -Incisivos, premolares, molares y terceras molares sin caries (usaremos detector de caries: nombre comercial Redamin). -Incisivos, premolares, molares y terceras molares sin fracturas o desgaste coronal (observación clínica para comprobar que no tengan facetas de desgaste)

	<p>-Comparar los datos obtenidos en forma, longitud y anchura del esmalte dental en humanos, bovinos, porcinos y ovinos.</p>							<p>-Piezas extraídas un máximo de 3 meses.</p> <p>CRITERIO DE EXCLUSION</p> <p>-Tejido dental humano, bovino, porcino y ovino con la superficie muy dañada.</p> <p>-Incisivos, premolares, molares y terceras molares con alteraciones en la estructura del esmalte.</p> <p>-Piezas dentales de otros animales que no sean humanos, bovinos, porcinos y ovinos.</p>
--	--	--	--	--	--	--	--	---