

T.O.
977
00885
787

OBTENCION DE DENTINA LIOFILIZADA HUMANA PARA EL MANEJO DE
DIENTES CON EXPOSICION PULPAR

ANA MARIA BERNAT F.
CLAUDIA PATRICIA URBINA G.
ELISA MARIA PINZON G.
MARIO J. PACHECO
SAIRA MARLEN ORJUELA C.
SHIRLEY SENEJOA

COLEGIO UNIVERSITARIO COLOMBIANO
COLEGIO ODONTOLOGICO COLOMBIANO
BOGOTA D.C.

2001

OBTENCION DE DENTINA LIOFILIZADA HUMANA PARA EL MANEJO DE
DIENTES CON EXPOSICION PULPAR

ANA MARIA BERNAT F.
CLAUDIA PATRICIA URBINA G.
ELISA MARIA PINZON G.
MARIO J. PACHECO
SAIRA MARLEN ORJUELA C.
SHIRLEY SENEJOA

Asesor científico

HUMBERTO OSSA REYES
Médico, Especialista en Genética Humana

Asesor Metodológico

INES AMPARO REVELO MEJIA
Odontóloga, Magister en Administración de Salud

COLEGIO UNIVERSITARIO COLOMBIANO
COLEGIO ODONTOLOGICO COLOMBIANO
BOGOTA D.C.

2001

OBTENCION DE DENTINA LIOFILIZADA HUMANA PARA EL MANEJO DE
DIENTES CON EXPOSICION PULPAR

ANA MARIA BERNAT F.
CLAUDIA PATRICIA URBINA G.
ELISA MARIA PINZON G.
MARIO J. PACHECO
SAIRA MARLEN ORJUELA C.
SHIRLEY SENEJOA

Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar el título de
Odontólogos

Asesor científico
HUMBERTO OSSA REYES
Médico, Especialista en Genética Humana

Asesor Metodológico
INES AMPARO REVELO MEJIA
Odontóloga, Magister en Administración de Salud

COLEGIO UNIVERSITARIO COLOMBIANO
COLEGIO ODONTOLOGICO COLOMBIANO
BOGOTA D.C.

2001


iii

El trabajo de grado OBTENCION DE DENTINA LIOFILIZADA HUMANA PARA EL MANEJO DE DIENTES CON EXPOSICION PULPAR elaborado por ANA MARIA BERNAT F., CLAUDIA PATRICIA URBINA G., ELISA MARIA PINZON, MARIO J. PACHECO, SAIRA MARLEN ORJUELA C. Y SHIRLEY SENEJOA, ha sido aprobado como requisito parcial para optar el Título de Odontólogo.

Director de la investigación



Asesor Metodológico



Director del Departamento de
Investigación y Salud Pública

Bogotá D. C.

AGRADECIMIENTOS

Los autores manifiestan su agradecimiento a:

Cristian Saavedra, Licenciatura en Biología Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Estudiante.

María Fernanda Ríos Espinosa, Bacterióloga, Auxiliar Laboratorio.

Omar Reyes Cala , Ingeniero de sistemas, Universidad Cooperativa de Colombia.

DEDICATORIA

La razón, el saber, el conocimiento que se materializan en éste trabajo mancomunado, producto de horas de estudio en el claustro, de esfuerzo y constancia, con vocación de servicio a los demás; reafirma el deseo de realizar aportes, innovar en un trabajo investigativo dedicado a Dios, la sociedad, la familia, nuestros profesores y a quienes con nosotros recorrieron el camino de la profesionalización en búsqueda de hacer realidad el sueño de ser odontólogos.

*Ana Maria
Claudia Patricia
Elisa maria
Mario J.
Saira Marlen
Shirley*

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCION	1
1. CONTEXTO DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.1.DEFINICION DEL PROBLEMA	3
1.2.JUSTIFICACIÓN	3
1.3.PROPÓSITO	4
1.4.MARCO TEORICO	4
1.5.OBJETIVOS	42
1.5.1 General	42
1.5.2 Específicos	42
2. METODO	43
2.1 TIPO DE ESTUDIO	43
2.2 OBJETO DE ESTUDIO	43
2.3 PROCEDIMIENTO	43
3. RESULTADOS	50
4. DISCUSIÓN	51

5. CONCLUSIONES

52

6. RECOMENDACIONES

53

BIBLIOGRAFIA

ANEXOS

INTRODUCCION

La dentina esta compuesta en un 30% de sustancias orgánicas y agua y un 70% de sustancias inorgánicas siendo ésta formada por cristales de hidroxiapatita y las sustancias orgánicas constituidas por fibras colágenas. Su forma es cónica en su base hacia la pulpa. Dentro de las propiedades físicas de la dentina se pueden nombrar las siguientes: da el color exterior del diente, posee considerable elasticidad y puede sufrir deformaciones ligeras, dependiendo esta deformación probablemente por la proporción y distribución de las fibras de la matriz.

La liofilización es deshidratar mediante temperaturas muy bajas productos o elementos orgánicos para asegurar su conservación, separando el agua de una sustancia. Éste proceso de secación por congelación brusca se hace entre -40°C y luego se realiza sublimación al vacío en productos o elementos orgánicos a fin de conservarlos. Se usa generalmente en la preparación comercial de antibióticos, de algunas vacunas y muchos productos vegetales y alimenticios.

La eliminación del agua proporciona una excelente protección frente a las principales causas de alteración de los alimentos. Los microorganismos no pueden desarrollarse en un medio sin agua. Además, en estas condiciones tampoco es posible la actividad enzimática, y la mayor parte de las reacciones químicas se hacen mucho más lentas de lo normal. Por eso la deshidratación es el mejor

método de conservación para productos almacenados a temperatura elevada. Para lograr una protección óptima hay que eliminar prácticamente toda el agua.

Los patólogos consideran a la dentina reparativa dentro de neoformación, en la cual estaría incluida la dentina cicatrizal o puente de dentina que se forma bajo la acción de protectores pulpaes como el hidróxido de calcio. El odontólogo actualmente utiliza tales sustancias para estimular la formación de dentina la cual esta considerada como un tejido vivo.

En la relación con la terapéutica dentinaria comentaremos por último que las nuevas técnicas de ingeniería tisular están desarrollando protocolos de regeneración de dentina, induciendo el desarrollo de la misma, a partir de acción sobre la pulpa de distintas sustancias inductoras (matrices colágenas, polímeros sintéticos, etc.) se colocan en la proximidad de la superficie pulpar (en el fondo de la cavidad labrada de la dentina) para producir de forma progresiva dentina terciaria.

La posibilidad de obtener dentina liofilizada humana para el tratamiento de dientes con exposición pulpar no había sido antes objeto de estudio, pero la similitud existente entre la dentina y otros tejidos como el hueso, nos llevó a pensar en ésta como un tratamiento eficaz para mantener vital el diente. Se partió de la idea que la dentina es un tejido que tiene sustancia orgánica y posee una matriz con prolongaciones citoplasmáticas del cuerpo del odontoblasto.

En ésta investigación se tomó 9 estructuras dentarias de pacientes sistémicamente sanos y 3 estructuras de una paciente con epilepsia y controlada médicamente (ácido valproico). De éstas estructuras dentarias se obtuvieron 3 gramos y 0.8 gramos de dentina pura respectivamente en los cuales se analizó la presencia de DNA.

Los resultados de la investigación en el laboratorio demuestran que la dentina es un tejido que puede ser liofilizado, que la tetraciclina se fijó en ella facilitando la identificación para su obtención. Que al identificar la presencia de DNA mediante el sistema de protocolo para aislamiento de DNA Genomic, DNA purificación, kit promega y electroforesis reportaron una dentina libre de DNA.

Se concluye entonces en ésta investigación que el procedimiento puede ser efectivo si más adelante se comprueba una posible dentinogénesis que evitará un tratamiento de conductos que seguramente dejará un diente deshidratado y susceptible a fracturas.

1. CONTEXTO DE LA INVESTIGACION

1.1. DEFINICION DEL PROBLEMA

La dentina se asemeja al hueso, ambos se diferencian fundamentalmente en que el hueso presenta células incluidas en su matriz y la dentina solo contiene prolongaciones citoplasmáticas, este tipo de similitud crea la iniciativa de realizar una dentina que siendo deshidratada mediante temperaturas muy bajas entre -40°C y -80°C para asegurar su conservación (liofilizada) pueda ser utilizada luego de realizarle este proceso haciendo que la pulpa acepte esta dentina y continúe con la función de mantener vital el diente.

Por esta razón cabe preguntarse:

¿Será que la similitud del hueso con la dentina permite obtener dentina liofilizada?

¿Es factible aislar de manera correcta la dentina de un diente para liofilizarla?

1.2. JUSTIFICACION

Esta investigación sobre la obtención de dentina liofilizada para aplicarla en dientes con exposición pulpar, es de gran importancia para el profesional en salud oral debido a qué complicaciones presentadas durante la realización de cavidades que afectan en mínima proporción el órgano pulpar puedan ser solucionadas

mediante la aplicación de dentina liofilizada procesada capaz de continuar la funcionalidad del diente, desencadenando una posible dentinogénesis. Se viene utilizando cuando hay exposición pulpar un medicamento como el hidróxido de calcio que no garantiza la continuidad de vida de la estructura dentaria, es por ello que creando esta dentina liofilizada se podrá minimizar procedimientos incómodos para el paciente; evitándole una endodoncia que va acabar con la deshidratación total del diente haciéndole susceptible a posibles fracturas.

1.3 PROPOSITO

La investigación pretende obtener dentina liofilizada humana para el manejo de dientes con exposición pulpar.

1.4 MARCO TEORICO

La dentina es el tejido mineralizado más abundante del diente, constituyendo la mayor parte de éste determinando su forma anatómica. Este tejido se encuentra en la corona y la raíz del diente y delimita la cavidad interna ocupada por la pulpa. Su espesor varía de 1.4 a 3 mm. Su superficie externa se relaciona con el límite dentinoesmalítico y en la raíz con el límite cemento-dentinal. Es un tejido en donde la pulpa es responsable de su mantenimiento.

Se puede dentro de las propiedades físicas de la dentina se pueden nombrar las siguientes: Da el color exterior de la corona del diente, posee considerable

elasticidad y puede sufrir deformaciones ligeras, dependiendo esta deformación probablemente de la proporción y disposición de las fibras de la matriz. Esta cualidad posibilita la compensación de las dilataciones y contracciones térmicas de las obturaciones e impide la formación de grietas. La dureza de la dentina es menor que el esmalte y mayor que el hueso. Los cristales de la fase mineral de la dentina son semejantes a los de la apatita. (Cabrera M.)

La dentina en sus propiedades químicas está constituida en un 30% de sustancias orgánicas y agua y un 70% de sustancias inorgánicas siendo esta formada por cristales de hidroxiapatita más pequeños que los del esmalte y las sustancias orgánicas constituidas por fibras colágenas, sustancia intercelular amorfa fundamentalmente, de este 30%, 18% de materia o sustancia orgánica (principalmente fibras colágenas) y 12% de agua. Aunque se asume esta composición química general para la dentina, existen variaciones entre las distintas regiones de la misma así como entre la dentina de la corona y la raíz. (M.E Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999).

La dentina posee una matriz calcificada, dentro se ven los túbulos dentinales o canalículos dentinales, en estos túbulos dentinales encontramos los procesos odontoblásticos o fibras de Torres que son prolongaciones del cuerpo del odontoblasto, célula cuyo cuerpo se sitúa formando una capa sobre la superficie pulpar de la dentina; tiene aspecto canalicular determinado por la presencia de los túbulos dentinales, ellos están orientados perpendicularmente a la superficie de la

dentina. En cortes longitudinales los túbulos en la zona coronal son radiales y en la zona radicular son horizontales. A lo largo de su recorrido el túbulo presenta pequeñas curvaturas numerosas y regulares situadas dentro de las primarias llamadas curvaturas secundarias.

Su forma es cónica con su base hacia la pulpa y el vértice hacia la periferia, ello hace que su ancho sea variable y que alcance un diámetro alrededor de 4 μm cerca de la pulpa y 1 μm hacia su terminación. Por eso se observan más separados en la periferia y están íntimamente dispuestos cerca de la pulpa. Su número es variable, hay en mayor cantidad cerca de la pulpa que en la superficie externa. Los túbulos dentinales presentan muchas ramificaciones laterales distribuidas en toda la dentina, las cuales parten de él casi en ángulo recto y terminan en otro túbulo, estas ramificaciones pueden entrecruzarse con las vecinas.

Los procesos Odontoblásticos se encuentran dentro de los túbulos dentinales y sin extensiones citoplasmáticas de los odontoblastos, las cuales están separadas de la pared del túbulo por el espacio periodontoblástico, ocasionalmente ocupado por fibras colagénas gruesas no mineralizadas. El citoplasma del proceso odontoblástico presenta microtúbulos, filamentos, mitocondrias y vesículas. (Cabrera M).

La Matriz dentinal es una matriz calcificada, y sus características le da al tejido particularidades físicas que lo distinguen. La matriz dentinal posee una trama

fibrilar formada por fibras colágenas, posee sustancias intercelular amorfa que tiene proteoglicanos y glicosaminoglicanos y además sales de calcio que el componente mineral constituido por cristales de apatita que se orientan siguiendo el eje longitudinal de las fibras colágenas. La dentina es muy sensible a gran variedad de estímulos, hay controversias en cuanto a bases anatómicas de la sensibilidad dentinal y se dan probables explicaciones:

- Presencia de nervios en la dentina.
- Que los odontoblastos tengan función sensorial especial y estén conectados a nervios.
- Existencia de receptores en la pulpa capaces de detectar cambios locales conducidos mecánicamente a través del grosor de la dentina.

Con respecto a la presencia de nervios en la dentina se conoce que las fibras nerviosas forman asas en la predentina y regresan a la pulpa y que algunas de ellas penetran no más de 100 μm en los túbulos dentinales. (Cabrera M).

Las Líneas de incremento son líneas finas que reflejan distintas etapas en la génesis del tejido. Corresponden a variaciones en la estructura y la mineralización durante la dentinogénesis, por lo cual indican el modo de crecimiento de la dentina. En cortes longitudinales, las líneas de incremento situadas en la corona nacen en el límite externo de la dentina, se dirigen oblicuamente hacia la cúspide y el eje del diente y terminan en el límite externo de la dentina del lado opuesto.

La dentina se asemeja al hueso. Ambos se diferencian fundamentalmente en que el hueso presenta células incluidas en su matriz y la dentina solo contiene

prolongaciones citoplasmáticas que son procesos odontoblásticos que se encuentran dentro de los túbulos dentinales. (Cabrera M).

La Liofilización es un proceso que consiste en la deshidratación de una sustancia por sublimación al vacío y consta de 3 fases: Sobrecongelación, desecación primaria y desecación secundaria. Es decir que liofilizar es deshidratar mediante temperaturas muy bajas productos o elementos orgánicos para asegurar su conservación, separando el agua de una sustancia. La conservación de bacterias, virus y otros microorganismos fue su primera aplicación pero en la actualidad se usa para la conservación de suero, plasma, hueso y otros productos Biológicos. Este proceso de desecación por congelación brusca se hace entre -40°C y -80°C y luego se realiza sublimación al vacío productos o elementos orgánicos a fin de conservarlos pasando directamente este cuerpo del estado sólido al gaseoso. En el artículo "los efectos de congelación y congelación seco en adenosine triphosphasa y acetyl cholinesterasa en celdas de sangre roja humana". (Anderson, Nei, 1973) habla de la acción de la congelación de la liofilización de las actividades enzimáticas de hematies humanos.

Se analiza la alteración de hematies humanos, por la congelación reciente asociada a modificaciones estructurales y funcionales al nivel de la membrana plasmática. Muchas búsquedas nos muestra que la adición de adenosine triphosphasa (ATP) en el año con suspensión provocan las modificaciones de la configuración de los "fantasmas" de hematies indican así que la adenosine triphosphasa (ATP) de la membrana quizá juega un papel dentro de él

manteniendo la estabilidad de la membrana celular. El ATP no es un elemento constitutivo proteínico esencial de la membrana pero ella juega un papel primordial mientras él transporta los iones sodio y potasio a través de la membrana plasmática.

Los estudios nos muestra que después de la hemólisis por congelación y congelación - seca la actividad de ATP aumenta. Se demuestra aparentemente, que los "chocs" provocados por la congelación – seca aumenta la actividad de enzimas, de la membrana como por ejemplo la acetilcolinesterasa.

La actividad de las enzimas quizá realiza las modificaciones cationicas, la permeabilidad a los electrólitos y la hemólisis.

Sin embargo la disminución de la actividad enzimática de la ATP a través de la liofilización serada de verosímiles modificaciones de estructuras inducidas por la deshidratación. En los ensayos de liofilización a muy bajas temperaturas efectuados a fin de comprender los efectos de la deshidratación sobre las enzimas, los hematies, así como mecanismos de la desnaturalización provocada por la liofilización.

El procedimiento más sofisticado para comercializar en polvo un liquido orgánico es la llamada liofilización. Este es un sistema que comprobadamente, en una larga serie de medicamentos y otros productos naturales líquidos o en material vegetal fresco, permite una deshidratación completa sin el aumento de

temperatura que pueda hacer variar la composición química y la actividad curativa del producto final.

Se usa generalmente en la preparación comercial de antibióticos, de algunas vacunas y de muchos productos vegetales alimenticios y saborizantes.

El resultado de la liofilización lo conocemos por una serie de alimentos y algunas medicinas de consumo masivo, cebollas y ajos, sopas, ciertos cafés importados, productos medicinales (vacunas, antibióticos, uña de gato). Estos productos como en el caso de los alimentos, tiene la virtud de recuperar, en un alto porcentaje, su sabor y textura originales. La diferencia con el producto original ésta en el trozado ya que se trata de congelar y sublimar rápidamente el agua; en otras palabras, tienen que ser pequeños, ya que, cuanto menor el tamaño mayor la superficie con relación al volumen.

Es por eso que en las sopas liofilizadas, la cebolla, el ajo y otros productos de sabores complejos y delicados vienen en polvo o en trozos pequeños. A cambio de eso son mantenidos en estantes por largo tiempo conservando intactas sus características. Esto es de suma importancia para la comida que, deben conservar su sabor, cualidades alimenticias y para las plantas medicinales que deben conservar sus principios activos. El doctor Fernando Cubieses afirma: " este es el procedimiento ideal para comercializar en gran escala una planta medicinal. Cualquiera de ellas". (www.manaxx.com/liofili.htm)

Clasificación histotopográfica de la dentina:

- a) La dentina del manto o palial es la primera que se forma y está ubicada periféricamente.
- b) La dentina circumpulpar es el resto de la dentina producida y mineralizada.
- c) La predentina, sin mineralizar, adyacente a los odontoblastos de la pulpa.

La dentina del manto o palial es la primera dentina sintetizada por los odontoblastos recién diferenciados; constituye una delgada capa de 20 um de espesor que queda ubicada por debajo del esmalte y el cemento. La dentina del manto presenta las características estructurales ya descritas, pero difiere de la circumpulpar en varios aspectos.

La matriz orgánica de la dentina del manto está formada por fibras de colágeno (fibras de Von Korff) muy gruesas que se disponen de forma ordenada y regular. En la corona se orientan paralelas a los túbulos dentinarios, siendo perpendiculares a la conexión amelodentinaria, pero en la raíz son paralelas a la interfaz cementodentinaria, o sea perpendiculares a los túbulos dentinarios. Existen otras fibras de menor grosor y de disposición irregular. La dentina del manto posee abundante sustancia fundamental, rica en GAS sulfatados pero carece de DPP (fosforina dentinaria). (M. E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999).

Los mecanismos de mineralización de la dentina del manto son diferentes a los del resto de la dentina (ver "Dentinogénesis"), y como consecuencia la dentina del manto resulta menos calcificada que la circumpulpar.

Por último, la dentina del manto presenta un número aumentado de túbulos pues contiene las ramificaciones terminales de los mismos.

Una vez formada la dentina del manto, comienza a depositarse el resto de la dentina, que se conoce como dentina circumpulpar. Esta forma el mayor volumen de dentina de la pieza dentaria, y se extiende desde la zona del amito hasta la predentina; su nombre proviene del hecho de que rodea a la pulpa

Esta dentina presenta las características histológicas típicas descritas para la dentina general.

Las fibrillas colágenas son aquí considerablemente más delgadas que las de la dentina del manto, y se disponen irregularmente, formando una malla densa. La calcificación de la dentina circumpulpar es de tipo globular y no lineal como ocurre en la dentina del manto.

La predentina es una capa de dentina sin mineralizar, de 20 a 30 μm de ancho, situada entre los odontoblastos y la dentina circumpulpar. Está constituida por prolongaciones citoplasmática, acompañadas por fibras nerviosas amielínicas, y matriz orgánica dentinaria, la cual puede compararse a la sustancia osteoide del hueso. En un corte de diente descalcificado teñido con HE, la predentina se distingue fácilmente, pues se tiñe menos intensamente que la dentina mineralizada. (M. E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999)

La primera capa de matriz extracelular formada por los odontoblastos es preentina; a medida que ésta calcifica se forma nueva preentina. Así la capa de preentina se mantiene durante toda la vida del diente, como consecuencia de la actividad cada vez más lenta, pero continua, de los odontoblastos. La presencia de preentina es importante ya que constituye una fuente de producción continua de dentina.

Si la preentina se calcifica completamente la dentina podría comenzar a ser resorbida por odontoclastos (semejante a osteoclastos).

La dentinogénesis es el conjunto de mecanismos mediante los cuales la papila dental elabora por medio de sus células especializadas, los odontoblastos, una matriz orgánica que más tarde se calcifica para formar la dentina. Ocurre primero donde se formarán puntas de cúspides o bordes incisales. En esta región los odontoblastos maduran plenamente convirtiéndose en células altas cilíndricas hasta de 50 μm . El ancho de los Odontoblastos permanece constante, la papila dental se convierte en pulpa dental. Los odontoblastos se retiran hacia el centro de la pulpa produciendo una matriz de dentina de 4 a 8 μm por día. (Cortes Torres J, 1995).

En la dentinogénesis se pueden considerar tres etapas:

- a) Elaboración de la matriz orgánica, compuesta por una trama fibrilar y un componente fundamental amorfo.

- b) Maduración de la matriz.
- c) Precipitación de sales minerales (calcificación o mineralización).

La formación de la dentina comienza en el estadio de campana avanzada. Se inicia en la zona del vértice de la papila dental que corresponde al área de las futuras cúspides o bordes incisales, desde donde continúa en dirección cervical para conformar así la dentina coronaria. El depósito de dentina radicular se produce con posterioridad y en sentido apical bajo inducciones ejercidas por la vaina epitelial de Hertwig. (M. E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999).

Los odontoblastos se diferencian a partir de las células ectomesenquimáticas de la papila dental, bajo influencia inductora del epitelio interno del órgano del esmalte.

En su ciclo vital podemos considerar las siguientes etapas:

- a) Células mesenquimáticas indiferenciadas.
- b) Preodontoblastos.
- c) Odontoblastos jóvenes.
- d) Odontoblastos secretores.

Las células mesenquimáticas indiferenciadas de la periferia de la papila dental son pequeñas, de forma estrellada con núcleo grande y un escaso citoplasma con pocos organelas. Estas células se encuentran bastante distanciadas unas de otras por una matriz extracelular que contiene escasas fibras de colágeno.

Entre las células ectomesenquimáticas periféricas y la membrana basal que las conecta con el órgano del esmalte, hay una delgada zona acelular que aparece amorfa al MO y que se caracteriza desde el punto de vista histoquímico por ser alcianífila y metacromática. (M. E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999)

A la luz de los nuevos resultados obtenidos por métodos inmunohistoquímicos, se ha detectado la presencia de componentes como el heparán sulfato, colágeno tipo IV, laminina, entactina y fibronectina en la lámina basal ameloblástica o membrana preformativa que separa los preameloblastos de la predentina de los gérmenes dentarios.

Las células del epitelio dental interno (preameloblasto) se dividen, adaptándose al crecimiento del germen dentario. Se ha visto que algunas de las prolongaciones citoplasmáticas de los preameloblastos atraviesan la MB y la zona acelular, alcanzando las células ectomesenquimáticas de la papila. Antes de comenzar la diferenciación celular, las células ectomesenquimáticas ya sintetizan y segregan en la matriz extracelular colágeno tipos I y III, proteoglicanos, glicosaminoglicanos sulfatados y fibronectina. (M. E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999)

La diferenciación de las células ectomesenquimáticas es precedida por la maduración de los preameloblastos, en ameloblastos jóvenes. Inmediatamente las células ectomesenquimáticas comienzan a incrementar su volumen, conteniendo progresivamente mayor cantidad de organelas, en especial complejos de Golgi y

retículo endoplásmico rugoso (RER). Dichas células adoptan una forma cilíndrica baja y presentan varias prolongaciones citoplasmáticas apicales que llegan a la membrana basal. Estos elementos que se denominan ahora Preodontoblastos y cuyo índice nucleocitoplásmico es alto, se ubican próximos unos a otros hasta adquirir un aspecto similar al del epitelio cilíndrico simple. La zona acelular, existente entre estas células y la membrana basal del órgano del esmalte, se reduce y progresivamente desaparece. Los preameloblastos inician su diferenciación terminal hacia odontoblastos, con una última división mitótica que supone la salida definitiva del ciclo celular y, el nacimiento de dos nuevas células hijas. El uso mitótico de esta última división es perpendicular a la membrana basal originando dos células superpuestas. La más próxima a dicha membrana basal se diferenciará en odontoblastos y la subyacente origina las denominadas, por algunos autores, células subodontoblasticas de Hohl o de reserva.

Los odontoblastos así formados desarrollan sistemas de unión entre ellos de tipo adherente y comunicante y luego se polarizan. Como resultado de dicha polarización el volumen celular aumenta y la célula se hace cilíndrica y el núcleo se desplaza hacia la zona basal. El RER se dispone paralelo al eje mayor de la célula y se reordena el citoesqueleto de manera que la actina, la vinculina y la vimentina se acumulan en la región proximal de la célula. En el polo proximal de la misma se observa, también una prolongación única y de mayor tamaño que se denomina proceso odontoblastico y que caracteriza al odontoblasto joven. La actividad secretora de esta célula se manifiesta hacia dicho polo proximal, por el

que se segrega la predentina que ocupa el espacio existente entre el órgano del esmalte y los odontoblastos. La predentina elaborada por el odontoblasto joven está formada por colágeno tipos I, V y VI, proteoglicanos y algunas sustancias no colágenas. El colágeno tipo III deja de sintetizarse. (M. E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999)

Una vez formada la predentina, el odontoblasto contribuye, como describiremos más tarde, a la primera mineralización de la misma y a su transformación en matriz dentinaria calcificada (formación de la dentina del manto). Cuando la prolongación odontoblástica queda alojada en el túbulo dentinario de la matriz de la dentina recién formada el odontoblasto, que se desplaza hacia el interior. Recibe la denominación de odontoblasto maduro. Más tarde este odontoblasto continua contribuyendo al proceso de mineralización (formación de la dentina circumpulpar) y más tarde disminuye de volumen y contribuye, durante el resto de su vida que es la del diente, al mantenimiento de la matriz dentinaria.

La evolución y maduración de los odontoblastos se inicia en el vértice de la papila progresando hacia cervical, de ahí que sea posible observar en un preparado de germen dentario (en etapa aposicional temprana) los odontoblastos en sus distintos estadios de maduración.

En el proceso de diferenciación de los odontoblastos intervienen numerosos factores como se ha demostrado "in vivo". En dicho proceso, que tiene lugar en cada diente según un patrón espacio-temporal específico, participan el epitelio

dental interno, la membrana basal, los componentes de la matriz extracelular existentes en la papila y distintos factores de crecimiento. En este sentido se postula que el TGF-B (factor transformador del crecimiento) sintetizado por los preameloblastos jóvenes y adecuadamente activado en el seno de la membrana basal interactuaría con receptores existentes en la superficie de los Preodontoblastos. En estas células la estimulación conduciría a la expresión de los genes Msx2 y TGF-B. Al parecer el incremento en la expresión de estos compuestos constituye un prerrequisito fundamental para la diferenciación terminal del odontoblasto pues intervendrían en la regulación de la síntesis de la predentina (incluida la fibronectina) y en la reorganización del citoesqueleto y, en consecuencia, en la polaridad celular. (M. E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999)

La primera dentina (matriz orgánica) que se forma corresponde a la dentina del manto. Clásicamente se describía como el primer indicio de dentinogénesis la aparición de fibras reticulares entre los cuerpos de los odontoblastos, las que al nivel de su extremo apical se abren en abanico, formando la matriz fibrosa de la primera dentina. Estas fibras, denominadas fibras de Von Korff, parecen originarse a partir de la región subodontoblástica y se caracterizan por ser argirófilas (se ponen en evidencia con impregnación argéntica) según esta interpretación, la primera matriz dentinaria formada tendría origen en la papila dentinaria, y el resto en los odontoblastos.

Investigaciones recientes parecen apoyar esta idea, ya que se ha demostrado ultraestructural e inmunohistoquímicamente, la presencia de fibras de colágenos tipo I y tipo III (fibras reticulares) en los espacios interodontoblasticos, en etapas embrionarias tempranas (el colágeno tipo III se sintetiza por las células mesenquimáticas y cuando éstas se diferencian en odontoblastos deja de sintetizarse). Sin embargo, otros autores afirman que las "fibras de Von Kierff" corresponden a la sustancia fundamental amorfa, argirófila por su riqueza en GAG, que aparece entre los odontoblastos y también estrechamente unida a las fibras colágenas que se van segregando a nivel proximal. (M. E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999)

La matriz extracelular de la dentina del manto consta de gruesas fibras colágenas incluidas en abundante sustancia fundamental amorfa, que se disponen paralelamente entre sí y perpendiculares a la membrana basal (futura conexión amelodentinaria). Cuando la predentina de la dentina del manto alcanzan un espesor aproximado de 6 μm comienza la mineralización. Los odontoblastos, una vez que elaboran dicha predentina participan en el proceso de calcificación de la misma 1°) captando y almacenando calcio; 2°) elevando la concentración local de iones fosfatos, mediante la fosfatasa alcalina que se localiza en su superficie y se difunde en la matriz extracelular formando las denominadas vesículas matriciales.

El calcio puede alcanzar la predentina por vía intercelular aunque parece que lo hace fundamentalmente a través del odontoblasto. Esta célula posee para ello

canales de calcio de tipo L y distintos sistemas de transporte para este elemento (sistema de intercambio $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{++}$, sistema de ATPasa dependiente del calcio, etc.) que intervienen en la homeostasis intracelular del calcio y, facilitan su acumulación en algunas organelas como las mitocondrias.

Las vesículas matriciales, que son la base de la calcificación de esta zona de la dentina, son formaciones esféricas de 100 a 200 nm de diámetro, limitadas por una membrana que se originan por gemación a partir del odontoblasto. En su interior el calcio y el fosfato precipitan al encontrar un micro medio ambiente adecuado para ello. Para algunos autores la precipitación inicial se produce en la vertiente interna de la membrana de la vesícula en relación con la presencia de una alta fracción de fosfatidil-serina acídica y para otros, la precipitación inicial se produce en el seno de macromoléculas intravesiculares, tales como la anexina o la calbindina. Los iones acumulados en las vesículas precipitan como fosfato cálcico amorfo, para finalmente transformarse en cristales de hidroxiapatita, en general, ricos en magnesio. (M. E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999)

Los cristales crecen y terminan por romper las vesículas, esparciéndose en la matriz circundante, estos núcleos de calcificación se fusionan con otros vecinos, constituyéndose un frente lineal de calcificación. Los cristales siguen una orientación definida con respecto a las fibras colágenas, disponiéndose en su superficie y en su interior. A este respecto es importante señalar que las primeras fibras de colágeno en las que se deposita el componente mineral, son fibras en las que se detecta una presencia significativa de ATPasa dependiente del calcio. Esta

enzima que se elabora fundamentalmente en los ameloblastos se difunde al espacio extracelular y, se distribuye a lo largo de fibras de colágeno que se sitúan en la proximidad de las vesículas matriciales. La acción enzimática, elimina ATP de la proximidad de las fibras y previene la conocida inhibición que este compuesto ejerce sobre el crecimiento del cristal. La mineralización del resto de las fibras de colágena, es un proceso pasivo que tiene lugar con carácter secundario a la calcificación de estas primeras fibras. Un dato también importante en la formación de la dentina del manto es la falta de participación en el proceso de mineralización de la fosforina dentinaria (DPP) que no se segrega y, por tanto, no se detecta en este lugar. (M. E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999)

También, una vez comenzado el proceso de mineralización la fibronectina desaparece de la matriz extracelular de la dentina. Simultáneamente con el primer depósito de la dentina del manto, los ameloblastos fagocitan la lámina basal y por ello la interfaz dentina-esmalte está constituida por una mezcla de ambos tejidos.

A medida que se calcifica la dentina del manto, los odontoblastos (que ya son odontoblastos maduros) continúan produciendo matriz orgánica para formar el resto de la dentina primaria, es decir la dentina circumpulpar. La matriz extracelular de la dentina circumpulpar difiere de la anterior, pues las fibras colágenas son más finas y se disponen irregularmente, formando una red de orientación perpendicular a los túbulos dentinarios. La sustancia amorfa es producida exclusivamente por los odontoblastos.

La calcificación de la dentina circumpulpar también es diferente en varios aspectos, en relación con la dentina del manto, no se forman vesículas matriciales y la mineralización sigue un patrón globular. Esto implica que se produce a posición de cristales de hidroxiapatita en varios puntos a la vez, formándose núcleos de cristalización globulares (calcosferitos) que más tarde se fusionan con sus vecinos. Si esta fusión no se completa, persiste la dentina interglobular.

La secuencia de formación de la dentina circumpulpar consiste en la secreción por el odontoblasto de colágeno y de proteoglicanos en la zona próxima a su cuerpo celular. El colágeno en la región de la predentina configura una refibrilar y los proteoglicanos desarrollan aquí su actividad metabólica. (M. E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999)

A través de los procesos Odontoblásticos se transportan DPP, proteínas Gla y una nueva serie de proteoglicanos que son vertidos por exocitosis en el límite existente entre la predentina y la matriz dentinaria previamente mineralizada, región que se denomina frente de mineralización. A este nivel y desde el odontoblasto se liberan también iones calcio. En el frente de mineralización se forman los calcofericos. Estos pueden oscilar su diámetro desde 3 hasta 50 μm y su forma puede ser globular, ovoidea, cónica o poligonal según la velocidad de formación de los mismos.

A medida que progresa la mineralización disminuye los compuestos ricos en azufre presentes en la dentina. Nuestros estudios han puesto de relieve este hecho con microscopia electrónica analítica y la importancia que tiene la mayor o menor presencia de GAG sulfatados en la dentina de las distintas piezas dentarias, para explicar las posibles terapias de remineralización. La afinidad del calcio por macromoléculas ricas en cargas negativas, como ocurre con los GAG sulfatados, explicaría la importancia de estos compuestos en los procesos de mineralización. (M. E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999)

La dentina circumpulpar madura está más calcificada que la del manto, pero su estructura histológica es similar, ambas tienen matriz calcificada que constituye la dentina intertubular, atravesada por túbulos dentinarios. En el interior de estos túbulos, la actividad secretora de los odontoblastos lleva progresivamente a la formación de la dentina peritubular, que va reduciendo el diámetro de los mismos. La dentina circumpulpar ocupa gran volumen en el diente. La aposición rítmica de la matriz y las distintas etapas de la calcificación queda registradas, en las líneas incrementadas de la dentina. Siempre persiste una capa de dentina no mineralizada (predentina) entre los odontoblastos y el frente de mineralización cuyo espesor oscila entre 10 y 40 μm de ancho. Cuando se observan cortes descalcificados teñidos con HE, la predentina aparece de tono rosa pálido, mientras que la matriz de la zona calcificada tiene más afinidad por la hematoxilina. En la interfaz entre ambas (frente de calcificación) pueden distinguirse los calcosferitos. (M. E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999)

En ciertas patologías, la predentina puede estar ausente y en estos casos el espesor de la dentina se encuentra en gran parte disminuido, como ocurre en la dentinogénesis imperfecta asociada a la osteogénesis imperfecta letal.

La dentinogénesis de la raíz se inicia una vez que se ha completado la formación del esmalte, y ya se encuentra avanzada la deposición de la dentina coronaria. Los odontoblastos radiculares se diferencian a partir de las células ectomesenquimáticas de la periferia de la papila, bajo la inducción del epitelio interno del órgano del esmalte, que conjuntamente con el epitelio externo han pasado a constituir la vaina de Hertwig, órgano encargado de modelar la raíz.

Las etapas de maduración de los odontoblastos y los mecanismos de formación de la dentina del manto y circumpulpar, son básicamente similares a los de la corona. Existen, sin embargo, algunas variantes en la dentina del manto radicular, las gruesas fibras colágenas son paralelas entre sí y paralelas a la interfaz dentina-cemento (perpendicular a los túbulos dentinarios). Por otra parte, la aposición de dentina es más lenta en la raíz que en la corona. El patrón de mineralización es semejante, pero los calcosferitos son más pequeños. (Gómez de Ferraris, 1999).

En los dientes humanos se reconocen desde el punto de vista de su formación tres tipos de dentina: la dentina primaria, la dentina secundaria, que se forman

fisiológicamente en todas las piezas dentarias y la dentina terciaria que se produce como respuesta ante una agresión o noxa.

La dentina primaria es la que se forma primero y representa la mayor parte de ésta, delimitando la cámara pulpar de los dientes ya formados. Desde el punto de vista funcional se considera dentina primaria la que se deposita desde que comienza las primeras etapas de la dentinogénesis hasta que el diente entra en oclusión (se pone en contacto con su antagonista). Comprende la dentina del manto y la circumpulpar anteriormente descritas. Cuando el volumen de la pulpa disminuye como consecuencia de la formación de la dentina primaria los odontoblastos modifican su distribución y se organizan en varios estratos en la zona coronaria.

Es la dentina producida después que se ha completado la formación de la raíz del diente. Clásicamente se la describía como sintetizada a partir del momento en que el diente entra en oclusión, pero se ha demostrado que también se halla presente en dientes que aún no han erupcionado o están retenidos.

Esta dentina se deposita mucho más lentamente que la primaria, pero su producción continúa durante toda la vida del diente. Los anatomorpatólogos la denominan dentina adventicia, regular o fisiológica.

La distribución de los túbulos en la dentina secundaria es ligeramente menos regular que en la dentina primaria. El límite entre ambas se manifiesta por un

cambio en la dirección de los túbulos dentinarios, que en los preparados por desgaste puede observarse como una línea oscura de demarcación. (M. E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999)

La dentina secundaria se forma por dentro de la circumpulpar en toda la periferia de la cámara pulpar, alcanzando mayor espesor en el piso, techo y paredes (en especial en el piso), mientras que es más delgada en los cuernos y los ángulos diedros que los unen. La formación de esta dentina determina una progresiva disminución de la cámara pulpar, más marcada en los dientes monorradiculares, cuya cámara pulpar carece de techo y piso, y en las raíces de los multirradiculares.

La disminución del volumen de la pulpa como resultado de la formación de dentina secundaria trae como consecuencia la disminución del número de odontoblastos por un mecanismo de apoptosis.

Los cambios en el espesor del tejido dentinario pueden controlarse mediante radiografías. El Odontólogo debe tenerlo en cuenta no sólo para el tallado de cavidades (operatoria dental), sino también en el tallado de una prótesis coronaria. En efecto, en un individuo joven el procedimiento odontológico puede alterar algún cuerno pulpar y hacer una exposición pulpar accidental. En cambio en un diente adulto, que ha sufrido reducción del volumen pulpar, se puede trabajar con mayor grado de seguridad.

Esta dentina es conocida por los anatomosatólogos como dentina reparativa, reaccional, irregular o patológica. Es la dentina que se forma más internamente, deformando la cámara, pero sólo en los sitios donde existe una noxa o estímulo localizado. Es decir que esta dentina es producida por odontoblastos directamente implicados por el estímulo nocivo de manera que sea posible aislar la pulpa de la zona afectada.

Algunos autores hacen una distinción entre la dentina reaccional o reactiva, que es la dentina terciaria segregada antes un estímulo nocivo por los odontoblastos terminales postmitóticos (que se han diferenciado durante el desarrollo del diente) y la dentina reparativa, que es la dentina terciaria elaborada por una nueva generación de odontoblastos originados a partir de células precursoras de la pulpa tras la muerte de éstos como consecuencia del estímulo nocivo. La estimulación de los odontoblastos para la diferenciación y secreción posterior de dentina terciaria tendría su origen en factores de crecimiento tales como el TGF-B que sería solubilizados como consecuencia de la actividad de los ácidos de la placa bacteriana sobre la dentina.

La cantidad de la dentina terciaria que se produce se halla relacionada con la duración e intensidad del estímulo; cuando más acentuados sean esos factores, más rápida e irregular será la aposición de dentina reparativa. Por ejemplo, frente a una caries de rápido progreso y gran extensión, la pulpa puede defenderse formando dentina terciaria con un patrón tubular irregular y donde con frecuencia

pueden quedar odontoblastos incluidos (osteodentina). En estos casos se llega a depositar hasta 3,5 μm diarios de dentina. Si por el contrario, la noxa es menos activa, la dentina se deposita más lentamente, siendo su patrón tubular más regular. (M. E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999)

Si bien la dentina terciaria ofrece una protección pulpar de acuerdo con su espesor, la pulpa subyacente a la dentina terciaria puede inflamarse y su normalización del irritante, la extensión del tejido pulpar dañado y el estado previo de la pulpa.

Los patólogos consideran a la dentina reparativa dentro de la categoría de la dentina de neoformación, en la cual también estaría incluida la dentina cicatrizal o puente de dentina que se forma bajo la acción de protectores pulpares como el hidróxido de calcio u óxido de zinc. El Odontólogo utiliza tales sustancias para estimular la formación de dentina, cuando ha habido extirpación casi total de la dentina (por ejemplo, en el caso de una caries muy profunda), e incluso exposición pulpar o pulpectomía parcial. Los protectores pulpares inducen a la diferenciación de las células mesenquimáticas pulpares cercanas a la zona afectada, las cuales se transforman en odontoblastos y elaboran dentina de cicatrización; la respuesta depende, obviamente, de la vitalidad de la pieza dentaria.

Por tener incluida en su seno las prolongaciones citoplásmicas de los odontoblastos funcionales y por el licor dentinario que la nutre, la dentina se

considera un tejido vivo. El depósito de los distintos tipos de dentina fisiológica o por estímulos patológicos se producirá durante toda la vida del diente, es decir mientras dure la vitalidad de la pulpa. Esta última decrece con la edad y los túbulos dentinarios disminuyen progresivamente su calibre. Algunos autores consideran que los odontoblastos podrían actuar en determinadas circunstancias como odontoclastos resorbiendo parcialmente la dentina.

Para estos autores la resorción y la aposición se produciría durante toda la vida asegurando la renovación y la remodelación de la dentina. Este mecanismo podría contribuir al mantenimiento del nivel normal de calcio en suero (calcemia), sobre todo en estados graves de hipocalcemia. La detección de abundante dentina interglobular en personas con serias deficiencias de calcio constituye una clara evidencia de lo arriba indicado. (M. E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999)

La actividad funcional más significativa, sin embargo, del tejido dentinario consiste en actuar como soporte mecánico en la normal actividad masticatoria de las piezas dentarias y en participar también, por sus caracteres estructurales y biológicos, en la defensa y en la sensibilidad del complejo dentino-pulpar. A continuación se describen más pormenorizadamente algunas de estas actividades funcionales.

Como consecuencia de su composición química y de su estructura histológica la dentina posee dos propiedades físicas esenciales, la dureza y la elasticidad, que resultan imprescindibles para ejercer su función mecánica en la fisiología de las piezas dentales. La dentina constituye, en este sentido, el eje estructural del diente sobre el que se articula el resto de los tejidos duros del mismo, el esmalte y el cemento. La dentina, además, facilita con su grado de elasticidad que el esmalte, duro y rígido, pero quebradizo, quede protegido de los distintos impactos masticatorios. Ello se debe a la pequeña compresiibilidad que le otorgan la existencia en su seno de fibras colágenas aun cuando la dentina sea un tejido también mineralizado.

La dentina defendiéndose ante las distintas agresiones que actúan sobre ella, formando además de la dentina terciaria las denominadas dentina translúcida y dentina opaca. (M. E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999)

Los estímulos nocivos, además de provocar el depósito de dentina terciaria, pueden inducir cambios en la morfología de los túbulos de las propias dentinas primaria y secundaria.

En las regiones dentinarias sometidas a estímulos lentos, persistentes y no muy severos, puede producirse depósito de sales de calcio sobre las prolongaciones odontoblásticas en degeneración, o alrededor de las mismas, aumentando de esta manera la cantidad de dentina peritubular, la cual puede llegar a obliterar completamente los túbulos. De esta manera, toda la región queda constituida por

matriz mineralizada al observar cortes por desgaste al MO se verá más clara que el resto, estas zonas son más mineralizadas, pero también más frágiles que la dentina normal.

La dentina translúcida suele formarse debajo del esmalte con laminilla o fisuras, o bien con caries de evolución lenta. En las personas de edad se produce la denominada dentina esclerótica fisiológica, por obliteración mineralización de los túbulos en la dentina radicular en especial en la zona apical. En una pieza dentaria cuya cámara y conductos se ven radiográficamente disminuidos, se reducen las posibilidades de conservación de la pulpa lesionada. La permeabilidad de la dentina es un hecho determinante en la respuesta pulpar, la cual dependerá entre otros varios factores de la edad del tejido pulpar, la composición de los tejidos duros del diente, el contenido en fluoruros, la higiene oral, la saliva y la dieta.

Cuando la dentina es afectada por una lesión relativamente intensa, los odontoblastos se defienden retrayendo sus prolongaciones quedando segmentos de túbulos vacíos sin proceso odontoblástico. Si el estímulo es excesivo se produce la muerte de los odontoblastos y una necrosis de las prolongaciones, quedando los restos celulares incluidos en los túbulos, acompañados de líquido y sustancias gaseosas.

Como este proceso lleva algún tiempo, puede ocurrir algunas precipitaciones de calcio. La zona de dentina afectada por prolongaciones odontoblásticas degeneradas se denomina dentina opaca o tractos desvitalizados o muertos. Cuando se observa con el MO un corte de diente por desgaste, estas zonas aparecen negras, pues los túbulos se llenan de aire. Esta dentina se localiza especialmente en los vértices de los bordes incisales o de los cuernos pulpares, debajo de zonas abrasión. Con frecuencia está acompañada por dentina reparativa que protege a la pulpa de la zona subyacente. También puede formarse dentina opaca en regiones cervicales, ya sea porque hay una abrasión o por que la dentina está expuesta sin protección de esmalte o cemento. Con la edad aumenta la formación de este tipo de dentina, en especial en la porción coronaria del diente.

La dentina translúcida y la dentina opaca son consideradas “dentina de remineralización”. Si bien ambas dentinas son menos permeables y más resistentes que la normal, otorgándole mayor protección en casos de filtración o invasión bacteriana. No obstante en dientes en desvitalizados la filtración es mayor por la ausencia del licor dentinario. (M. E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999)

El profesional Odontólogo conoce que la dentina es un tejido sumamente sensible y que todos los estímulos externos (calor, frío, etc.) recibidos por las

terminaciones nerviosas de la pulpa, se interpretan de la misma manera y producen siempre la sensación de dolor.

Si bien la propagación del estímulo nerviosos está en íntima relación con la estructura de la dentina, se desconoce y se discute aún la forma de cómo se transmiten los impulsos y cual es la estructura que sirve de base al mecanismo de esta sensibilidad.

Debe recordarse que los tejidos dentinario y pulpar constituyen un verdadero complejo, no sólo desde el punto de vista embriológico y estructural, sino también funcional, ya que los procesos biológicos de ambos están estrechamente relacionados entre sí.

La pulpa tejido blando de origen mesenquimatoso residente en la cámara pulpar y los conductos radiculares. Por su entorno limitado específico la mayoría de sus lesiones son irreversibles y dolorosas, (Cortes Torres J, 1995).

Entre las funciones de la pulpa están: Formativa, formando dentina durante toda la vida. Nutritiva, manteniendo la vitalidad de la dentina. Neurológica y sensitiva, cumpliendo funciones primarias de control vasomotor y defensa (dolor).

Defensiva, mediante células de defensa (inflamación) y con la respuesta calcificado y produciendo más dentina. Estética, en la conservación del tono, matiz y translucidez de los dientes. (Cortes Torres J, 1995.).

En el tejido pulpar los nervios mielinizados y no mielinizados penetran por el foramen apical acompañados del paquete vascular. Siguen por lo general el recorrido de los vasos sanguíneos aferentes, siendo de gran tamaño en la parte central de la pulpa. Otros cursan con independencia y emiten prolongaciones arboriformes hacia la periferia para terminar como redes (plexos) en la zona subyacente a los odontoblastos (oligocelular de Weil o zona basal de Weil). Estas fibras nerviosas localizadas en la zona acelular, conforman un plexo nervioso denominado plexo de Raschkow. Se pueden poner de manifiesto con MO mediante técnicas de sales de plata.

Las fibras nerviosas que penetran en la pulpa dentinaria son mielínicas y amielínicas, rodeadas por una vaina de tejido conectivo. La cantidad y grosor de los axones nerviosos varían de acuerdo con el elemento dentario; también existen entre elementos dentarios permanentes y temporales, y entre dientes en desarrollo y dientes totalmente maduros. Los axones que llevan la sensibilidad a la pulpa dentaria son preferentemente fibras aferentes sensoriales del trigémino. Junto a ellos llegan a la pulpa ramas simpáticas del ganglio cervical superior que alcanzan los vasos sanguíneos y generan vasoconstricción. (M E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999).

Hay fibras mielínicas A, que son responsables del dolor agudo, punzante, (localizadas en la región periférica de la pulpa) y fibras nerviosas amielínicas C

responsables del dolor difuso, por ejemplo producido en la pulpa por caries, (se localiza en la zona profunda de la pulpa).

Todas las fibras sensoriales alcanzan el plexo subodontoblástico como fibras amielínicas. Algunos de estos axones miden aproximadamente 2 μ m, otros pierden la delgada vaina de Schwann y penetran entre los cuerpos de los odontoblastos. Con el MET se demostró que algunas fibras nerviosas penetran dentro del túbulo dentinario y se disponen en estrecha relación con la prolongación odontoblástica, estableciendo uniones similares a sinapsis.

Algunas de estas fibras nerviosas terminan en la predentina o dentina (tercio interno). Las fibras nerviosas intertubulares contienen neurotúbulos, neurofilamentos, vesículas y numerosas mitocondrias. La estrecha relación entre fibrilla nerviosa y prolongación o proceso odontoblástico tienen importancia en la transmisión del impulso nervioso.

La determinación de la estructura que sirve de base al mecanismo de sensibilidad dentaria ha sido de numerosísimos estudios, los cuales han arrojado resultados dispares, originando una serie variable de hipótesis. Estas hipótesis son susceptibles de agruparse, de manera que se evidencien las principales teorías o corrientes de opinión sustentadas sobre el tema. Así, tres mecanismos podrían explicar la sensibilidad de la dentina. Los tres exigen la comprensión de las estructuras nerviosas del complejo dentino-pulpar.

Un primer grupo de autores sostiene que la base morfológica que explica el mecanismo de sensibilidad dentinaria, al igual que ocurre en otros territorios del organismo viene dada por la presencia de terminaciones nerviosas propias.

Sin embargo, si bien se conoce que existe inervación por parte del plexo de Raschkow, no se ha podido demostrar la cantidad de fibrillas nerviosas que hay por túbulos dentinarios. Además existen dudas de cómo se transmitiría la sensibilidad en la parte externa de la dentina (que es la más sensible) ya que no se ha demostrado la presencia de terminaciones en esa zona. También la aplicación de diferentes anestésicos en superficie no elimina el dolor. (M. E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999)

Un segundo grupo de autores sustentan que el odontoblasto actuaría como receptor del estímulo y que estaría acoplado a las terminaciones nerviosas de la pulpa mediante la sinapsis. Se propone que el odontoblasto, al ser una célula derivada de la cresta neural, podría haber retenido la capacidad de recibir estímulos a través de sus prolongaciones citoplasmáticas, las cuales llegan hasta la periferia de la pulpa donde se ramifican y anastomosan, así como transmitir los estímulos y establecer sinapsis con fibras nerviosas de la pulpa. La actividad del odontoblasto como célula nerviosa no ha podido ser comprobada, como tampoco la sinapsis odontoblasto-axón.

La teoría hidrodinámica de Brannstrom es, en el momento presente, la más aceptada. Dicha teoría tiene en cuenta la presencia de líquido o licor dentinario dentro de los túbulos; un líquido que es ultrafiltrado del plasma del tejido conectivo de la pulpa.

La teoría postula que los estímulos que actúan sobre la dentina provocan un movimiento del citado líquido dentinal, que transmite las diferencias de presión existentes a las terminaciones nerviosas libres intratubulares y por ende al plexo nervioso subodontoblástico. También, se tiene en cuenta que el licor dentinario circula lentamente por los túbulos (impulsado por la presión de los capilares de la pulpa) y el movimiento podría verse alterado por diferentes estímulos sobre el complejo dentino-pulpar. Así, de este modo, se distorsionaría el medio pulpar local y se afectarían las terminaciones nerviosas del plexo de Raschkow.

En operatoria dental, cuando la dentina se expone al realizar una cavidad, el líquido dentinario fluye hacia la cavidad. Si se seca, ya sea con una torunda de algodón o con aire, hay mayor pérdida de líquido, con cambios en el coeficiente de expansión, que estimulan las terminaciones nerviosas libres y originaría dolor.

Además de la desecación, el calor también provoca el movimiento de licor hacia fuera mientras que el frío en cambio lo desplaza hacia la profundidad. El desplazamiento del fluido dentinal en cualquier sentido, estimula únicamente las terminaciones nerviosas.

Las dos teorías comentadas en primer término no pueden explicar la sensibilidad dentinaria existente en la conexión amelodentinaria; en cambio la teoría hidrodinámica, sí lo hace, puesto que en este nivel existen ramificaciones de los túbulos dentinarios, que están ocupadas por líquido dentinario (y tal vez por los procesos Odontoblásticos). (M. E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999)

El conocimiento de la estructura histológica de la dentina y de su dentinogénesis, permite explicar e interpretar con más claridad las alteraciones patológicas que afectan a la misma, así como el sustrato y el mecanismo de algunas de las pautas terapéuticas que más se utilizan en odontología.

En relación con las alteraciones patológicas, la caries dentinaria es un proceso que resulta entre otros factores, de la desmineralización ácida del componente mineral de la matriz dentinaria al que sigue una degradación posterior del componente orgánico. La alta permeabilidad de la dentina (debida a los túbulos dentinarios) desempeña un papel importante en la extensión del proceso de la caries. Cuando la lesión alcanza la conexión amelodentinaria progresa rápidamente hacia la profundidad, encontrándose bacterias cariogénicas en los túbulos bastante más adentro que la zona de dentina afectada por la caries.

Por otra parte, las alteraciones que afectan a la formación de la dentina son básicamente de origen genético y se clasifican en dos grandes grupos: dentinogénesis imperfecta (DI) y displasia dentinaria (DD). Ambos procesos se

subdividen en varios grupos, afectan a ambas denticiones y presentan un carácter hereditario autosómico dominante. La dentinogénesis imperfecta se subdivide en los subtipos I, II y III. La variedad tipo I está asociada con la osteogénesis imperfecta y con mutaciones de los genes que expresan colágeno tipo I. La displasia dentinaria es menos frecuente y se subdivide en dos subtipos, la displasia tipo I y la displasia tipo II. (M. E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999)

En relación con la terapéutica odontológica unos de los aspectos fundamentales a considerar en la prevención de un daño irreversible de la pulpa al preparar una cavidad o al tallar una corona. A este respecto se debe procurar mantener, en lo posible, la vitalidad pulpar del diente, así como su estructura y morfología, durante los procedimientos de restauración dentaria.

Al tallar una cavidad debemos tener presente el diámetro de los túbulos dentinarios que varía desde la superficie externa de la dentina hasta la unión pulpodentinaria, datos de importancia para la futura estabilidad de la interfaz dentina y material restaurador.

Así, durante su preparación debe evitarse el calor excesivo, que no sólo daña el tejido pulpar sino también a los tejidos duros produciendo "grietas" en la superficie de esmalte y dentina. Se debe usar refrigeración abundante con agua tibia para evitar el calor friccional. Hay que tener en cuenta la elección de las piedras, fresas

de diamante y fresas de carburo, que estén limpias y nuevas para un efectivo corte y qué velocidad (RPM) se imprimirá al equipo, ya que el uso inadecuado genera calor. Este calor excesivo es sumamente traumático para la pulpa, pues es probable que en estos casos haya una alteración de la evaporación del licor dentinario, y que a la vez esto produzca la aspiración de los odontoblastos hacia el conductillo, produciendo lesión pulpar. Estas lesiones pueden ser detectadas por signos clínicos de dolor y molestias hasta meses y años más tarde, de ahí el cuidado que debemos tener en la preparación de cavidades o tallado con fines protésicos.

También se debe poner especial cuidado en la elección de los materiales dentales restauradores, ya que, por ejemplo, las resinas acrílicas son dañinas para la pulpa así, como los silicatos, por su contenido ácido. Al emplearlos se debe proteger previamente el piso de la cavidad con una sustancia inocua como el hidróxido de calcio o barnices protectores. Hay que destacar y recordar que los materiales dentales si bien se colocan en dentina, biológicamente estamos trabajando en el complejo dentino pulpar, de ahí surge el cuidado en la elección y preparación de los mismos.

Existen investigaciones que demuestran que el "Smear layer" (o capa estirada) que es una micropelícula que queda adherida a las paredes cavitarias después de su preparación mecánica, es la encargada de proteger a la pulpa, y químicamente

tiene una composición igual a la dentina. (M. E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999)

Se ha observado que los daños en el tejido pulpar atribuibles exclusivamente a la acidez o toxicidad de los materiales no son tales, sino que se debería a varios factores que actúan a la vez. Entre ellos se menciona la irritación mecánica, presiones excesivas, microfiltraciones, defectos en el sellado y microfracturas o microdefectos en el tejido dental. También influye el mayor diámetro de los túbulos, el aumento de presión del fluido dentinario y la menor cantidad de dentina intertubular. Aspectos histológicos que por su heterogeneidad inciden en los sistemas de adhesión (mecánica o química) de los diferentes materiales restauradores utilizados en la operatoria dental. La adhesión depende de la permeabilidad dentinaria, cuando es mayor es difícil conseguir una adhesión estable y duradera entre el material y la pared cavitaria. (M. E. Gómez de Ferraris A. Campos Muñoz, 1999)

En la relación con la terapéutica dentinaria comentaremos por último que las nuevas técnicas de Ingeniería tisular están desarrollando protocolos de regeneración de dentina, induciendo el desarrollo de la misma, a partir de la acción sobre la pulpa de distintas sustancias inductoras (preferentemente una combinación de BMP-2, BMP-4 y bmp-7 o proteína osteogénica 1 OP1) que unidas a diferentes vehículos o vectores (matrices colágenas, polímeros sintéticos, etc.). Se colocan en la proximidad de la superficie pulpar (en el fondo de la

cavidad labrada en la dentina) para producir, de forma programada, dentina terciaria. (Gómez de Ferrari, 1999).

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 General

Aislar dentina humana para realizar el proceso de liofilización.

1.5.2 Específicos

Realizar el proceso de liofilización de la dentina.

Identificar la presencia de DNA en dentina liofilizada humana.

2. METODO

2.1 TIPO DE ESTUDIO

Descriptivo tipo exploratorio.

2.2 OBJETO DE ESTUDIO

Dentina liofilizada humana.

2.3 PROCEDIMIENTO

Fase 1. Selección de los dientes aptos para obtener la dentina.

Se tomó previamente los datos personales de cada uno de los pacientes, a los cuales les fue realizada la cirugía a método abierto en el Colegio Odontológico Colombiano. (Anexo 1).

Donde se obtuvo doce estructuras dentarias de terceros molares incluidos desprovistos de algún microorganismo, se siguió un correcto proceso de bioseguridad durante el procedimiento quirúrgico los dientes fueron colocados en cajas de Petri de 100x15 mm previamente estériles las cuales contenían una

dilución de 800 mg de tetraciclina en 100 ml de solución salina. Antibiótico de amplio espectro que evitó la destrucción de la fibra colágena y produjo mayor fijación a las estructuras del diente. Esta dilución nos garantizó la conservación,



hidratación y asepsia de las estructuras dentaria obtenidas (figura 1).

Figura 1

Las estructuras dentarias se conservaron selladas y marcadas en nevera a una temperatura de -40°C durante 20 días mientras se continuaba con el aislamiento y obtención de la dentina.

Fase 2. Obtención de dentina liofilizada.

Consistió en el diseño de una caja de vidrio con medidas de 20x25x20 cm la cual tenía dos orificios laterales para permitir el acceso del micromotor Dremel libre de contaminación y poder realizar dentro de ella los cortes sagitales y verticales a las estructuras dentarias obtenidas, con la ayuda de un disco de diamante fijado en un mandril (figura 2)



Figura 2.

Al retirar los dientes de la dilución de tetraciclina con agua destilada se observó que al hacer los cortes anteriormente mencionados se diferenció la dentina de otros componentes dentales como cemento, esmalte y restos pulpares; se separó con fresas de diamante estériles obteniendo dentina pulverizada libre de líquidos (liofilizada) para un total de 3.8 gr que luego se almaceno en un frasco de vidrio con tapa de vidrio estéril a temperatura de -40°C (figura 3, 4 y 5).



Figura 3.



Figura 4.

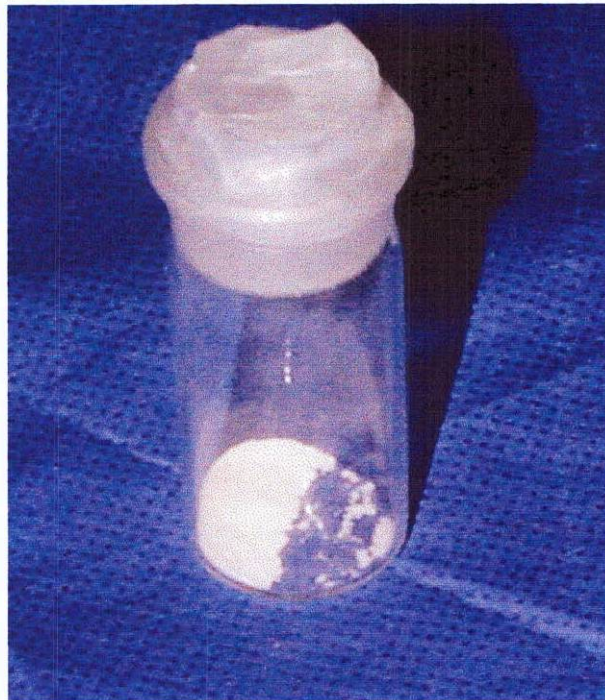


Figura 5.

Para la obtención de dentina liofilizada en pacientes con problemas sistémicos se realizó el mismo procedimiento anterior y se almacenó en un frasco de las mismas características marcado como B (figura 6).



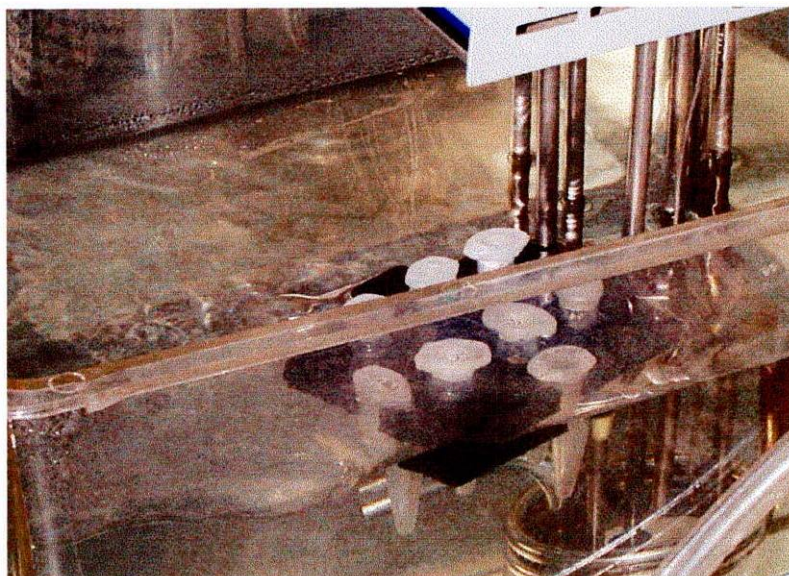
Figura 6.

Fase 3. Identificación de DNA en dentina liofilizada humana.

El protocolo que se siguió para el aislamiento de DNA en dentina liofilizada humana fue el siguiente: en una cámara de flujo laminar con mechero se esterilizo los bordes del frasco que contenía la dentina liofilizada, se peso en una balanza analítica 0.05 gr de dentina que se diluyó en 300 μ l de agua pentadestilada estéril para pcr y se sello la solución con parafina en donde se puso a 56°C durante 1 hora a baño de María para que se precipitara la dentina. (Figura 7. y 8.)



Figura 7.



La dentina precipitada se hidrató por 15 min. para lisar las prolongaciones citoplasmáticas y se centrifugo a 14.000 RPM durante 20 segundos, al cabo de este tiempo se eliminó el sobrenadante y al pellet se le agregó 300 μ l de solución de lisis nuclear para romper y liberar el DNA; se volvió a centrifugar a 14.000 RPM durante 15 segundos y se eliminó el sobrenadante a éste pellet se le agregó 100 μ l de solución de precipitación de proteínas y se centrifugó a 14.000 RPM durante 3 minutos.

El sobrenadante se transfirió a un tubo de 15 ml al NO obtener bandas de DNA igualmente NO se encontró DNA para la dentina liofilizada.

3. RESULTADOS

Los resultados obtenidos fueron:

Obtención de dentina liofilizada humana. Para un total de 3.8 gramos así:

En pacientes sistémicamente sanos se obtuvieron 9 estructuras dentarias para un parcial de 3.0 gramos de dentina liofilizada.

En pacientes sistémicamente comprometidos se obtuvieron 3 estructuras dentarias para un parcial de 0.8 gramos de dentina liofilizada (gráficas 1 y 2) (tablas 1 y 2).

Identificación de DNA:

En la dentina liofilizada humana no se encontró DNA por los métodos protocolo para aislamiento de DNA Genomic, DNA purificación, kit promega y electroforesis.

4. DISCUSION

El hecho de que la dentina liofilizada sirva para mantener vital un diente solo se conocerá con estudios posteriores cuya investigación se concentrará en saber si existe posibilidad de generar una dentinogénesis en dientes que puedan haber sufrido una exposición pulpar,.

El complejo de tetraciclina con agua destilada permitió identificar fácilmente la dentina de las demás estructuras dentaria debido a la fijación que produjo en éste tejido.

Así mismo se comprobó que si es factible el aislamiento correcto de dentina de un diente para liofilizarla.

En la dentina liofilizada no se encontró DNA por que era muy poco y no se precipitó o el método para aislar el DNA no fue el adecuado.

La liofilización a -40°C es necesaria para mantener y conservar las propiedades de las proteínas y características de la dentina.

5. CONCLUSIONES

Partiendo de la similitud entre el hueso y la dentina se comprobó que si es factible obtener dentina liofilizada.

Si fue factible aislar de manera correcta la dentina con ayuda de la fijación que produjo la tetraciclina en el tejido dentinal.

La dentina liofilizada no posee DNA, confirmando con el método de electroforesis y protocolo para aislamiento de DNA Genomic, DNA purificación, Kit Promega.

6. RECOMENDACIONES

Los investigadores recomiendan:

Realizar investigaciones tendientes a verificar si existen diferencias genéticas entre la dentina humana y animal.

Realizar estudios posteriores tendientes a verificar si es posible que la pulpa acepte dentina previamente manipulada (liofilizada) y continúe la vitalidad del diente induciendo la dentinogenesis.

Realizar estudios comparativos por otros métodos que inducen la dentinogénesis.

Realizar por otros métodos la identificación de DNA en dentina liofilizada.

BIBLIOGRAFIA

BABBUSH. Implantes Dentales, Edit Interamericana. Mc Graw – Hill, 1995, Pgs. 236 – 37.

CABRERA, Manuel, Histoembriología Bucodentaria, Edit. Pueblo y Educación, Cuba, Pags, 105 – 115- 141- 150.

DICCIONARIO Enciclopédico Terranova, Editores Terranova LTDA, Santafé de Bogotá. 1996.

ENCICLOPEDIA Microsoft R En Carta R 98, Detectores de Partículas. Microsoft Corporation (e), 1993 – 1997.

GOLDMAN, Henry Maurice. Periodoncia Paradontológica, 1960, Pags. 323 – 328.

GOMEZ DE FERRARIS. CAMPOS MUNOZ. Histología y Embriología Bucodental, Edit Médica Panamericana, 1999, Pags, 197 - 225

JO, Anderson. T, Nei. Acción de la Congelación en la Liofilización de las Actividades Enzimáticas de Hematies Humanos, Universidad de Hokkaido, Sapporo, Japón, 1973.

WWW.MANAXX.COM/LIOFILL.HTM

CORTES TORRES, Jorge Orlando. Fundamentos en Endodoncia, 1995, Págs, 34-35-36-37.

ANEXOS 1

DATOS PERSONALES DE LOS PACIENTES

Paciente 1	
Nº	318025
Edad	27 años
Género	Femenino
Raza	Blanca
Tto. Médico Actual	Ninguno
Droga Actual	Ninguna
Enfermedades	Ninguna
Incluidos	2

Paciente 2	
Nº	
Edad	19 años
Género	Másculino
Raza	Blanca
Tto. Médico Actual	Ninguno
Droga Actual	Ninguna
Enfermedades	Ninguna
Incluidos	1

Paciente 3	
Nº	
Edad	21 años
Género	Másculino
Raza	Morena
Tto. Médico Actual	Ninguno
Droga Actual	Ninguna
Enfermedades	Ninguna
Incluidos	1

Paciente 4	
Nº	
Edad	22 años
Género	Másculino
Raza	Morena
Tto. Médico Actual	Ninguno
Droga Actual	Ninguna
Enfermedades	Ninguna
Incluidos	3

Paciente 5	
Nº	321321
Edad	18 años
Género	Femenino
Raza	Blanca
Tto. Médico Actual	Ninguno
Droga Actual	Ninguna
Enfermedades	Ninguna
Incluidos	2

Paciente 6	
Nº	318889
Edad	20 años
Género	Femenino
Raza	Blanca
Tto. Médico Actual	Ninguno
Droga Actual	Acido Valproico
Enfermedades	Epilepsia
Incluidos	3

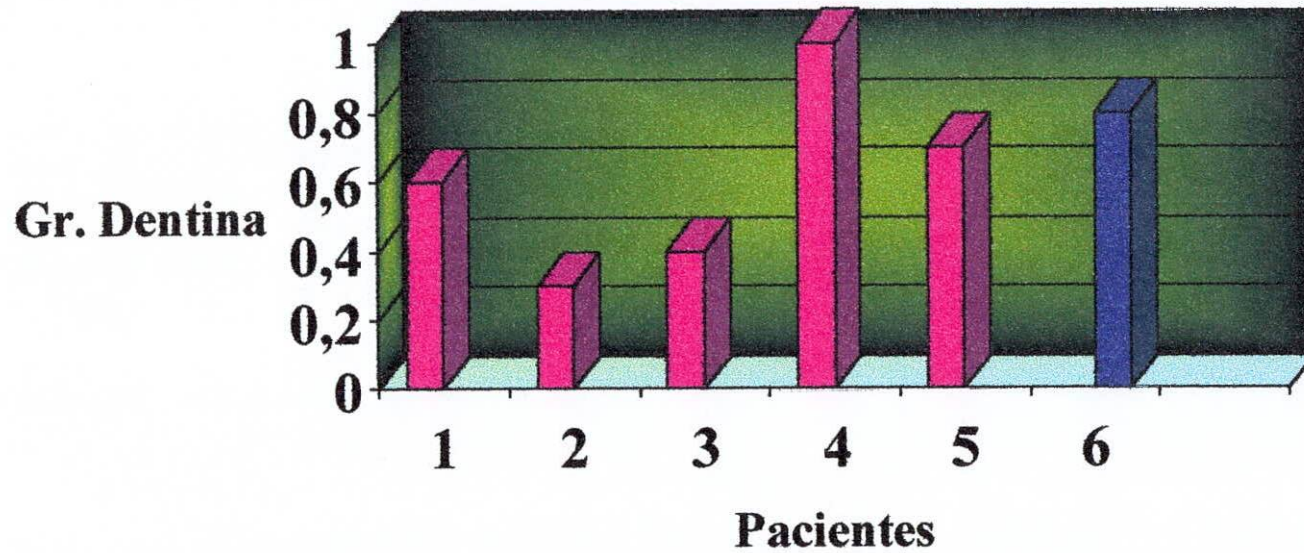
TABLA 1

Gramos obtenidos/pacientes/estructuras dentarias

PACIENTE	ESTRUCTURAS DENTARIAS	Gr. DENTINA LIOFILIZADA
SANO		
1	2	0.6
2	1	0.3
3	1	0.4
4	3	1.0
5	2	0.7
NO SANO		
6	3	0.8
TOTAL	12	3.8

Gráfica 1

GRAMOS OBTENIDOS/PACIENTE/ESTRUCTURAS DENTARIAS



■ Pacientes Sanos ■ Pacientes no sanos

TABLA 2

**TOTAL DE GRAMOS OBTENIDOS EN PACIENTES
SISTEMICAMENTE SANOS Y SISTEMICAMENTE
COMPROMETIDO**

PACIENTES SISTEMICAMENTE SANOS		PACIENTES SISTEMICAMENTE COMPROMETIDOS	
Nº	%	Nº	%
5	79	1	21

Gráfica 2

**Total de Gramos Obtenidos en Pacientes
Sistemicamente Sanos y Sistemicamente
Comprometidos**

