

ULTRAMORFOLOGÍA DEL ESMALTE DENTAL DEL PERRO: ANÁLISIS POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO. INFORME PRELIMINAR

DOG DENTAL ENAMEL ULTRAMORPHOLOGY: ANALYSIS BY SCANNING ELECTRON MICROSCOPE. PRELIMINARY REPORT

Georgina DE PUCH, Viviana B. NEGRO, Sabás Z. HERNÁNDEZ.

Cátedra de Cirugía, Servicio de Cirugía del Hospital Escuela y Servicio de Odontología. Facultad de Ciencias Veterinarias - UBA. Chorroarín 280, CP: 1427, CABA, Argentina.

RESUMEN.

El esmalte de los mamíferos está constituido en un 90% por cristales de hidroxiapatita formando "prismas" y la sustancia interprismática que los rodea. Los prismas varían su forma según la especie y se organizan en algunos casos en forma paralela (Bandas de Hunter-Schreger) y, en otras, de manera entrecruzada. En el perro existe escasa información al respecto, por lo que el objetivo de este estudio fue determinar la ultramorfología del esmalte en el perro mediante microscopía electrónica de barrido. Se seccionaron dientes permanentes sanos (n=24) con disco de diamante, se les grabó la superficie seccionada con ácido fosfórico y se procesaron para ser observados con el MEB. Se midió el espesor de los prismas en diferentes sitios del esmalte. Los prismas presentaron forma hexagonal y un espesor medio de 4,4 µm. Se encontraron sectores con bandas de Hunter-Schreger y sectores de prismas entrecruzados. Se concluye que el espesor de los prismas del esmalte del perro no varía según tipo de diente ni sector de la corona, exceptuando en las cúspides donde fue más angosto. La organización prismática observada fue similar a la informada en estudios previos del esmalte del perro.

Palabras clave: esmalte, ultramorfología, dientes, perro, MEB.

ABSTRACT.

Mammals' enamel is constituted in a 90% by hydroxyapatite crystals forming "prisms" and the interprismatic substance that surrounds them. Prisms present different shape according to the species. In some regions they are organized in parallel (Hunter-Schreger bands), and in others in a crisscross way. There is little information regarding the dog, so the aim of this study was to determine the ultramorphology of dog enamel by scanning electron microscopy (SEM). A total of 24 permanent healthy dog teeth were selected. They were cut with a diamond disc and the cut surface was etched with phosphoric acid. The teeth were processed to be studied with the SEM, and the prisms thickness was measured at different sites of the enamel. Dog prisms presented hexagonal shape, and an average thickness of 4,4 µm. Regions with Hunter-Schreger bands, and regions with cross prisms were found. In conclusion, prisms thickness of dog enamel does not vary according to the type of tooth or sector of the crown, except in the cusps where it is narrower. Prismatic organization was similar to that reported in previous dog enamel studies.

Key words: enamel, ultramorphology, teeth, dog, SEM.

Recibido 24 de Mayo, 2016 - Aceptado 2 de Diciembre, 2016

* Correspondencia de autor: Georgina de Puch, Chorroarín 280, CP: 1427. CABA, Argentina.
Tel: 054114524-8464. E-mail: georginadp@gmail.com

INTRODUCCIÓN

El esmalte es la sustancia más dura y mineralizada del organismo, siendo uno de los elementos constituyentes del diente, junto con el cemento, la dentina y la pulpa. Es un tejido muy resistente y quebradizo y conforma una capa muy delgada que se apoya en el tejido subyacente -la dentina- a la que protege (1). Está compuesto por un 96% de materia inorgánica, 1% de material orgánico (de naturaleza proteica en su mayoría) y un 3% de agua (2). La fase mineral se compone principalmente de fosfato de calcio formando cristales de hidroxiapatita (3, 4) que se organizan en prismas que discurren aproximadamente de manera paralela entre sí desde la unión esmalte-dentina (UED) hacia la superficie del diente (5, 4), pudiendo correr en grupos de prismas en distintos ángulos, formando las llamadas bandas de Hunter-Schreger (BHS) (2). Estas bandas conforman una arquitectura que genera mayor resistencia del esmalte a posibles fracturas y han sido descritas tanto en el hombre como en otros mamíferos, observándose tres tipos según su recorrido a lo largo de la corona: ondulantes, de ángulo agudo y en zig-zag (6, 7, 8). Asimismo, en el hombre, a nivel de las cúspides los prismas se presentan de manera entrecruzada definiendo al "esmalte nudoso" (2). Existe, además, rodeando a los prismas, una sustancia interprismática que presenta similar composición mineral, en la cual los cristales de hidroxiapatita están dispuestos paralelos entre sí y perpendiculares a la superficie del esmalte (9) donde dicha sustancia se fusiona con una capa de sustancia aprismática que recubre a los prismas, en algunos sectores de la corona (10). La ultraestructura del esmalte ha sido ampliamente

estudiada en el humano, existiendo también información útil sobre fósiles de diferentes especies de cánidos salvajes (6, 7, 8) que permite relacionar su ultramorfoloía con el tipo de dieta. Sin embargo, poco se sabe sobre el esmalte de los animales de compañía (11, 12, 13). Debido a la escasa información existente acerca de la estructura del esmalte dental del perro, el objetivo de este trabajo fue describir la ultramorfoloía del esmalte en el perro utilizando microscopía electrónica de barrido (MEB).

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo sobre 24 dientes permanentes sanos de perro (4 incisivos, 4 caninos, 4 premolares unirradiculados, 4 premolares birradiculados, 4 muelas carníceras y 4 primeros molares superiores) provenientes de dos animales adultos jóvenes menores de 2 años de edad (para minimizar los cambios ocasionados por el desgaste por uso), muertos por causas naturales o sacrificados por razones humanitarias. Se comprobó, clínica y radiográficamente, en todos los dientes la ausencia de lesiones como caries, hipoplasia adamantina, fracturas, etc.

La exodoncia se efectuó mediante técnicas e instrumentos convencionales. Cada diente fue, examinado, clasificado y conservado en formol al 10% hasta su posterior utilización. Para comenzar el procesamiento, las piezas dentales se lavaron con agua y luego se colocaron en una solución de hipoclorito de sodio al 2,5% por una semana para remover todo el tejido blando remanente. A continuación, fueron seccionados transversalmente en sentido vestibulo-lingual/palatino con disco de diamante y turbina dental. Se realizó el grabado de la superficie seccionada

con ácido fosfórico 35% durante 15 segundos para evidenciar la estructura de los prismas. Luego, se lavaron y se deshidrataron con concentraciones de alcohol ascendentes (al 25%, 50%, 75% durante 15 minutos cada concentración, terminando con alcohol al 100% durante 24 horas). Una vez realizado esto, las muestras se secaron al aire y se montaron en las platinas correspondientes con la superficie seccionada hacia arriba. Por último se metalizaron con oro-paladio y se observaron al MEB. Se tomaron microfotografías de diferentes sectores del esmalte a diferentes aumentos (200-400X).

Sectores evaluados:

- 1) Basal: Cercano a la unión cemento-esmalte (UCE) tanto del lado lingual/palatino, como del lado vestibular.
- 2) Medio: Parte media de la corona tanto del lado lingual/palatino, como del lado vestibular.
- 3) Cúspides de las coronas.
- 4) Superficies oclusales, en el caso que correspondiera según morfología del diente (1ros molares superiores).

Se analizaron las imágenes obtenidas mediante un software específico (Image Tool®), con el cual se registraron mediciones del espesor de los prismas en los diferentes sectores. Asimismo, se tomaron medidas del espesor de los prismas a diferentes niveles en el espesor del esmalte.

Niveles de espesor del esmalte evaluados:

Nivel 1: cercano a la UED.

Nivel 2: cercano a la superficie del esmalte.

Por último se contabilizó el número de prismas que conformaron a las BHS en los sectores donde fueron

más evidentes.

Se realizó el análisis estadístico de las mediciones obtenidas mediante el software Statistix 7.0®, trabajándose con un 95% de confianza.

Por medio del Test "t" de muestras apareadas se compararon los espesores medios de los prismas de:

- El Nivel 1 y el Nivel 2 (en general, sin discriminar tipo de diente)
- El lado lingual/palatino y el lado vestibular (en general, sin discriminar tipo de diente).

A través de Test de Anova y postest de Bonferroni ($p < 0,05$) se compararon los espesores medios de los prismas de:

- Los diferentes sectores de la corona (basal, medio, cúspide y superficie oclusal, en general, sin discriminar tipo de diente).
- Los diferentes grupos de dientes (incisivos, caninos, premolares unirradiculados, premolares birradiculados, muelas carniceras y primeros molares superiores).

RESULTADOS

Se observó que los prismas del perro presentan, al corte transversal, una forma casi hexagonal, estando rodeados por sustancia interprismática a manera de "vainas". Presentaron un espesor medio de $4,4 \mu\text{m}$, con una media de $4 \mu\text{m}$ y un desvío estándar de $0,5 \mu\text{m}$ en el Nivel 1 cerca de la UED y una media de $4,7 \mu\text{m}$ con un desvío estándar de $0,34 \mu\text{m}$ en el Nivel 2 cerca de la superficie. También se observó a los prismas terminando en la superficie de la corona de manera difusa, generando una capa superficial de esmalte aprismático de $5,97 \mu\text{m}$ de espesor medio con un desvío estándar de $2,86 \mu\text{m}$ (Fig. 1).

Se evidenciaron tres tipos de organización de los

prismas:

- En las regiones laterales de todas las muestras los prismas se organizaron de manera paralela pero generando grupos con diferentes ángulos de trayectoria con respecto al adyacente, generando BHS (Fig. 2).
- En la región de las cúspides de todas las muestras,

los prismas mostraron importante entrecruzamiento, formando esmalte de tipo nudoso (Fig. 3).

- En las regiones cercanas a la UCE de todas las muestras y en las regiones centrales de las superficies oclusales de los molares, los prismas se observaron corriendo de manera paralela, perpendicular a la UED, sin la presencia de BHS (Fig. 4).

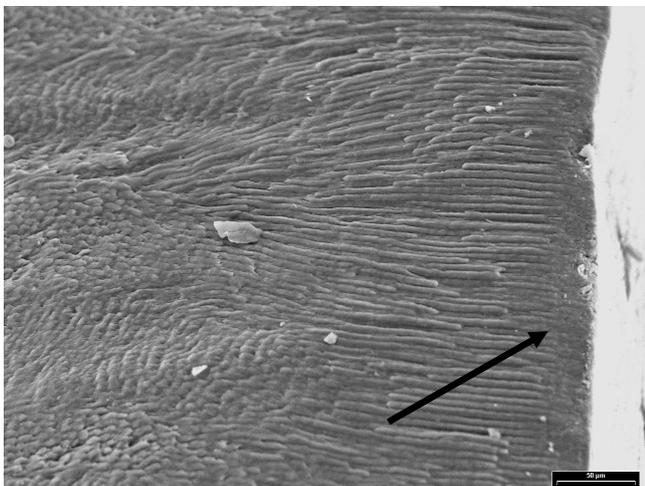


Figura 1. Microfotografía de la capa aprismática superficial del esmalte de un premolar birradiculado de perro (300X). Nótese la manera difusa en la que desaparecen los extremos de los prismas dentro de la misma (flecha).

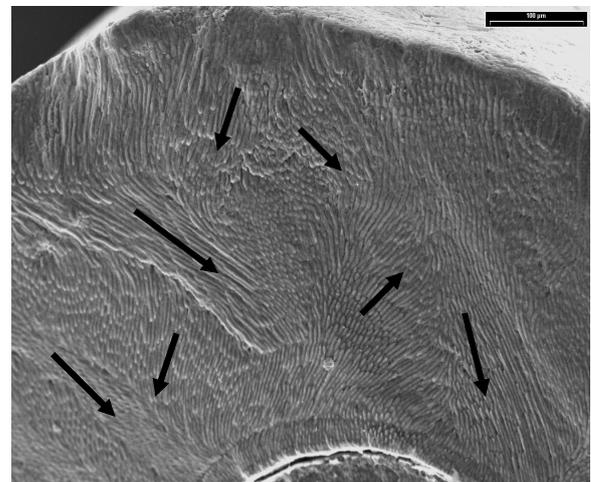


Figura 3. Microfotografía del esmalte de tipo nudoso correspondiente a la cúspide de una muela carnífera superior de perro (200X) (nótese las diferentes direcciones que adoptan los prismas generando alto grado de entrecruzamiento).

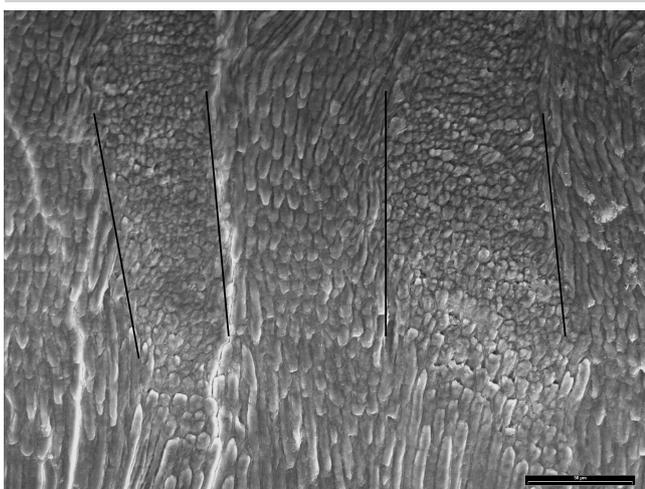


Figura 2. microfotografía donde se observan las BHS (400X, quedan definidas entre las barras) en una muela carnífera superior de perro, generadas por el corte transversal de un grupo de prismas y el corte longitudinal del grupo adyacente.

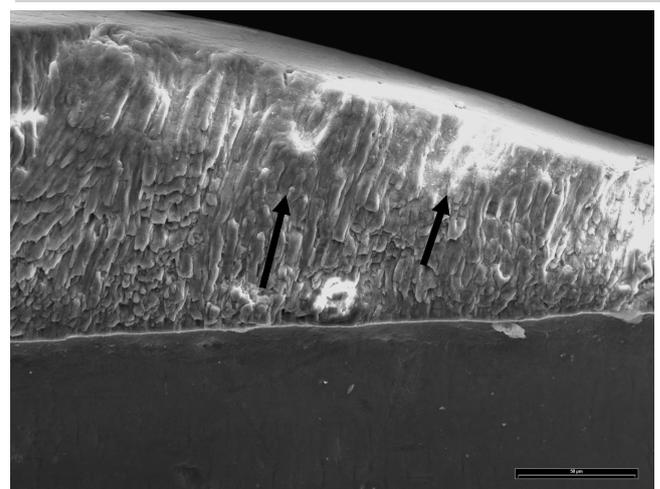


Figura 4. microfotografía de la estructura del esmalte cercano a la UCE de un premolar unirradiculado de perro (450X) con ausencia de BHS (nótese las flechas marcando la única dirección en que corren los prismas).

Espesor medio de prismas:

Tipos de dientes	SECTOR DE LA CORONA	NIVEL 1(μm)	NIVEL 2 (μm)
Incisivos	Basal lingual/palatino	4,93	5,41
	Basal vestibular	3,96	4,84
	Medio lingual/palatino	4,93	5
	Medio vestibular	3,7	4,56
	Cúspide	3,14	4,14
Premolares unirradiculados	Basal lingual/palatino	4,44	4,86
	Basal vestibular	4,06	4,69
	Medio lingual/palatino	4,98	4,96
	Medio vestibular	4,59	4,82
	Cúspide	3,51	4,24
Caninos	Basal lingual/palatino	4,24	4,45
	Basal vestibular	3,92	4,92
	Medio lingual/palatino	4,57	5
	Medio vestibular	4,38	4,89
	Cúspide	3,92	4,53
Premolares birradiculados	Basal lingual/palatino	4,18	5,08
	Basal vestibular	4,17	4,7
	Medio lingual/palatino	4,27	4,93
	Medio vestibular	4,62	4,55
	Cúspide	3,35	3,86
Muelas carniceras	Basal lingual/palatino	4,16	4,13
	Basal vestibular	3,84	4,68
	Medio lingual/palatino	4,16	4,56
	Medio vestibular	4,24	4,78
	Cúspide	3,38	4,43
Primeros molares superiores	Basal lingual/palatino	3,51	4,91
	Basal vestibular	3,88	4,77
	Medio lingual/palatino	3,88	4,48
	Medio vestibular	4,4	5,18
	Cúspide	3	4,77
	Oclusal	4,25	4,86

Tabla 1. Espesor medio de los prismas registrado en diferentes tipos de dientes de perro, según sector de la corona y nivel dentro del espesor del esmalte.

Conformación de BHS:

El número promedio de prismas que se observaron conformando cada BHS fue de 8, encontrando un mínimo de 5 y un máximo de 14 prismas por banda.

Análisis estadístico:

Aplicando ANOVA se estableció que el espesor medio de los prismas en el sector de las cúspides fue significativamente menor ($n=24$; $F=7,16$; $p<0,05$).

A través de un Test "t" de muestras apareadas ($n=24$) no hubo diferencias estadísticamente significativas entre el espesor medio del lado lingual/palatino y el del lado vestibular ($p>0,05$).

Mediante la aplicación de un Test "t" de muestras apareadas ($n=31$) se estableció que el espesor medio de los prismas en el Nivel 2 fue significativamente mayor que el del Nivel 1 ($p<0,05$).

A través de ANOVA se estableció que los espesores medios de los prismas de los dientes de diferentes grupos (incisivos, caninos, premolares unirradiculados, premolares birradiculados, muelas carniceras y primeros molares superiores) no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($n=12$; $F=0,14$; $p>0,05$).

DISCUSIÓN

Los prismas del perro, en su corte transversal, presentaron diferente morfología que los del hombre, ya que su forma hexagonal difiere de la forma de "cerradura" que se observa en el humano (14). Analizando los espesores de los prismas en los diferentes niveles, se evidenció que los prismas de las muestras evaluadas son más angostos cerca de su origen en la UED (Nivel 1) y más anchos cerca de la superficie del esmalte (Nivel 2). Algo similar ocurre en el humano aunque la diferencia es mucho más marcada, ya que presentan un espesor de 4-5 μm a nivel de la UED aumentando más cerca de la superficie a un espesor de hasta 8-10 μm (2, 15). Esta diferencia se fundamenta en la necesidad de compensar las diferencias de superficie entre el sector más profundo del esmalte y su superficie (2, 15 y 16). Dado que en el perro, los prismas cercanos a la superficie serían mucho más angostos que los del humano, cabría la posibilidad de que la diferencia entre la superficie interna y externa del esmalte se vea compensada mediante el incremento de la sustancia interprismática a nivel de la superficie, hecho que

amerita otro estudio.

Por lo observado en este estudio los dientes del perro presentan una capa aprismática de espesor variable (5,97 μm de espesor medio con un desvío estándar de 2,86 μm). Dicho hallazgo concuerda con los resultados obtenidos por otros autores (11) donde se reporta una capa aprismática de entre 8 y 1 μm . La presencia de una capa aprismática también ha sido descrita en el humano midiendo 30 μm aproximadamente, por lo que la del perro sería mucho más angosta y de espesor más variable. Sin embargo, cabe la posibilidad de que el diferente grado de desgaste de las muestras y a la acción del ácido utilizado para el grabado (17) tanto en nuestro estudio como en el reportado (11), alteren el espesor original de las capas aprismáticas analizadas.

Dentro del espesor del esmalte del hombre, los prismas se organizan de diferente manera: en algunas regiones discurren formando grupos de prismas que corren paralelos entre sí pero con diferentes ángulos de trayectoria con respecto al grupo adyacente, generando las denominadas BHS (18, 19). Este tipo de "arquitectura" agregaría resistencia a la estructura del esmalte (6, 7, 8, 20) frente a las fuerzas oclusales. Al igual que lo descrito por otros autores (11, 12, 13) se observó que en el perro, como en el caso del humano, las BHS se encontrarían en la mayor parte del esmalte. Llama la atención la ausencia de dichas bandas en los sectores centrales de las superficies oclusales de los molares observados. Cabría la posibilidad de que, al ser el perro un animal que no realiza un proceso de masticación importante de su ingesta (21) dichas superficies no se verían enfrentadas a fuerzas oclusales significativas, por lo que ese sector no se encontraría

muy expuesto a la posibilidad de fracturas (22). Asimismo, existen regiones, en las cuales los prismas se disponen de manera entrecruzada, formando ondulaciones con prismas con distintos grados de oblicuidad, generando el llamado esmalte "nudoso" (20, 23). Este entrecruzamiento incrementaría la resistencia del esmalte a las fracturas, y es por eso que, en el hombre, se encuentra en superficies oclusales e incisales (10). Igual situación se observó en las cúspides de los dientes de perro analizados, donde el esmalte de tipo "nudoso", con alto grado de entrecruzamiento, fue el que predominó, ya que dichos sectores son los más exigidos durante la ingesta del perro (21). Este tipo de esmalte estaría formado por la confluencia de las BHS concéntricas descritas por Hanaizumi *et al.* (13) en dientes de perro, quienes, a través de múltiples cortes realizados paralelos a la cúspide, lograron reconstruir la arquitectura de dicha región.

El número promedio de prismas encontrados conformando las BHS fue similar al descrito por otros autores en el perro (13). En el humano, no se ha encontrado información al respecto, exceptuando un estudio sobre la densidad de BHS (22) que indicaría que cuanto menor es su espesor, mayor es la resistencia. Dicho esto podría inferirse que un menor espesor en las bandas se traduce en un menor número de prismas, pero hace falta profundizar el estudio a este respecto para verificar la hipótesis.

La homogeneidad encontrada en el espesor de los prismas de los diferentes grupos de dientes (expuestos a diferentes fuerzas oclusales) sugiere que el grado de resistencia a las diferentes fuerzas oclusales es independiente del espesor de los prismas. Dicha resistencia estaría dada por los diferentes grados de

entrecruzamiento entre los mismos, pudiendo disipar las fuerzas oclusales que debe afrontar el esmalte, disminuyendo la probabilidad de posibles fracturas (2, 16). Sin embargo, el hecho de que en la región de las cúspides los prismas sean más angostos podría deberse a que el menor espesor posibilitaría un mayor grado de entrecruzamiento en el esmalte de tipo nudoso aumentando su resistencia. No se ha encontrado bibliografía que describa dicha situación en el humano, ni n propia del perro que deberá investigarse más profundamente.

CONCLUSIÓN

A partir de los resultados obtenidos se concluye que el espesor de los prismas del esmalte del perro no varía según tipo de diente ni sector de la corona, exceptuando en las cúspides donde fue más angosto. Además, se evidenció que el espesor de los prismas no fue uniforme, sino que aumentó a lo largo de su recorrido desde la UED hacia la superficie de la corona. Asimismo, la organización prismática observada fue similar a la informada en estudios previos del esmalte del perro.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abramovich A (1999) Histología y embriología dentaria. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina.
2. Gómez de Ferraris MA, Campos Muñoz A (2010) Histología, Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental. Editorial Médica Panamericana, 3ª edición, Querétaro, México.
3. Gwinnett AJ (1992) Structure and composition of enamel. *Oper Dent* 5:10-17.
4. Ten Cate AR (1989) Oral histology: development, structure and function, 3ª ed. Mosby, St. Louis, MO, USA.
5. Fava M, Myaki SI, Ramos CJ, Watanabe I (1999) Scanning electron microscopy observations of the prismless layer in fissures of erupted primary molars. *Pós Grad Rev Fac Odontol São José dos Campos* 2:1-7.
6. Stefen C (1999) Enamel Microstructure of Recent and Fossil Canidae (Carnivora: Mammalia). *J Vertebr Paleontol* 19: 576-587.
7. Rensberger JM (1993) Enamel microstructural specializations for strength in the teeth of *Crocota crocuta*. *Amer Zool* 33: 102A (abstr).
8. Tseng Z J (2011) Variation and Implications of Intra-Dentition Hunter-Schreger Band Pattern in Fossil Hyaenids and Canids (Carnivora, Mammalia) *J Vertebr Paleontol* 31(5):1163-1167.
9. Fava M, Watanabe I, Moraes FF, Costa LRRS (1997) Prismless enamel in human non erupted deciduous molar teeth: A scanning electron microscopic study. *Rev Odontol Univ Saõ Paulo* 11:239-243.
10. Garg N, Garg A (2015) Text book of operative dentistry, 3ª ed. Jaypee, New Delhi, India.
11. Skobe Z, Prostack KS, Trombly PL (1985) Scanning Electron Microscope Study of Cat and Dog Enamel Structure. *J Morphol* 184:195-203
12. Hanaizumi Y, Yokota R, Domon T, Wakita M, Kozawa Y (2010) The initial process of enamel prism arrangement and its relationship to de Hunter-Schreger bands in dog teeth. *Arch Histol Cytol* 73 (1): 23-36.
13. Hanaizumi Y, Kawano Y, Ohshima H, Hoshino M, Takeuchi K, Maeda T (1998) Three-dimensional Direction and Interrelationship of Prism in Cuspal and Cervical Enamel of Dog Tooth. *Anat Rec* 252: 355-368.
14. Meckel AH, Griebstein WJ, Neal RJ (1965) Structure of mature human dental enamel as observed by electron microscopy. *Arch. Oral Biol* 10:775-78.
15. Sherwoo IA (2010) Essentials of operative dentistry. JAYPEE, New Delhi India.
16. Hueb De Menezes Oliveira MA, Torres CP, Gomez-Silva JM, Borsatto MC (2009) Microstructure and Mineral Composition of Dental Enamel of Permanent and Deciduous Teeth. *Microsc Res Tech* 73(5): 572-7.
17. Kuhar M, Cevc P, Schara M, Funduk N (1997) Enhanced permeability of acid etched or ground dental enamel. *J Prosthet Dent* 77:578-582.
18. Osborn JW (1990) A 3-dimensional model to describe the relation between prism directions, parazonal and diazones, and the Hunter-Schreger bands in human tooth enamel. *Arch Oral Biol* 35:869-878.
19. Osborn JW (1965) The nature of the Hunter-Schreger bands in enamel. *Arch Oral Biol* 10:929-935.
20. Chandra S (2004) Textbook of Dental and Oral Histology and Embryology with MCQs. Jaypee, New Delhi, India.
21. Rowen D, Frandson W, Wilke L, Fails AD (2009) Anatomy and Physiology of Farm Animals, 7ª ed. Wiley Blackwell, Singapur.
21. Lynch ChD, Sullivan VRO, Dockery P, McGillycuddy CT, Sloan AJ (2010) Hunter-Schreger Band patterns in human tooth enamel. *J Anat* 217(2): 106-115.
23. Antonio Nanci A (2008) Ten Cate's Oral Histology: Development, Structure, and Function. Mosby Elsevier, St. Louis, MO, USA.