



Universidad de Valparaíso  
Facultad de Odontología  
Escuela de Odontología  
Cátedra de Operatoria

# **Evaluación de la Fluorescencia en la Dentición Humana**

Trabajo de Investigación  
Requisito para optar al  
Título de Cirujano Dentista

Alumnas: Carolina Gaete Jiménez  
Viviana Muenta Rojas  
Carolina Romann Vega

Docente Guía: Dr. Rodrigo Rubio Aguilar

Docente Colaborador: Prof. Patricio Sotomayor L.

Valparaíso  
2006

*A mamá María Angélica y a papá Sergio, porque sin su confianza ni su esfuerzo no hubiera podido cumplir mis sueños.*

*A mis seis hermanos, porque hay en mí un pedacito de cada uno de ellos, presentes en cada momento.*

*A mis queridos e inseparables amigos, especialmente tú; porque sin ellos mi vida lejos de casa hubiera sido más difícil...*

*Caro.*

*A mis padres, Rosa y Sergio, por su apoyo incondicional a la distancia y alentarme a seguir adelante y cumplir mis metas.*

*A mis hermanas Rosa y Gloria por estar conmigo en todo momento y compartir sus conocimientos y experiencias.*

*A Sebastián por entenderme en mis buenos y malos momentos; ayudándome a salir de la rutina y stress estudiantil.*

*Vivi.*

*A mis padres, Carlos y Paulina, porque gracias a su esfuerzo y sacrificios pude alcanzar esta meta.*

*A mis hermanos, Edith y Carlos, por ayudarme cada vez que lo necesité.*

*A mis amigos, por compartir conmigo los mejores momentos vividos durante estos años de universidad.*

*Caro R.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos al Departamento de Química y Ciencias Matemáticas de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, especialmente al Prof. Sr. Patricio Sotomayor López y Prof. Sr. Juan Eduardo Brunet por su valiosa cooperación y excelente disposición al facilitarnos el Espectrofluorímetro ISS K2 cuando así se lo requerimos.

Al Dr. Rodrigo Rubio Aguilar, nuestro docente guía, por introducirnos en un tema poco conocido para nosotras. Por invertir parte de su tiempo en ayudarnos a resolver cada uno de los inconvenientes que se nos presentaron durante el transcurso de nuestra investigación.

A nuestras familias por ayudarnos incondicionalmente a seguir adelante durante estos años de esfuerzo, quienes nos apoyaron y acompañaron en este camino emprendido. Gracias por brindarnos el amor necesario para sobreponernos a nuestras caídas, y alentarnos a dar lo mejor de nosotras en todo momento.

A nuestros compañeros y amigos personales, Andrea, Bárbara, Barraza, Ely, Karen, Mabel, Marce, Martin, Mauro, Pame, Pauli y Rubén que estuvieron junto a nosotras en los momentos de crisis, y también de alegrías.

A Marcos Chávez y Sra. Gaby González, encargados de la biblioteca de nuestra facultad por facilitarnos el material necesario durante la carrera, y el desarrollo de esta investigación.

## ÍNDICE

<b>CONTENIDOS</b>	<b>PÁGINAS</b>
<b>Introducción.</b>	1
<b>Marco Teórico.</b>	2
<b>Capítulo I: Radiación Electromagnética.</b>	
1.1 Propiedades de la Radiación Electromagnética.	2
1.2 Espectro Electromagnético.	3
1.3 Naturaleza De La Luz.	3
1.4 Luz Ultravioleta.	4
1.4.1. Luces Negras.	5
1.5 Fenómenos Ópticos de la Luz.	6
1.5.1 Reflexión.	6
1.5.2 Refracción.	7
1.5.3 Transmisión.	7
1.5.4 Difracción.	8
1.5.5 Opalescencia.	9
1.5.6 Color.	9
1.5.6.1. Sensibilidad del Ojo y Tipos de Visión.	9
<b>Capítulo II: Luminiscencia.</b>	
2.1 Fotoluminiscencia.	12
<b>Capítulo III: Fluorescencia e Instrumentación.</b>	
3.1 Factores que Influyen en la Fluorescencia.	16
3.2 Compuestos Orgánicos Fluorescentes.	17
3.2.1 Fluorescencia En Proteínas.	17
3.2.2 Propiedades Espectrales de los Aminoácidos Fluorescentes.	18
3.2.3 Características Generales de la Fluorescencia en las Proteínas.	19
3.3 Compuestos Inorgánicos Fluorescentes.	20
3.3.1 Tierras Raras.	21
3.4 Espectrometría.	22
3.4.1. Instrumentos Para Medir Fluorescencia.	22
3.4.1.1 Componentes de los Instrumentos.	23
3.4.1.2 Diseño Del Espectrofluorímetro.	24

## **Capítulo IV: Histología del Diente.**

4.1 Esmalte.	25
4.1.1. Composición Química.	25
4.1.2. Estructura Histológica del Esmalte.	27
4.2 Dentina.	28
4.2.1. Composición Química.	28
4.2.2. Estructura Histológica de la Dentina.	30
4.3. Pulpa.	31
4.3.1. Componentes Estructurales de la Pulpa.	31
4.4. Cemento.	32
4.4.1. Componentes Estructurales del Cemento.	32

## **Capítulo V: Propiedades Ópticas del Diente**

5.1 Propiedades ópticas del esmalte.	34
5.2 Propiedades ópticas de la dentina.	35
5.3 Fluorescencia en diente.	35
5.3.1 Antecedentes Históricos.	35
5.3.2 Factores que Interfieren en la Emisión de Fluorescencia del Diente.	36
5.3.3 Diferencias en la Emisión de Fluorescencia entre Dientes Sanos y con Caries.	37

<b>Hipótesis y Objetivos.</b>	39
-------------------------------	----

<b>Materiales y Métodos.</b>	40
------------------------------	----

<b>Resultados.</b>	47
--------------------	----

<b>Discusión.</b>	57
-------------------	----

<b>Conclusión.</b>	61
--------------------	----

<b>Resumen.</b>	62
-----------------	----

<b>Sugerencias.</b>	63
---------------------	----

<b>Bibliografía.</b>	64
----------------------	----

<b>Anexos.</b>	68
----------------	----

## INTRODUCCION

Dada la exigencia estética que ha adquirido la odontología, y el desarrollo de diversos materiales biomiméticos, ha despertado interés la evaluación de propiedades ópticas del diente y en particular de esmalte y dentina, de forma de crear nuevos materiales que sean capaces de imitar la naturaleza lo más fielmente posible y así responder a la inquietud de la población demandante.

La exposición del ser humano a distintas fuentes lumínicas, entre ellas las luces negras, deja de manifiesto la carencia de propiedades estéticas de las diferentes restauraciones, privilegiando las características colorimétricas y no el fenómeno fluorescente del tejido dentario.

En el transcurso de los años, los estudios realizados para resolver esta problemática han sido escasos, o no han sido realizados enfocados en el diente propiamente tal, sino que han evaluado la fluorescencia dental como parámetro de comparación con materiales estéticos, obteniendo como resultado datos que corresponden a muestras no representativas dadas por el bajo número de especímenes en estudio.

Aún así, en la escasa literatura encontramos que la mayoría de los autores, al referirse a las propiedades fluorescentes que presenta el diente, no establecen claramente el tejido responsable. Sin embargo, existe la creencia de que la dentina es la principal responsable de la emisión de fluorescencia, otorgando un papel menos importante al esmalte, lo cual ponemos en duda y es el objeto de esta investigación junto con dar parámetros precisos de evaluación de la fluorescencia en la dentición humana.

## MARCO TEÓRICO

### CAPÍTULO 1: RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA

La radiación electromagnética conforma una combinación de campos magnéticos y eléctricos oscilantes que se propagan a través del espacio llevando energía de un sitio a otro (Resnick, 2002). En términos físicos se llama "luz", solo a una pequeña parte de este espectro. (Steenbecker, 2006)

Dependiendo del fenómeno que se quiera estudiar, la radiación electromagnética se puede considerar como onda o como fotón. Este último término se refiere a paquetes de energía electromagnética concentrada sin masa. Esta dualidad onda-corpúsculo determina que cada fotón tenga una energía proporcional a la frecuencia de la onda asociada, dada por la ecuación de Planck:  $E = hf$ , donde  $E$  es la energía del fotón,  $h$  es la Constante de Planck ( $h = 6.6261 \times 10^{-34} \text{ Js}$ ) y  $f$  la frecuencia de la onda (Resnick, 2002).

La velocidad de propagación en el vacío para las ondas electromagnéticas, es de  $3 \times 10^8$  m/s (Resnick, 2002).

#### 1.1. Propiedades de la Radiación Electromagnética

Las ondas de radiación electromagnética se componen de crestas y valles. Las crestas se ubican sobre la línea base, y los valles bajo ésta (Resnick, 2002). Dentro de los parámetros para definir esta onda se encuentran: (Fig. 1)

- ✚ **Longitud de onda ( $\lambda$ ):** Distancia entre dos crestas o valles adyacentes en una onda de un haz de radiación. Esta dada por la relación entre la velocidad y la frecuencia (Resnick, 2002; Ewing, 1978).
- ✚ **Período (T):** Es el tiempo que tarda una onda para recorrer la distancia de una longitud de onda. Se expresa en segundos (Ewing, 1978; Resnick 2002).
- ✚ **Frecuencia de la onda (f):** Número de oscilaciones por segundo, descritas por una onda electromagnética, y está dada en Hertz (Ewing, 1978).
- ✚ **Amplitud de onda (A):** Definida por la distancia que separa el pico de la cresta o valle de la línea de base. La unidad de medida para expresar semejantes distancias tan pequeñas es el nanómetro (Ewing, 1978).
- ✚ **Velocidad (c):** Multiplicación de la frecuencia en ciclos por segundo por la longitud de onda en metros por ciclo (Ewing, 1978).

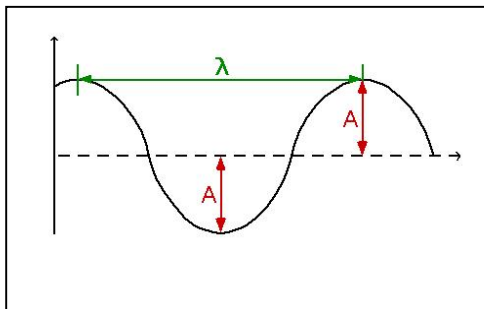


Fig 1: Onda donde se aprecia conceptualmente la longitud de onda ( $\lambda$ ) y la amplitud (A). Sobre la línea base encontramos las crestas y bajo ella los valles (Resnick, 2002)

### 1.2. Espectro Electromagnético

Si las ondas electromagnéticas se organizan en un continuo de acuerdo a sus longitudes (tabla I); obtenemos el espectro electromagnético en donde las ondas más largas se encuentran en un extremo, *Radio* y las más cortas en el otro, *Gamma* (González, 2005).

		Longitud de onda	Frecuencia	Energía
<b>Radio</b>	Muy Baja Frecuencia	> 10 km	< 30 Khz	< 1.99 e-29 J
	Onda Larga	< 10 km	> 30 Khz	> 1.99 e-29 J
	Onda media	< 650 m	> 650 Khz	> 4.31 e-28 J
	Onda corta	< 180 m	> 1.7 Mhz	> 1.13 e-27 J
	Muy alta frecuencia	< 10 m	> 30 Mhz	> 2.05 e-26 J
	Ultra alta frecuencia	< 1 m	> 300 Mhz	> 1.99 e-25 J
<b>Microondas</b>		< 30 cm	> 1.0 Ghz	> 1.99 e-24 J
<b>Infrarrojo</b>	Lejano / submilimétrico	< 1 mm	> 300 Ghz	> 199 e-24 J
	Medio	< 50 $\mu$ m	> 6.0 Thz	> 3.98 e-21 J
	Cercano	< 2.5 $\mu$ m	> 120 Thz	> 79.5 e-21 J
<b>Luz Visible</b>		< 780 nm	> 384 Thz	> 255 e-21 J
<b>Ultravioleta</b>	Cercano	< 380 nm	> 789 Thz	> 523 e-21 J
	Extremo	< 200 nm	> 1.5 Phz	> 993 e-21 J
<b>Rayo X</b>		< 10 nm	> 30.0 Phz	> 19.9 e-18 J
<b>Rayos Gamma</b>		< 10 pm	> 30.0 Ehz	> 19.9 e-15

Tabla I: Espectro electromagnético ordenado por orden descendentes de frecuencias (Gonzalez, 2005)

### 1.3. Naturaleza De La Luz

La luz es una forma de energía radiante, electromagnética y ondulatoria perceptible por nuestros sentidos, que tiene la propiedad de transmitir información sobre su punto de origen y los cuerpos que la absorben y reflejan (Serway, 1997). La luz hace posible la percepción de la forma, el volumen y el color de los objetos.

La onda electromagnética cuya longitud de onda se encuentra entre los 380 y 780 nm, es la que se conoce como “luz natural” (Villalobos, 2006), y sólo ésta puede sensibilizar la retina y así el ser humano percibir luz/color (Steenbecker, 2006).

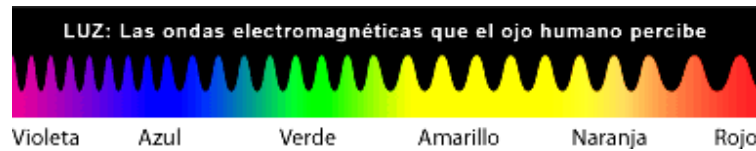


Fig. 2: Espectro de luz visible ordenado crecientemente, en donde se aprecia los diversos matices del espectro con sus respectivas longitudes de onda . [Disponible en: [www.gusgsm.com/book/export/html/286](http://www.gusgsm.com/book/export/html/286)]

Ámbito de color	Ámbito de longitud de onda
Violeta	380 nm , 450 nm
Azul	450 nm , 500 nm
Verde	500 nm , 570 nm
Amarillo	570 nm , 590 nm
Anaranjado	590 nm , 610 nm
Rojo	610 nm , 780 nm

Tabla II: Espectro visible ordenado por ámbito de color (Villalobos, 2006)

#### 1.4. Luz Ultravioleta

La luz ultravioleta es parte del espectro electromagnético de radiación, la cual también es emitida por el sol. Está situada entre las bandas de rayos X y la luz visible, con longitudes de onda que van desde 180 hasta 380 nm aproximadamente.

La luz ultravioleta es emitida en tres diferentes bandas UV-A, UV-B y UV-C.

- **UV A (onda larga)** va de los 315 a los 380 nm aproximadamente y es la parte espectral del ultravioleta más cercano al espectro visible (Valdés, 1999), a menudo llamada luz negra. Es un componente normal de la luz del sol, que, en virtud de su longitud de onda relativamente más larga, puede penetrar la atmósfera. Es el tipo menos dañino y la más comúnmente encontrada. Tiene la menor energía, y se utiliza por su capacidad de excitar a los materiales fluorescentes para que ellos emitan luz visible (Fernández, 2002).
- **UV B (onda media)** es el rango de los 280 a los 315 nm aproximadamente lo cual sí se puede observar en la superficie terrestre. Es típicamente la forma más destructiva de luz UV, porque tiene bastante energía para dañar tejidos finos, siendo una de los principales factores etiológicos de cáncer a la piel. No obstante, este tipo de radiación es importante para la buena salud del ser humano, ya que la exposición prudente a este tipo de energía permite la síntesis de la vitamina D (Valdés, 1999).

- **UV C (onda corta)**, comprende longitudes de onda desde los 180 hasta los 280 nm aproximadamente. Es muy difícil que llegue a la superficie de la Tierra, ya que interactúa en la capa atmosférica llamada estratosfera (entre los 12 y 35 Km. de altura), los fotones uv-c chocan con los átomos de oxígeno, produciendo un intercambio de energía que causa la formación del ozono. (Serway, 1997). Debido a esto casi nunca se observa en naturaleza, puesto que se absorbe rápidamente (Fernández, 2002).

#### 1.4.1. Luces Negras

Como luz negra conocemos a las lámparas que emiten casi únicamente radiación UV de onda larga, y poca luz visible. Se pueden encontrar en muchos lugares y se usan con fines diferentes. Con ellas se puede ver brillar en la oscuridad muchos objetos, mientras que la propia lámpara sólo emana una tenue luz de color púrpura (Disponible en : <http://es.wikipedia.org/wiki/Ultravioleta>).

En las lámparas fluorescentes, la luz se produce al hacer fluir la electricidad a través de un gas inerte y una pequeña cantidad de mercurio. Esto produce luz en el espectro ultravioleta, invisible al ojo humano.

Existen dos tipos de luces negras: las producidas por una lámpara fluorescente y las producidas por lámparas incandescentes (Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Ultravioleta>).

Las **lámparas fluorescentes ultravioletas** o de luz negra son fabricadas de la misma manera que las normales, excepto que se usa sólo un fósforo en lugar de los 2 ó 3 usados para producir luz que cubra todo el espectro visible. También se reemplaza el vidrio claro por uno de color azul-violeta, llamado vidrio de Wood. Dicho vidrio contiene óxido de níquel, y óxido de cobalto, y bloquea casi toda la luz visible que supere los 400 nanómetros. Estos fósforos de recubrimiento absorben la luz ultravioleta de las ondas llamadas UV-B y UV-C, que son perjudiciales. Al absorberlas, en lugar de emitir luz blanca emiten UV-A, que es más benigna (Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Ultravioleta>).

El otro tipo de lámpara de luz negra es la **ampolleta incandescente** que es similar a una ampolleta normal de luz casera, pero utiliza filtros de luz que absorben la luz del filamento encendido. Este filtro absorbe todo, excepto la luz infrarroja y la luz UV-A (Harris, 2000).

Hay una gran cantidad de materiales que funcionan como los fósforos. Al recibir la luz ultravioleta UV-A la absorben y emiten a su vez luz visible, tal y como hacen los fósforos de las lámparas corrientes. Los dientes, por ejemplo, producen este efecto, y por eso se pueden ver brillar en la oscuridad cuando reciben la luz ultravioleta (<http://es.wikipedia.org/wiki/Ultravioleta>).



Fig 3: Dentición humana, expuesta a luz artificial y luz ultravioleta (Poblete, 2003)

### **1.5. Fenómenos Ópticos De La Luz**

Existen varios fenómenos ópticos de la luz, que se han estudiado a lo largo del tiempo, entre ellos encontramos: reflexión, refracción, absorción, transmisión, dispersión, difracción, color, interferencia, iridiscencia, opalescencia y luminiscencia. Nos referiremos más extensamente a algunos de ellos, por su importancia en odontología.

#### **1.5.1 Reflexión:**

Fenómeno por el cual la superficie de un cuerpo es capaz de cambiar la dirección de un rayo de luz que incide sobre él (Steenbecker, 2006).

Se pueden distinguir varios tipos de reflexión, según la calidad de la superficie expuesta a la luz:

- **Reflexión Especular:** Fenómeno que ocurre en una superficie perfectamente pulida, donde los ángulos incidentes y reflejados son iguales y paralelos entre si (Castro, 1999; Serway, 1997).
- **Reflexión Semiespecular:** Ocurre cuando la superficie es lisa mate, es decir, entre una superficie perfectamente pulida y una rugosa: lo que determina ángulos reflejados diferentes, pero en la misma dirección, dando lugar a una reflexión intermedia (Castro, 1999). La mayoría de las superficies producen este tipo de reflexión. (Steenbecker, 2006).
- **Reflexión Difusa:** Se produce cuando la superficie es rugosa, con una infinidad de microporosidades con distintas orientaciones, por lo que las direcciones de los rayos reflejados son diferentes. (Serway, 1997).

La reflexión de la luz se basa en dos leyes fundamentales (Ruiz, 1999; Serway, 1997):

- a) El rayo incidente, la normal y el rayo reflejado están en el mismo plano.
- b) El ángulo de incidencia es igual al ángulo de reflexión

Una superficie suave y lisa como la de un composite bien pulido muestra ambas reflexiones, difusa y semiespecular; las proporciones relativas dependen del ángulo de la luz incidente. Pero una superficie rugosa, como la de un diente con placa bacteriana, muestra sólo reflexión difusa, no tiene una superficie brillante (Merriam-Webster, 1995).

### 1.5.2 Refracción

Se puede definir como el cambio de dirección que sufren las ondas, incluyendo las luminosas, al pasar de un medio a otro, determinando así un cambio de velocidad de propagación (Halliday et al, 2002). Este parámetro es útil para identificar distintos materiales (Craig, 1998).

El rayo que incide en la superficie es el rayo incidente, y el que sufre el fenómeno es el rayo refractado (Craig, 1998).

El índice de refracción es una propiedad característica de la materia y se utiliza para la identificación de los materiales. Una de las principales aplicaciones de la refracción es el control del índice de refracción de la matriz y la fase dispersa en materiales como el composite y las porcelanas dentales, que deben tener la misma translucidez que el tejido dental. (Craig, 1998). Cuando los índices de refracción coinciden totalmente, el sólido es transparente, mientras que si existen diferencias importantes, el material es translúcido u opaco. (Steenbecker, 2006).

### 1.5.3 Transmisión

Es la capacidad de la luz de atravesar un cuerpo transparente y/o translúcido (Steenbecker, 2006).

Dentro del fenómeno de transmisión encontramos cuerpos:

- **Transparentes:** son los que permiten el paso de la luz a través de ellos en línea recta, con muy poca distorsión, permitiendo ver los objetos que se encuentran detrás de él. (Craig, 1998). Dentro de los cuerpos transparentes encontramos los que permiten el paso de la luz sin variar su color, y los que permiten el paso de una determinada longitud de onda y absorben el resto, estos son los *cuerpos acromáticos* y *cromáticos* respectivamente. Los acromáticos se consideran cuerpos incoloros mientras que los cromáticos absorben colores complementarios y transmiten longitudes de onda de su propio color (Castro, 1999; Steenbecker, 2006).

- **Translúcidos:** son los cuerpos que permiten el paso de la luz a través de ellos, desordenando sus rayos en todas direcciones (González y Haro, 2002). Según su selección a la longitud de onda pueden ser también cromáticos o acromáticos (Castro, 1999). La mayoría de los tejidos del organismo son parcialmente translúcidos, en especial el esmalte de los dientes y los tejidos blandos que sustentan y rodean dichos dientes. En odontología se utilizan algunos materiales translúcidos como la porcelana, el composite y los plásticos dentales (Craig, 1998).

- **Opacos:** Los objetos opacos son según su selectividad a la reflexión o absorción de la luz incidente. La **absorción** se define como la capacidad de un cuerpo de absorber los haces lumínicos que inciden sobre su superficie, y transformarla en calor en el interior del objeto. (Touati, 2000). Según esta característica pueden ser considerados como (Castro, 1999):

- Blancos: cuando reflejan, con absorción nula, todas las radiaciones recibidas del espectro visible.
- Negros: absorben todas las radiaciones recibidas, sin transmitir ni reflejar ninguna.
- Grises: reflejan y/o absorben parcialmente.
- Coloreados: reflejan de forma diferente las radiaciones en función de su longitud de onda; son reflejadas las longitudes de onda de su propio color y absorbidas todas las demás.

Dentro del fenómeno de transmisión de la luz encontramos además la **dispersión**, la cual se define como la capacidad de separación de la luz en sus longitudes de onda componentes (Merriam-Webster, 1995; Serway, 1997). La forma más fácil de explicar este fenómeno es con el llamado “efecto prisma”, donde una luz blanca incide sobre él, emergiendo los colores visibles del espectro electromagnético. (García del Amo, 1996)

Las porcelanas y los composites son materiales capaces de dispersar la luz en su interior, al igual que los dientes humanos. (Craig, 1998)



Fig. 4: Descomposición de la luz blanca por un prisma. (Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Luz>)

#### 1.5.4 Difracción

Capacidad de las ondas para cambiar la dirección alrededor de obstáculos en su trayectoria (Hallyday et al, 2002).

También se le define como la descomposición de la luz cuando ésta se desplaza muy cerca de un borde opaco, en este caso los rayos tienden a ser ligeramente desviados, debido a la naturaleza ondulatoria de su movimiento (Steenbecker, 2006).

#### 1.5.5 Opalescencia:

Cuando la onda de luz se desplaza dentro de un material y encuentra un obstáculo menor que su longitud de onda, ella se refleja y se dispersa en todas direcciones (Steenbecker, 2006). El ópalo se caracteriza por reflejar luz azul y transmitir los naranjos rojizos (Touati, 2000).

Este fenómeno se hace más fuerte cuando aumenta la diferencia en la refracción entre la matriz y las partículas que se encuentran alrededor de ella en una resina compuesta (Steenbecker, 2006).

### 1.5.6 Color:

Se puede definir como una onda electromagnética de longitud de onda específica, capaz de provocar reacciones fotoquímicas en la retina, originando la percepción visual (Touati, 2000).

Un objeto puede ser percibido de diferentes colores cuando es observado bajo diferentes tipos de luz, esto es lo que se conoce como **metamerismo** (Steenbecker, 2006).

La percepción de color depende de fenómenos objetivos y subjetivos, y ocurre como resultado del patrón de respuesta óptica y cerebral a una banda muy estrecha del espectro electromagnético. El ojo humano puede discernir perfectamente el rango de 380-780 nm de la onda electromagnética, correspondiendo a los colores del prisma, pero tiene dificultades para establecer los diferentes matices. (Touati, 2000)

#### 1.5.6.1. Sensibilidad del Ojo y Tipos de Visión

En el ojo humano existen dos tipos de células sensibles a la zona del espectro electromagnético conocida como luz: bastones y conos.

Los **bastones** son sensibles a niveles muy bajos de iluminación y son los responsables de nuestra capacidad de ver con poca luz. Contienen un pigmento cuyo máximo de sensibilidad se encuentra en la zona de los 510 nm (verde azulado). Al pigmento de los bastones, se le denomina rodopsina.

Los **conos** son los que proporcionan la visión en color. Hay tres clases de conos. Cada uno de ellos contiene un pigmento fotosensible distinto. Los tres pigmentos tienen su capacidad máxima de absorción hacia los 430, 530 y 560 nm de longitud de onda, respectivamente. Por eso se los suele llamar "azules", "verdes" y "rojos". No es que los conos se llamen así por su pigmentación, sino por el supuesto 'color de la luz' al que tienen una sensibilidad óptima. Esta terminología es bastante desafortunada, ya que las luces monocromas de 430, 530 y 560 nm. de longitud de onda no causan realmente la percepción de azul, verde y rojo, sino la de violeta, azul verdoso y amarillo verdoso. Por eso, denominarlos conos *cortos*, conos *medios* y conos *largos*, por el tipo de longitud de onda al cual son sensibles, es lo más lógico (Westland, 2001).

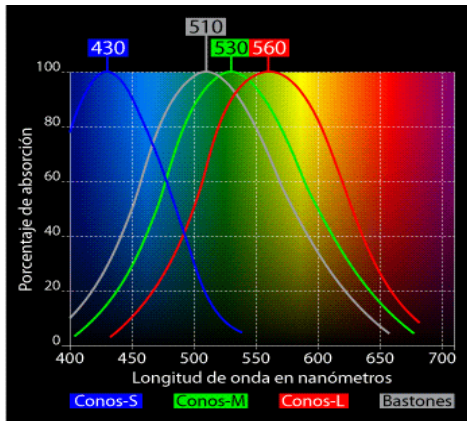


Fig. 5: Absorción óptica de conos y bastones, por longitud de onda (Westland, 2001).

La existencia de tres funciones de sensibilidad espectral proporciona la base de la visión en color, ya que cada longitud de onda causará una proporción única de respuestas en los conos sensibles a longitudes cortas, medias y largas. Son los conos quienes nos proporcionan la visión en color que permite distinguir pequeños cambios en la composición de longitudes de onda de una luz. En condiciones de buena iluminación como ocurre de día, la visión es nítida, detallada y se distinguen muy bien los colores; es la denominada **visión fotópica**. Para niveles inferiores de iluminación desaparece la sensación de color y la visión es más sensible a los tonos azules y a la intensidad de la luz. Es la llamada **visión escotópica** (Westland, 2001).

La **fotometría** considera la respuesta del ojo humano a la energía radiante a distintas longitudes de onda y también involucra mediciones psico-físicas. Este hecho radica en que el ojo humano, al ser un detector, no posee una respuesta espectral "plana", esto es, no responde con igual sensibilidad a todas las longitudes de onda. Cuando usamos cantidades fotométricas, estamos midiendo las propiedades de la radiación visible tal como ella aparece al ojo normal, y no como ellos aparecen frente a un detector imparcial. Como no todos los ojos humanos son idénticos, una respuesta estándar ha sido determinada por la CIE, o Comisión Internacional de la Luz (Pedrotti y Pedrotti, 1998).

La respuesta relativa o sensibilidad del ojo es enfrentado con su respectiva longitud de onda, determinando la *curva de sensibilidad relativa* del ojo, concluyendo que el peak de sensibilidad ocurre a la longitud de onda amarilla-verde de los 555 nm, esto es, la eficiencia luminosa del ojo para la **visión fotópica**. Para bajos niveles de iluminación, cuando está adaptada para la visión nocturna o **visión escotópica**, la curva cambia hacia el verde, con un peak de 490 nm. Al desplazamiento del máximo de la curva al disminuir la cantidad de luz recibida se le denomina **efecto Purkinje**. Es interesante notar que la sensación humana de color es en función de la iluminación y está casi totalmente ausente frente a bajos niveles de iluminación (Born y Wolf, 1999).

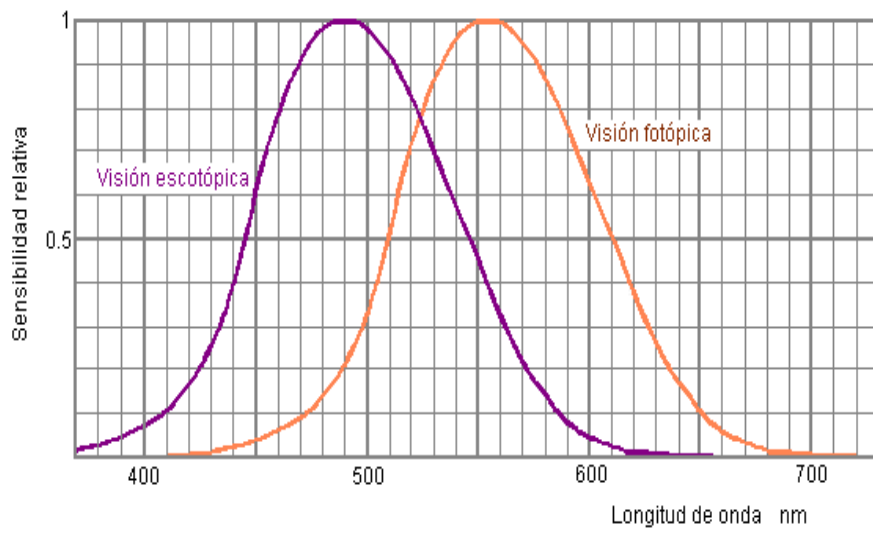


Fig. 6: Curva de sensibilidad relativa del ojo.  
(Disponible en [http://www.mtas.es/insht/ntp/ntp\\_211.htm](http://www.mtas.es/insht/ntp/ntp_211.htm))

## CAPITULO 2: LUMINISCENCIA

Se conoce como luminiscencia a la emisión de luz de una sustancia a partir de estados electrónicamente excitados (Skoog, 2001); esto es, cuando los electrones descienden a niveles menores cediendo su exceso de energía en forma de fotones. (Ewing, 1978).

De acuerdo al origen de la excitación, el proceso de luminiscencia puede ser designado como (Cabriales, 2004):

- **Fotoluminiscencia:** Cuando se utilizan fotones de baja energía para excitar (luz visible o UV)
- **Electroluminiscencia:** Cuando se utiliza un campo eléctrico para excitar.
- **Bioluminiscencia:** Si la reacción química la produce un ser vivo.
- **Sonoluminiscencia:** Cuando el material se excita por ultrasonido.
- **Incandescencia:** Cuando el material se excita térmicamente.
- **Magnetoluminiscencia:** Cuando la excitación es inducida por campos magnéticos.
- **Termoluminiscencia:** Propiedad que poseen algunos minerales de producir luz visible cuando se calientan a una temperatura por debajo del rojo. Se observa especialmente en minerales no metálicos que contiene iones extraños como activadores. Cuando se calienta un mineral termoluminiscente, la luz visible inicial, normalmente débil, se acentúa entre los 50 y 100°C y dicha luz cesa de ser emitida a temperaturas superiores a 475 °C.
- **Triboluminiscencia:** Propiedad que poseen algunos minerales de hacerse luminosos al ser molidos, rayado o frotados. La mayor parte de los minerales que poseen esta propiedad son no metálicos, anhidros y poseen buena exfoliación.

La emisión luminiscente involucra transiciones entre estados electrónicos característicos de una sustancia radiante. Ésta puede observarse en todos los estados de la materia: sólidos, líquidos y gases (Xe, Kr), así como en materiales semicristalinos y en sólidos orgánicos (cristales moleculares y polímeros conjugados) (Cabriales, 2004).

### 2.1 Fotoluminiscencia:

En la fotoluminiscencia encontramos dos categorías: **Fluorescencia y Fosforescencia**, las cuales se definen como procesos de emisión en donde los átomos o las moléculas se excitan, mediante la absorción de un haz de radiación electromagnética. (Lacowicz, 1999).

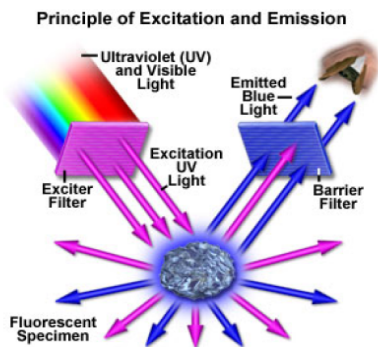


Fig 7: Principio de excitación y emisión, en donde se aprecia la excitación de una partícula con luz UV y su emisión de luz azul. Disponible en <http://bioweb.uv.es/bioquimica/Documentos/MetBioqcal/Tema%203A.pdf>

Cuando un átomo absorbe energía, ocurre una transición electrónica desde un estado fundamental a uno excitado, resultando en una nueva configuración electrónica. Si los electrones toman la misma orientación del spin como en el estado fundamental, el spin resultante es cero, y el estado excitado es llamado **singulete** (Fig. 8). Si el spin tiene un valor igual 1, el estado excitado se denomina **triplete** (Cabriaes, 2004). Esto quiere decir que las moléculas son transferidas a estados de energía más altos cuando son irradiadas por luz de longitud de onda adecuada. Este proceso es llamado *excitación*, y se dice que las moléculas están en estados excitados. Cuando las moléculas retornan desde estos estados de energía altos a estados más bajos puede emitirse luz; su frecuencia corresponde a la diferencia de energía entre los estados involucrados (Sundström et al, 1985).

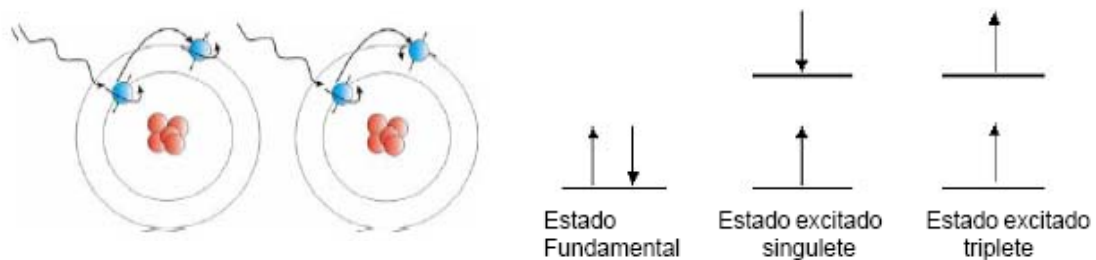


Fig 8: Izquierda: La primera representación corresponde al estado excitado de triplete, la segunda al singulete. Derecha: Diferencia de la orientación de los electrones en sus distintos estados (Cabriaes, 2004).

Desde un estado excitado, una molécula con una cierta probabilidad decae radiactivamente al nivel fundamental o uno de los otros niveles intermedios. Cuando esto sucede, se emite un fotón; el color de la luz corresponde a la energía desprendida y es referida como fluorescente (Sundström et al, 1985).

La **re-absorción** ocurre cuando dos moléculas fluorescentes están en una proximidad cercana y la longitud de onda de emisión de una molécula es cercana a la longitud de onda de excitación de la otra molécula. La fluorescencia emitida de la primera molécula es entonces reabsorbida y liberada a la longitud de onda de la segunda molécula (Foreman, 1980).

Entonces, cuando ciertos materiales absorben varios tipos de energía, una parte de la energía se emite como luz. Este proceso tiene dos pasos (Skoog, 2001):

- La energía incidente hace que los electrones de los átomos del material absorbente se exciten y salten de las órbitas internas de los átomos a las órbitas exteriores.
- Cuando los electrones vuelven de nuevo a su estado original, emiten un fotón de luz.

La fluorescencia sucede más rápidamente que la fosforescencia y generalmente finaliza a una  $10^{-5}$  segundos después del inicio de la excitación, esto ocurre debido a su estado singulete. La emisión de la fosforescencia tiene lugar durante periodos mayores a  $10^{-5}$  segundos, y en consecuencia, puede continuar durante minutos e incluso horas después que la radiación haya cesado, esta característica se produce principalmente por su configuración electrónica de triplete. La fluorescencia y fosforescencia se observan más fácilmente a un ángulo de 90 grados respecto al haz de excitación. (Lacowicz, 1999).

En la mayoría de los casos de fotoluminiscencia, tanto si es de fluorescencia o de fosforescencia, la emisión de la luz es de mayor longitud de onda que la radiación utilizada para la excitación (Kvaal y Solheim, 1989; Skoog, 2001).

En los estudios de fotoluminiscencia, generalmente se observan tres tipos de espectros: absorción, excitación y de emisión. (Ewing, 1978).

La **excitación** puede producirse por diversos medios, tales como (Skoog, 2001):

- El bombardeo con electrones u otras partículas elementales, que generalmente conduce a la emisión de Rayos X.
- La exposición de chispas de corriente alterna o de una llama, un arco, un horno, la cual produce radiación ultravioleta, visible o infrarroja.
- La irradiación con un haz de radiación electromagnética, que produce radiación fluorescente.

La radiación emitida por una fuente excitada se caracteriza por medio de un **espectro de emisión**, que generalmente toma la forma de una representación gráfica de la potencia relativa de la radiación emitida en función de la longitud de onda o de la frecuencia (Skoog, 2001).

Cuando la radiación atraviesa una capa de sólido, líquido o gas, ciertas frecuencias pueden eliminarse selectivamente por absorción, un proceso en que la energía electromagnética se transfiere a los átomos, iones o moléculas que componen la muestra. La **absorción** provoca que estas partículas pasen de su estado normal a temperatura ambiente, o estado fundamental, a uno o más estados excitados de energía superior (Skoog, 2001).

De acuerdo con la teoría cuántica, los átomos, moléculas o iones sólo tienen un número limitado de niveles de energía discretos; de modo que para que se produzca la absorción de radiación, la energía de los fotones excitadores debe coincidir exactamente con la diferencia de energía entre el estado fundamental y uno de los estados excitados de las especies absorbentes. Con esto se logra caracterizar los elementos de una muestra (Skoog, 2001).

### **CAPÍTULO 3: FLUORESCENCIA E INSTRUMENTACIÓN**

La fluorescencia es consecuencia de la absorción de radiación ultravioleta de longitud de onda mayor a 250 nm, esto es porque longitudes de onda menores son suficientemente energéticas como para producir la desactivación de los estados excitados por predisociación o disociación (Skoog, 2001).

La fluorescencia más intensa y la más útil es la que presentan los compuestos que poseen grupos funcionales aromáticos. Los compuestos que tienen grupos carbonilos en estructuras alifáticas o alicíclicas o estructuras con dobles enlaces altamente conjugados, también pueden presentar fluorescencia, pero el número de estos compuestos es pequeño comparado con el número de sistemas aromáticos (Lacowicz, 1999; Skoog, 2001).

Se cree además que las moléculas fluorescentes deben poseer una estructura rígida, esto es porque no sufren vibraciones de baja frecuencia respecto a sus otras partes y por lo tanto tales movimientos no originarían pérdidas de energía, como lo harían las moléculas no rígidas (Skoog, 2001).

#### **3.1 Factores que influyen en la fluorescencia (Skoog, 2001)**

- **Temperatura:** Al aumentar la temperatura, aumentan la frecuencia de colisiones y con ello la probabilidad de una desactivación por conversión externa, originando una disminución de la fluorescencia.
- **Disolvente:** Disminución de la viscosidad del disolvente, aumenta la probabilidad de conversión externa, conduciendo al mismo resultado de la temperatura. La fluorescencia de una molécula se reduce en presencia de disolventes que contienen átomos pequeños o de solutos con dichos átomos en su estructura.
- **Ph:** La longitud de onda y la intensidad de emisión, son probablemente diferentes para las formas ionizadas y no ionizadas, esto es de vital importancia en compuestos aromáticos con sustituyentes ácidos o básicos del anillo. Es por esto que procedimientos analíticos basados en las moléculas de fluorescencia frecuentemente requieren un control minucioso del pH.
- **Oxígeno disuelto:** La presencia de oxígeno disuelto reduce la intensidad de la fluorescencia de una disolución. Este efecto puede ser resultado de una oxidación de las especies fluorescentes inducidas fotoquímicamente.
- **Concentración:** La relación que existe entre fluorescencia y concentración es directamente proporcional; a mayor concentración mayor fluorescencia y viceversa, por lo que una gráfica de intensidad de fluorescencia contra concentración es una línea recta.

### **3.2 Compuestos Orgánicos Fluorescentes (Fluoróforos)**

Existen ciertas moléculas que cuando son sometidas a luces negras poseen la capacidad de emitir longitudes de onda mayor a la fuente de origen, estas sustancias se denominan fluoróforos.

Los fluoróforos son divididos en dos tipos generales: intrínsecos y extrínsecos.

- Los **fluoróforos intrínsecos** son aquellos en que el fenómeno ocurre de forma natural, en ellos están incluidos los aminoácidos aromáticos, NADH, flavinas, y derivados de la clorofila (Lacowikz, 1999).
- Los **fluoróforos extrínsecos** son agregados a las muestras para proporcionar fluorescencia cuando se requiera o para cambiar las propiedades espectrales de la muestra; entre ellos se incluyen fluoresceína, rodamina y numerosas otras sustancias (Lacowikz, 1999).

Los fluoróforos tienen un espectro de absorción y emisión bien definidos, existiendo una diferencia entre los peaks de absorción y emisión de ellos (Lacowikz, 1999).

Es importante recalcar que la intensidad de fluorescencia emitida varía con la longitud de excitación, pero no varía la distribución del espectro (Lacowikz, 1999).

Los fluoróforos orgánicos y bioquímicos más conocidos son: Adenina, ácido antranílico, cisteína, hidrocarburos aromáticos policíclicos, indol, naftol, proteínas, ácido salicílico, escatol, triptófano, ácido úrico, adrenalina, alquilmorfina, LSD, penicilina, fenobarbital, procaína, reserpina, clorofila, alcaloides, flavonoides, esteroides, ácido ascórbico, ácido fólico, nicotinamida, piridoxal, corticoesteroides, estrógenos, progesterona, andrógenos, ácidos biliares, colesterol, triglicéridos, creatinina, deshidrogenasas, transaminasas, fosfatasas, peroxidases, ATP, luciferina, luciferasa, vitaminas: A, B1, B2, B6, C y la E (Skoog, 2001).

#### **3.2.1 Fluorescencia En Proteínas**

Frecuentemente las discusiones de la bioquímica de la fluorescencia comienzan con el tema de la fluorescencia en proteínas. Esto es porque, entre los biopolímeros, las proteínas son los únicos en exhibir usualmente fluorescencia intrínseca. En las proteínas, los 3 aminoácidos aromáticos, **fenilalanina, tirosina y triptofano** son fluorescentes. Una característica favorable de la estructura proteica es que estos 3 aminoácidos son relativamente escasos en las proteínas. El Triptofano es el fluoróforo intrínseco dominante; una proteína puede poseer sólo uno o pocos residuos de triptofano, lo que facilita la interpretación de los datos espectrales. Si los 20 aminoácidos fueran fluorescentes, es probable que la emisión proteica pudiera ser demasiado compleja de interpretar (Lacowikz, 1999).

Una característica valiosa de la fluorescencia intrínseca de las proteínas es la alta sensibilidad del Triptofano en el ambiente. Frecuentemente se puede observar cambios en el

espectro de emisión del triptofano en respuesta a distintos procesos, tales como las transiciones que sufre la conformación proteica, las asociaciones de las subunidades, acoplamiento de sustratos, o durante la desnaturalización; es decir, todos aquellos procesos que pueden afectar el entorno de la proteína. Mediciones anisotrópicas son también informativas debido a que la tirosina y el triptofano exhiben alta anisotropía; la *anisotropía* revela el desplazamiento angular promedio del fluoróforo que ocurre entre la absorción y la subsecuente emisión de un fotón. Además, Triptofano parece ser extraordinariamente sensible a las colisiones con amortiguadores, aparentemente debido a la tendencia de donar electrones cuando está en estado excitado; este amortiguamiento colisional ocurre cuando el fluoróforo en estado excitado es desactivado al contactar con alguna otra molécula en solución, que es llamada amortiguador, por lo que la intensidad de la fluorescencia puede ser disminuida por una amplia variedad de procesos (Lakowicz, 1999).

Un factor que complica la interpretación de la fluorescencia es la presencia de múltiples aminoácidos fluorescentes en la mayoría de las proteínas. Como el entorno de cada residuo es distinto, las propiedades espectrales de cada residuo son generalmente diferentes (Lakowicz, 1999).

### 3.2.2 Propiedades Espectrales de los Aminoácidos Fluorescentes.

Las proteínas contienen 3 tipos de aminoácidos que contribuyen a su fluorescencia ultravioleta: **Tirosina**, **Triptofano** y **Fenilalanina**. La emisión de las proteínas es dominada por el Triptofano, que absorbe a largas longitudes de onda y exhibe un amplio coeficiente de decaimiento. Además debido a esta larga longitud de onda, la energía absorbida por los residuos de fenilalanina y tirosina es a menudo transferida a los residuos de triptofano en una misma proteína (Permyakov, 1993).



Fig. 9: Estructura química de los aminoácidos fluorescentes. Disponible en [http://laguna.fmedic.unam.mx/~evazquez/0403/aminoacidos%20no%20polares\\_archivos/image009](http://laguna.fmedic.unam.mx/~evazquez/0403/aminoacidos%20no%20polares_archivos/image009).

**Fenilalanina** posee una estructura vibracional fina y exhibe cortas longitudes de onda de absorción y emisión; con un máximo cercano a los 282 nm. El espectro de emisión de la **Tirosina** en agua ocurre a los 303 nm. y es relativamente insensible en solventes polares; su máximo espectro de absorción se ubica entre 222 y 275 nm, con una duración de la emisión en solución acuosa neutra temperada de 3.5 +/- 0.2 nseg, El máximo de emisión del **Triptofano** en agua

ocurre cercano a los 350 nm, y en cuanto a su espectro de absorción, posee 2 bandas de absorción: una cuyo máximo se presenta en los 280 nm, y otra cuyo máximo está en los 218 nm; es altamente dependiente de la polaridad y/o del ambiente local; siendo muy sensible, en forma general, a los efectos del solvente. Como resultado, la emisión de cada residuo de triptofano en una proteína dependerá de las características del ambiente que lo rodea. (Permyakov, 1993)

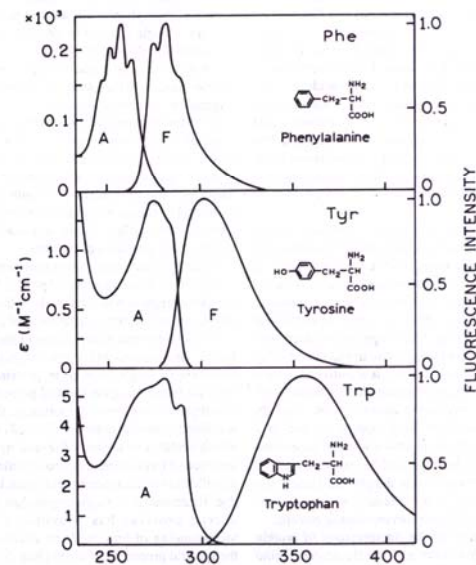


Fig 10: Espectro de emisión de los tres aminoácidos fluorescentes. (Lacowicz, 1999)

La fluorescencia de las proteínas posee generalmente un máximo de absorción cercano a los 280 nm. o más de longitud de onda. Como consecuencia la Fenilalanina no es excitada en la mayoría de los experimentos. Además el quantum de rendimiento de la fenilalanina es pequeño, típicamente cercano a los 0.03, por lo que la emisión de los residuos de fenilalanina es raramente observada; siendo el *quantum de rendimiento (Q)* el número de fotones emitidos relativo al número de fotones absorbidos. La absorción de las proteínas a los 280 nm es debida a los residuos de Tirosina y Triptofano. A 23° C en soluciones acuosas neutrales el quantum de rendimiento de la tirosina y triptofano es cercano a los 0.14 y 0.13 respectivamente. Sustancias con un gran quantum de rendimiento, como la rodamina, exhibe la emisión más brillante. A longitudes de onda mayores a 295 nm, la absorción es debida principalmente al Triptofano. La fluorescencia del triptofano puede ser excitada selectivamente a los 295 – 305 nm. Así, muchas investigaciones reportan el uso de excitación con 295 nm., que es seleccionado para evitar la excitación de la Tirosina (Lacowicz, 1999).

### 3.2.3 Características Generales de la Fluorescencia en las Proteínas.

Existen diversas propuestas para dividir a las proteínas en categorías basadas en su espectro de emisión. La idea básica es que el espectro de emisión del triptofano debe reflejar su entorno promedio; sin embargo, al moverse sus residuos, la emisión cambia en un amplio rango de longitud de onda. De hecho se sabe que, individualmente, algunas proteínas exhiben este amplio rango de espectro de emisión (Lacowicz, 1999).

Se puede esperar que proteínas que exhiben un espectro de emisión cercano al azul tengan un quantum de rendimiento ( $Q$ ) o un tiempo de vida ( $\tau$ ) alto, siendo el *tiempo de vida* el tiempo disponible para que el fluoróforo difunda o interactúe con su entorno. Tal conducta es esperada frente a un incremento usual en el quantum de rendimiento cuando un fluoróforo es ubicado en un solvente menos polar. Sin embargo, cuando se examinan los valores de  $Q$  y  $\tau$  para un número de proteínas con sólo triptofano se encuentra que no existe una correlación clara entre el quantum de rendimiento y el tiempo de vida. Aparentemente, la complejidad del entorno de la proteína puede hacer caso omiso de los efectos generales de polaridad en el tiempo de vida del triptofano (Lacowicz, 1999).

Algunos triptofanos son completamente amortiguados en proteínas multitriptofano y así no contribuye a la medición de la emisión máxima y del tiempo de vida. Por ejemplo, el triptofano se sabe que es parcialmente amortiguado por el benceno. Los residuos no fluorescentes también absorben luz, y esto resulta en un quantum de rendimiento altamente variable para las diferentes proteínas. La falta de correlación entre el espectro de emisión y los tiempos de vida de las proteínas es probablemente debido a los efectos de entornos proteicos específicos que amortiguan residuos particulares de triptofano. En el caso de proteínas con sólo triptofano, se puede pensar que diferentes conformaciones poseen el residuo más cercano o más alejado de un grupo amortiguador. (Lakowicz, 1999)

### **3.3 Compuestos Inorgánicos Fluorescentes**

Algunas de las especies inorgánicas que pueden ser analizadas por fluorescencia son las siguientes: cianuro, fluoruro, sulfatos, fosfatos, aluminio, arsénico, berilio, boro, calcio, magnesio, tierras raras, selenio, uranio (Skoog, 2001).

Los minerales luminiscentes se hacen fluorescentes cuando están expuestos a la acción de los rayos X, ultravioleta o catódicos. Las fluoritas de color intenso son minerales fosforescentes, que muestran luminiscencia al ser expuestos a los rayos ultravioleta (Lacowicz, 1999).

Los métodos para determinar elementos inorgánicos fluorescentes, pueden ser de dos tipos (Skoog, 2001):

- Formación de un quelato fluorescente con la medida de su emisión.
- Descenso de la fluorescencia que resulta de la acción amortiguadora de la sustancia que va a ser medida. Este método se utiliza generalmente con aniones.

Los reactivos fluorimétricos que se utilizan con mayor éxito para medir la fluorescencia en cationes son los que presentan estructuras aromáticas con dos o más grupos funcionales dadores que permitan la formación de un quelato con el ión metálico. Algunos de los utilizados son: Flavanol, Benzoína, 2-hidroxifenil benzoazol y granate de alizarina (Skoog, 2001).

En la siguiente tabla se presentan algunos reactivos fluorimétricos (Skoog, 2001):

Ion	Reactivo	Absorción (longitud de onda medida en nm)	Fluorescencia (longitud de onda medida en nm)	Interferencias
Al 3+	Granate de alizarina	470	500	Be, Co, Cr, Cu, F-, NO-3, PO4-, Ni, Th, Zr
F-	Complejo de Al con granate de alizarina	470	500	Be, Co, Cr, Cu, Fe, Ni, PO4-, Th, Zr
Ca2+	2- hidroxifenil benzoazol	365	Azul	NH3
Li+	8- Hydroxiquinolona	370	580	Mg
Sn	Flavanol	400	470	F-, PO-4, Zr
Zn2+	Benzoína	-----	Verde	Br, Sb, B-, iones coloreados
B4O2	Benzoína	370	450	Be, Sb

Tabla III: Ion inorgánico con su reactivo fluorimétrico, absorción, emisión e interferencias fluorescentes (Skoog, 2001)

Tierras raras como el europio, terbio, cerio e iterbio son comúnmente utilizados como luminóforos en composites o porcelanas, sin embargo, ninguno de ellos puede dar un color y una intensidad de fluorescencia como la del diente (Monsénég et al, 1993).

### 3.3.1 Tierras Raras

Los *Lantánidos* se conocen también como tierras raras, porque fueron originalmente descubiertos en minerales raros, como mezclas de óxidos o "tierras". En comparación con muchos otros elementos, las tierras raras no son realmente "raras", su abundancia absoluta en la litósfera es relativamente alta a excepción del prometio, que sólo tiene isótopos radioactivos. Son los elementos que incluyen lantano, cerio, praseodimio, neodimio, prometio, samario, europio, gadolinio, terbio, disprosio, holmio, erbio, tulio, iterbio y lutecio (Lacowikz, 1999).

Una importante característica del comportamiento espectroscópico, es la fluorescencia o luminiscencia de ciertos iones lantánidos, en especial los de europio. Una fluorescencia de color azul - violáceo es debida a la presencia de europio siendo visible bajo ultravioleta de onda larga (García del Amo et al, 1996).

Los lantánidos son los únicos metales fluorescentes que exhiben emisión en solución acuosa y tiempo de decaimiento de 0.5-3 ns. Como resultado, los coeficientes de absorción son muy bajos, menores a  $10 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , y los rangos de emisión son lentos, resultando en largos tiempos de vida. Debido a la débil absorción, los lantánidos no son directamente excitados si no que por ligandos orgánicos. Por lo tanto, el espectro de excitación del complejo refleja el espectro de absorción del ligando y no del lantánido por si mismo (Lacowikz, 1999).

Con los lantánidos se han encontrado un amplio uso en detecciones de alta sensibilidad, particularmente inmunoanálisis. Todas las muestras biológicas que exhiben autofluorescencia, presentan limitaciones en detección de alta sensibilidad. Sin embargo, la autofluorescencia decae en nanosegundos, como lo hace la fluorescencia de la mayoría de los fluoróforos, pero debido a su extenso tiempo de decaimiento, los lantánidos continúan emitiendo después de la desaparición de la autofluorescencia (Lakowicz, 1999).

### **3.4 Espectrometría**

Hay tres grandes tipos de métodos espectrométricos para identificar los elementos presentes en la materia y determinar sus concentraciones (Skoog, 2001):

- Espectrometría óptica
- Espectrometría de masas
- Espectrometría de rayos X

En la *espectroscopía óptica*, los elementos de la muestra se convierten en átomos o iones elementales en estado gaseoso por medio de un proceso de atomización. De esta manera se mide la absorción ultravioleta/visible, la emisión o fluorescencia de las especies atómicas en el vapor (Skoog, 2001).

En la *espectrometría de masas*, las muestras también se atomizan, sin embargo, los átomos en estado gaseoso se convierten en iones positivos y se separan en función de su relación masa/carga (Skoog, 2001).

En la *espectrometría de Rayos X*, no se necesita atomizar, ya que para la mayoría de los elementos, los espectros de Rayos X son independientes de cómo se encuentren dichos elementos combinados químicamente en una muestra. Las medidas pueden, por tanto, realizarse en la medida directa del espectro de fluorescencia, absorción o emisión de la muestra (Skoog, 2001).

#### **3.4.1. Instrumentos Para Medir Fluorescencia.**

Los dos instrumentos más utilizados en la fotoluminiscencia son: fluorómetros y el espectrofluorímetro (Skoog, 2001).

El funcionamiento de estos instrumentos se resume en que el haz pasa primero a través de un filtro o un *monocromador* de excitación, que transmite la radiación que provocará la fluorescencia pero excluye o limita la radiación de la longitud de onda de la emisión fluorescente. La radiación emitida llega a un *fotodetector* después de haber pasado por un segundo filtro o monocromadores que aíslan la fluorescencia para su medida. El haz de referencia pasa a través de un *atenuador* que reduce su potencia a aproximadamente a la de la radiación fluorescente. Las señales procedentes del *fotomultiplicador* de la muestra y del de referencia se dirigen a un amplificador diferencial cuya salida se visualiza en un medidor o en un registro (Skoog, 2001).

La fluorescencia se propaga a través de la muestra a todas direcciones; en principio puede observarse desde cualquier ángulo (Ewing, 1978; Skoog, 2001). En la práctica se ocupan tres geometrías diferentes (Ewing, 1978):

- El ángulo de 90° es, desde el punto de vista del diseño, el más adecuado.
- En ángulo pequeño, la solución está tan concentrada que la absorción fluorescente se obtiene mayoritariamente cerca de la superficie irradiada. La ventaja de este método es

que la radiación necesita atravesar pequeños espesores, por la concentración de sustancias.

- La construcción lineal interna es la más conveniente, ya que a partir de las mediciones se van a hacer deducciones teóricas, porque las ecuaciones involucran pocos índices de aproximación.

#### 3.4.1.1 Componentes de los Instrumentos:

Lámparas: La más común para los fluorómetros de filtro es la lámpara de arco de mercurio a baja presión ocupada con una ventana de sílice fundida, que emite a 254, 302, 313, 546, 578, 691 y 773 nm. Para los espectrofluorímetros se utiliza una lámpara de arco de xenón de alta presión de 75 a 450 W. Estas lámparas requieren de fuentes de alimentación potente, capaz de producir corrientes continuas de 5 a 20 A<sup>o</sup> y de 15 a 30 V. El espectro de una lámpara de arco de xenón es continuo desde aproximadamente 300 a 1300 nm (Skoog, 2001).

Láser: En vez de lámparas se pueden utilizar láseres en casos de muestras muy pequeñas, sensores de control remoto o cuando se necesita una radiación de excitación altamente monocromática para minimizar los efectos de las interferencias fluorescentes (Skoog, 2001).

Filtros y monocromadores: Para seleccionar la longitud de onda del haz de excitación y de la radiación resultante (Skoog, 2001).

Detectores: Los más utilizados son los tubos fotomultiplicadores, los cuales recuentan los fotones para mejorar la señal/ruido (señal es la información de interés y ruido es la información ajena indeseada). Para los espectrofluorímetros, los detectores de diodo en serie y de transferencia de carga son una buena alternativa ya que este tipo de detectores permite el registro rápido de los espectros de excitación y de emisión y particularmente son útiles en cromatografía y en electroforesis (Skoog, 2001).

Celdas: De vidrio común cuando la radiación que se maneja es de rango visible; para ultravioleta es necesario utilizar sílice o cuarzo. Las celdas pueden ser cilíndricas o rectangulares. El diseño debe ser cuidado para reducir la cantidad de radiación dispersa que llega al detector (Skoog, 2001).

#### 3.4.1.2 Diseño Del Espectrofluorímetro

Los espectrofluorímetros son de dos tipos. Los primeros utilizan un filtro adecuado para seleccionar la radiación de excitación y monocromador de red o de prisma para obtener el espectro de fluorescencia; otros en cambio poseen dos monocromadores: uno de ellos permite variar la longitud de onda de excitación y otro permite obtener el espectro de emisión. Si se efectúan las correcciones adecuadas para compensar las variaciones de la intensidad de la señal de la salida de la fuente y de la respuesta del detector en función de la longitud de onda, se

obtiene un espectro de excitación absoluto que es muy semejante al espectro de absorción. Estos dos imágenes son especulares una de la otra, ya que las diferencias de energía vibracional, para los estados electrónicos fundamental y excitado, son más o menos las mismas (Skoog, 2001).

En el caso de los que poseen dos monocromadores, la radiación que procede del primer monocromador se divide en dos: una parte se dirige al fotomultiplicador de referencia y la otra hacia la muestra. La radiación fluorescente resultante, después de ser dispersada por el primer monocromador, se detecta en el segundo monocromador (Skoog, 2001).

Los espectrofluorímetros suministran espectros de emisión satisfactorios para analizarlos cuantitativamente. Sin embargo, los espectros de emisión no son necesariamente comparables con los otros instrumentos, ya que la señal de salida depende no sólo de la intensidad de la fluorescencia, sino también de las características de la lámpara, monocromador y detectores. Todas estas características instrumentales varían con la longitud de onda y difieren de un instrumento a otro. Se recomienda calibrar el instrumento con una muestra a la que se le conoce su espectro de absorción y emisión, lo que permite estandarizar las mediciones diarias. Actualmente se trabaja en instrumentos que proporcionen un espectro corregido, en donde la parte instrumental no influya sobre la emisión final (Ewing, 1978; Skoog 2001).

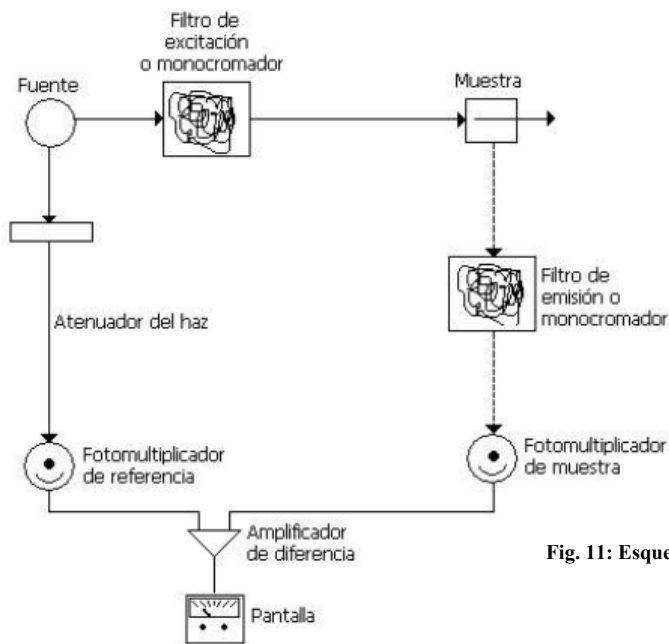


Fig. 11: Esquema de los componentes de un espectrofluorímetro (Skoog, 2001)

## CAPÍTULO 4: HISTOLOGÍA DEL DIENTE

### 4.1 Esmalte

El esmalte, llamado también tejido adamantino o sustancia adamantina, cubre a manera de casquete a la dentina en su porción coronaria ofreciendo protección al tejido conectivo subyacente integrado en el sistema dentino-pulpar (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

Es el "tejido" más duro del organismo debido a que estructuralmente está constituido por millones de prismas altamente mineralizados que lo recorren en todo su espesor, desde la unión amelodentinaria a la superficie externa o libre en contacto con el medio bucal (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

La dureza del esmalte se debe a que posee un porcentaje muy elevado (95%) de matriz inorgánica y muy bajo (0,36-2%) de matriz orgánica. Los cristales de hidroxiapatita constituidos por fosfato de calcio representan el componente inorgánico del esmalte (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

#### **4.1.1. Composición Química:**

El esmalte está constituido químicamente por una matriz orgánica (1-2%), una matriz inorgánica (95%) y agua (3-5%) (Gómez de Ferraris y Campos, 2002)..

- **Matriz Orgánica:** el componente orgánico más importante es de naturaleza proteica, y constituye un complejo sistema de multiagregados polipeptídicos que, en general, no han sido todavía caracterizados de forma definitiva. La dificultad se debe a las contaminaciones que se producen al tratar de separar o aislar la porción orgánica del esmalte de la dentina. Mediante distintas técnicas de fraccionamiento, electroforesis, separación y extracción, diversos autores han postulado la existencia de distintas proteínas con diferente peso molecular y propiedades. Entre las proteínas presentes en la matriz orgánica del esmalte, en las distintas fases de su formación, destacan (Gómez de Ferraris y Campos, 2002):

- **Amelogeninas:** moléculas hidrofóbicas, fosforiladas y glicosiladas, ricas en *prolina*, *ácido glutámico*, *histidina* y *leucina*, en tanto que carecen de *hidroxiprolina* y *cistina*, lo cual las diferencia bastante de otras proteínas estructurales como el colágeno y la queratina. Son las más abundantes al comenzar la amelogénesis (90%) y disminuyen progresivamente a medida que aumenta la madurez del esmalte. Se denominan proteínas del esmalte inmaduro y se localizan entre los cristales de las sales minerales, sin estar ligadas a ellos (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).
- **Enamelinas:** moléculas hidrofílicas, glicosiladas, ricas en *serina*, *ácido aspártico*, *glicina*, *alanina* y *arginina*. Se localizan en la periferia de los cristales formando las proteínas de cubierta, aunque algunos autores afirman que pueden encontrarse también en

el seno de las estructuras cristalinas. Representan el 2-3% de la matriz orgánica del esmalte. Se admite que no son secretadas por los ameloblastos y se ha sugerido que resultan de la degradación de las amelogeninas (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

- **Ameloblastinas o Amelinas:** inmunohistoquímicamente se localizan en las capas más superficiales del esmalte y en la periferia de los cristales. Representan el 5% del componente orgánico (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).
- **Tuftelina (proteína de los flecos):** se localiza en la zona de unión amelodentinaria al comienzo del proceso de formación del esmalte. Representa el 1-2% del componente orgánico (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).
- **Parvalbúmina:** proteína identificada en el polo distal del proceso de Tomes del ameloblasto secretor. Su función está asociada al transporte de calcio del medio intracelular al extracelular (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

Las **proteínas en el esmalte maduro** son de naturaleza ácida, peso molecular bajo y composición compleja. Tienen una composición característica de aminoácidos con menos prolina, ácido glutámico e histidina y más glicina, ácido aspártico y serina que las proteínas del esmalte en desarrollo. En consecuencia, la disminución de 100 ó 200 veces del contenido de proteínas que se lleva a cabo durante la mineralización y maduración del esmalte, se acompaña de un cambio importante en la composición total de aminoácidos. De hecho, la composición de aminoácidos de la proteína del esmalte maduro es muy similar al de las esmaltelinas ácidas, que son un componente menor del esmalte en desarrollo. Por lo tanto, parecería que el proceso de maduración incluye la degradación y pérdida preferencial de las amelogeninas; y la retención, aunque con cierta degradación, de las esmaltelinas. Esto parece razonable, ya que las esmaltelinas están unidas firmemente a los cristales de apatita (Williams y Elliott, 1990).

Además de estas proteínas específicas en la matriz orgánica del esmalte existen proteínas séricas, enzimas y pequeños porcentajes de condroitín 4-sulfato, condroitín 6-sulfato y lípidos (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

#### - **Matriz Inorgánica:**

Está constituida por sales minerales cálcicas básicamente de fosfato y carbonato. Dichas sales, muestran una organización apatítica que responde, al igual que ocurre en el hueso, dentina y cemento, a la fórmula general  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ . Dichas sales se depositan en la matriz del esmalte, dando origen rápidamente a un proceso de cristalización que transforma la masa mineral en cristales de hidroxiapatita. La concentración de fósforo y calcio tiende a decrecer de la superficie hacia la unión amelodentinaria, un hecho que concuerda con la baja densidad y el contenido mineral del esmalte interno. Existen también sales minerales de calcio como carbonatos y sulfatos, aumentando el nivel de carbonato hacia la unión amelodentinaria (Gómez de Ferraris y Campos, 2002; Williams y Elliott, 1990).

Además están presentes *oligoelementos* como potasio, magnesio, hierro, flúor, manganeso, cobre, sodio, cinc, estroncio, estaño, plomo, etc. (Williams y Elliott, 1990; Jenkins, 1983).

Hay concentraciones más altas de *sodio* en las regiones internas del esmalte que en la superficie, debido quizás a que el sodio se asocia con el agua en el esmalte, cuya concentración es más alta en el interior. El *magnesio* tiene el mismo patrón de distribución que el carbonato y el sodio, la concentración cerca de la unión amelodentinaria puede ser hasta de tres veces la de la capa superficial. De todos los constituyentes inorgánicos, el *flúor* muestra la mayor variación en cuanto a la concentración, siendo alta en la zona superficial inmediata, y disminuyendo en forma brusca en la unión amelodentinaria. El contenido de *hierro* es un poco mayor en la superficie en comparación con el esmalte subsuperficial, y hay un ligero aumento con la edad. El *cinc* se encuentra en concentraciones comparables con las del flúor y al igual que éste se acumula en la superficie. El *plomo* se presenta en concentraciones más bajas y también se acumula en la superficie. El *estaño* tiene una tendencia a la acumulación superficial. El *cobre* y el *estroncio* no parecen mostrar variaciones en la concentración con la distancia de la superficie (Williams y Elliott, 1990).

**- Agua:**

Se localiza en la periferia del cristal constituyendo la denominada *capa de hidratación* o *capa de agua adsorbida*. Por debajo y más hacia el interior, en el cristal, se ubica la denominada *capa de iones y compuestos adsorbidos*, en la que el catión  $\text{Ca}^{2+}$  puede ser sustituido por  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , e  $\text{H}_3\text{O}^+$ , y el anión  $\text{OH}^-$  por  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ , etc. El porcentaje de agua en el esmalte disminuye progresivamente con la edad (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

#### 4.1.2. Estructura Histológica del Esmalte:

**- Unidad Estructural Básica:**

La unidad estructural básica son los prismas del esmalte, compuestos por cristales de hidroxiapatita (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

- **Esmalte Prismático:** Los prismas son estructuras longitudinales de 4  $\mu\text{m}$  de espesor promedio, que se dirigen desde la unión amelodentinaria hasta la superficie del esmalte. En relación con su longitud es mayor que el propio espesor del esmalte, pues el curso de los prismas es sinuoso. El diámetro de los prismas varía entre 4-10  $\mu\text{m}$ , es menor en su punto de origen y aumenta gradualmente a medida que se acerca a la superficie libre. El número de prismas varía en relación con el tamaño de la corona evaluándose entre 5 y 12 millones (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

Se pueden distinguir dos regiones en los prismas: la cabeza o cuerpo (en forma de cúpula esférica seguida de un cuello estrecho) y la cola con terminación irregular (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

El material orgánico es muy escaso y se distribuye básicamente en la periferia de los prismas rodeando la estructura en ojo de cerradura (cabeza y cola). Este material orgánico periférico es un material muy insoluble y corresponde a la denominada vaina de los prismas (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

- **Esmalte Aprismático:** Es material adamantino carente de prismas. Se localiza en la superficie externa del esmalte prismático y posee un espesor de 30  $\mu\text{m}$ . El esmalte aprismático está presente en todos los dientes primarios (en la zona superficial de toda la corona) y en un 70% de los dientes permanentes. En estos últimos se encuentra ubicado en mayor medida en las regiones cervicales y en zonas de fisuras y microfisuras, y en menor medida en las superficies cuspídeas (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

## 4.2 Dentina:

La dentina es el eje estructural del diente y constituye el tejido mineralizado que conforma el mayor volumen del diente. En la corona está cubierta por el esmalte, mientras que en la región radicular está tapizada por el cemento. Interiormente, la dentina delimita una cavidad, denominada cámara pulpar, que contiene a la pulpa (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

En la estructura de la dentina podemos distinguir dos componentes básicos: la matriz mineralizada y los conductos o túbulos dentinarios que la atraviesan en todo su espesor y que alojan a los procesos odontoblásticos, que son largas prolongaciones citoplasmáticas de las células especializadas llamadas odontoblastos, cuyos cuerpos se ubican en la región más periférica de la pulpa. Estas células producen la matriz colágena de la dentina y también participan en el proceso de calcificación de la misma, siendo por lo tanto, responsables de la formación y del mantenimiento de la dentina (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

### 4.2.1 Composición Química:

La composición química de la dentina es aproximadamente de 70% de materia inorgánica, principalmente cristales de hidroxiapatita, 18% de materia orgánica, principalmente fibras colágenas, y 12% de agua (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

#### - Matriz Orgánica:

El elemento orgánico más abundante de la dentina es el colágeno, que se organiza formando una trama fibrilar (Abramovich, 1999).

El colágeno tiene una composición de aminoácidos poco común, formándose de *glicina* en casi una tercera parte, y de *prolina*, *hidroxiprolina* y *alanina* en casi una décima parte cada una (Williams y Elliott, 1990).

En la dentina el *colágeno tipo I* es el más representativo, es sintetizado por el odontoblasto y representa el 90% de dicha matriz. Una vez segregado en la región de la

predentina las moléculas de colágeno configuran las fibras extracelularmente (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

Los *colágenos tipos III, IV, V y VI* se han descrito en pequeñas proporciones y en diferentes circunstancias. El colágeno tipo *III* se segrega en casos de dentina opalescente y está ocasionalmente presente en la denominada dentina peritubular; el de tipo *IV*, en los momentos iniciales de la dentinogénesis, cuando existe una membrana basal que separa la dentina no mineralizada de los ameloblastos secretores, y finalmente, los de tipo *V y VI* se han descrito en distintas regiones de la predentina (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

En la matriz orgánica de la dentina, se han detectado asimismo, proteínas semejantes a las existentes en la matriz ósea tales como la *osteonectina*, la *osteopontina* y la *proteína Gla de la dentina* (similar a la osteocalcina). Dicha matriz contiene además tres proteínas que se localizan únicamente en la dentina: son la *fosforina dentinaria (DPP)* que tras el colágeno es el componente más abundante de la dentina, la *proteína de la matriz dentinaria 1 (DMP1)* y la *sialoproteína dentinaria (DSP)*. Las dos primeras, segregadas por los odontoblastos participarían en el proceso de mineralización y la última, segregada por odontoblastos jóvenes y también por preameloblastos, participarían de algún modo en el proceso de interrelación epitelio-mesénquima, que acompaña al desarrollo de los dientes (Gómez de Ferraris y Campos, 2002; Abramovich, 1999).

También están presente *proteoglicanos* en la matriz dentinaria. El *condroitín 4-sulfato* y el *condroitín 6-sulfato* son los glucosaminoglucanos más frecuentes, predominando el segundo de ellos en la predentina, también en menor cantidad existe *ácido hialurónico, sulfato de dermatán y sulfato de queratán*. El contenido de proteoglucanos en la predentina es mucho más elevado que en la dentina, que está unido al hallazgo en la predentina de enzimas capaces de degradar los núcleos proteínicos de los proteoglucanos (Williams y Elliott, 1990).

Proteínas del suero, como la *albúmina, fosfolípidos y factores de crecimiento*, posiblemente inmovilizados durante la dentinogénesis, se han identificado también en la matriz orgánica de la dentina (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

#### **- Matriz Inorgánica:**

Está compuesta por cristales de hidroxapatita, similares químicamente a los del esmalte, cemento y hueso. Por su tamaño se diferencian de los grandes cristales del esmalte, ya que los cristales de la dentina son delgados y pequeños, más parecidos a los que se encuentran en el tejido óseo. Los cristales se orientan de forma paralela a las fibras de colágeno de la matriz dentinaria, disponiéndose entre las fibras y también dentro de las mismas, ya que ocupan los espacios entre las moléculas que forman el colágeno (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

En la fracción mineral, además de los cristales de hidroxapatita hay cierta cantidad de fosfatos amorfos, carbonatos, sulfatos y oligoelementos como flúor, cobre, zinc, hierro, magnesio, etc. Existe además calcio ligado a componentes de la matriz orgánica que actuarían

como reservorio para la formación de cristales de hidroxiapatita (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

#### 4.2.2. Estructura Histológica de la Dentina:

##### - Unidades Estructurales Básicas:

- **Túbulos Dentinarios:** los túbulos dentinarios son estructuras cilíndricas delgadas que se extienden por todo el espesor de la dentina desde la pulpa hasta la unión amelodentinaria o cementodentinaria. Se asume que su longitud promedio oscila entre 1,5 y 2 mm. La pared del túbulo está formada por *dentina peritubular* que está constituida por una matriz mineralizada. Los túbulos alojan en su interior la prolongación odontoblástica o proceso odontoblástico que son las prolongaciones citoplasmáticas que dejan los odontoblastos a medida que forman la dentina. Entre el proceso odontoblástico y la pared del túbulo hay un espacio denominado *espacio periprocesal*, ocupado por el fluido dentinario, el cual es un líquido tisular rico en sodio y pobre en potasio (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

Hay muchos más túbulos dentinarios por unidad de superficie en las zonas de dentina próximas a la pulpa, existiendo aproximadamente 45.000 a 65.000 por  $\text{mm}^2$ , mientras que en las regiones más externas de la dentina su número es de 15000 a 20000 por  $\text{mm}^2$ . El porcentaje del área tubular varía en general desde un 22% en la proximidad de la pulpa hasta un 1% en la dentina próxima a la unión amelodentinaria. En la dentina radicular el número de túbulos es de 24.000 por  $\text{mm}^2$  cerca del área pulpar y alrededor de 12.000 por  $\text{mm}^2$  en la región de la periferia (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

El diámetro de los túbulos varía siendo más anchos en la proximidad de la pulpa alcanzando hasta 5  $\mu\text{m}$  de diámetro y más estrechos en la zona periférica, siendo el diámetro promedio de 1,7  $\mu\text{m}$  (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

Los túbulos dentinarios presentan ramificaciones colaterales o túbulos secundarios muy delgados (1  $\mu\text{m}$  de diámetro) que parten, en general, en ángulo recto y se conectan con túbulos vecinos (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

Los túbulos en su trayecto final presentan ramificaciones terminales. En la zona más periférica de la dentina coronaria son arboriformes y finalizan en la unión amelodentinaria, aunque algunas ramas pueden penetrar en el esmalte (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

Los túbulos están rodeados por un anillo o pared denominado *dentina peritubular*, tubular o matriz peritubular (menor a 1  $\mu\text{m}$ ), altamente mineralizada. Se deposita en forma centrípeta en relación al túbulo, de manera lenta y gradual, y con la edad puede llegar a obliterar parcial o totalmente los túbulos dentinarios. En la dentina joven, el espesor de la dentina peritubular es de 400 nm en la proximidad pulpar, mientras que cerca de la unión amelodentinaria es de 750 nm. Por ello el diámetro interno de los túbulos es superior a 2,5  $\mu\text{m}$  en la parte profunda de la dentina, comparado con el diámetro de 0,9  $\mu\text{m}$  que exhiben en la zona superficial. Por lo tanto el área de la dentina intertubular también varía según la

profundidad de la dentina que es aproximadamente un 12% en la predentina, y de un 96% a nivel de la unión amelodentinaria (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

La dentina peritubular se caracteriza porque carece prácticamente de colágeno aunque se ha descrito la presencia ocasional de colágeno tipo III. La materia orgánica está formada por sustancias no colágenas como *glicoproteínas*, *proteoglicanos* y *lípidos*. Se trata, además, de una dentina muy mineralizada cuyos cristales de hidroxapatita son ricos en *magnesio*, *carbonato* y *fosfato cálcico amorfo* (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

- **Matriz Intertubular o Dentina Intertubular:** la matriz intertubular se distribuye entre las paredes de los túbulos dentinarios y su componente fundamental son las fibras de colágeno que constituyen una malla fibrilar entre y sobre la cual se depositan los cristales de hidroxapatita semejantes a los existentes en la dentina peritubular. En la matriz intertubular pueden detectarse todos los componentes que constituyen la materia orgánica de la dentina (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

### **4.3. Pulpa**

Forma parte del complejo dentino-pulpar, que tiene su origen en la papila dental (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

La cámara pulpar es una cavidad central en el interior de la dentina, que desde el punto de vista morfológico reproduce la forma del elemento dentario, por lo que cambia según la anatomía de los dientes. El tamaño de la cavidad pulpar disminuye con la edad por el depósito continuo de dentina secundaria y, también por la aposición localizada de dentina terciaria que se produce como respuesta ante distintos tipos de noxas (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

#### **4.3.1. Componentes Estructurales de la Pulpa:**

Desde el punto de vista estructural la pulpa dental es un tejido conectivo de tipo laxo, ricamente vascularizado e inervado. En su periferia se ubican los odontoblastos (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

La pulpa está formada por un 75% de agua y por un 25% de materia orgánica. Esta última está constituida por células y matriz extracelular representada por fibras y sustancia fundamental (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

### **4.4. Cemento**

El cemento es un tejido conectivo mineralizado, derivado de la capa celular ectomesenquimática del saco o foliculo dentario que rodea el germen dentario. A semejanza del esmalte, el cemento cubre la dentina, aunque sólo en la porción radicular. Tiene como función

principal anclar las fibras del ligamento periodontal a la raíz del diente (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

#### 4.4.1. Componentes Estructurales del Cemento:

##### - Células:

- **Cementoblastos:** se encuentran adosados a la superficie del cemento. sus funciones son sintetizar *tropocolágeno* que formará las fibras colágenas intrínsecas, y *proteoglicanos* o *glicosaminoglicanos* para la matriz extracelular (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).
- **Cementocitos:** una vez que los cementoblastos quedan incluidos en el cemento mineralizado, se les denomina cementocitos, éstos se alojan en cavidades denominadas cementoplastos o lagunas (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).
- **Otras células:** otro tipo de células que pueden hallarse en relación con el cemento son los *cementoclastos* u *odontoclastos*, los cuales tienen capacidad de resorción de los tejidos duros (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

##### - Matriz Extracelular:

La matriz extracelular del cemento contiene aproximadamente 46 a 50% de materia inorgánica, 22% de materia orgánica y 32% de agua (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

El principal componente inorgánico está representado por *fosfato de calcio*, que se presenta como cristales de hidroxiapatita. Dichos cristales son de menor tamaño que los del esmalte y dentina. Los cristales se ubican tanto dentro de las fibras colágenas como entre ellas. (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

Además de los fosfatos de calcio hay también carbonatos de calcio y oligoelementos, entre los cuales están el *sodio*, *potasio*, *hierro*, *magnesio*, *azufre* y *flúor* (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

La *matriz orgánica* del cemento está formada por fibras de colágeno principalmente de tipo I, que constituyen el 90% de la fracción proteica de este tejido. Existen dos clases de fibras, intrínsecas y extrínsecas. Las intrínsecas están formadas por los cementoblastos, mientras que las extrínsecas son haces de fibras del ligamento periodontal (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

La sustancia fundamental está integrada por *proteoglicanos*, *glicosaminoglicanos* y *glicoproteínas* (Gómez de Ferraris y Campos, 2002).

## **CAPÍTULO 5: PROPIEDADES ÓPTICAS DEL DIENTE**

Para crear un diente de aspecto natural se debe conocer en profundidad sus propiedades ópticas y las de los materiales empleados, siendo las más importantes el color (croma, intensidad y valor), opacidad, translucidez, opalescencia y fluorescencia.

El comportamiento óptico del diente depende de las características de los tejidos que lo conforman y del color propio de éstos.

### **5.1 Propiedades ópticas del esmalte**

La luz que llega al esmalte será reflejada, y por otra parte transmitida a la dentina. Si el esmalte tiene una superficie perfectamente lisa, la reflexión será *especular* acromática; si la superficie es irregular la reflexión será *difusa* y el diente se verá con menos brillo. La superficie del esmalte se caracteriza por tener pequeñas irregularidades, dando una reflexión de la luz en todas direcciones, lo que conocemos reflexión difusa (González y Vidal, 2005).

El esmalte se considera como un cuerpo *translúcido*. La translucidez va a depender de la cantidad de sustancia orgánica que tenga un tejido, cuanto mayor es la cantidad de sustancia orgánica, menos translúcido es el medio ya que éstas actuarían como partículas opacas (González y Vidal, 2005).

Si algo de color tiene podrá actuar como filtro absorbiendo determinadas longitudes de onda. La dispersión de la luz en su interior producirá un efecto de vidrio esmerilado iluminado llegando a la dentina los rayos que pasan el esmalte como un abanico. El efecto de dispersión será producido por los prismas del esmalte (González y Vidal, 2005).

El fenómeno de opalescencia en dientes naturales, depende del tamaño de los cristales de hidroxiapatita que es menor que la longitud de onda de la luz incidente (González y Vidal, 2005). La capacidad del esmalte de reflejar preferentemente las ondas azules y permitir la transmisión de las ondas naranjas de la luz visible le provoca sus propiedades opalescentes. Cuando las masas de composite son suficientemente translúcidas también exhiben efectos de opalescencia, los cuales son esenciales para reproducir las reflexiones azules típicas del tercio incisal. Este efecto es predominante en pacientes jóvenes (Dietschi, 2001).

Aunque el esmalte es acromático, influencia sólo débilmente el color del diente otorgando una dominancia azul, el esmalte mismo no modifica el tinte del diente pudiendo sólo, a través de fenómenos de reflexión y de transmisión de la luz, modificar el croma y el valor. (Cattaruzza, 2002).

## **5.2 Propiedades ópticas de la dentina**

La luz difusa y algo filtrada en el esmalte incide en la dentina y en el límite amelodentinario, esta luz recibida se reflejará hacia el exterior en forma dispersa dada la irregularidad propia de la dentina, y por otra parte se absorberá. Por lo tanto la luz reflejada será cromática del matiz, valor y croma que la dentina tenga (González y Vidal, 2005).

La luz reflejada por la dentina, volverá a atravesar el esmalte, siendo nuevamente dispersada antes de salir al exterior y estimular al ojo de un observador (González y Vidal, 2005).

La fluorescencia es un fenómeno que depende principalmente de la dentina. Cuando los rayos ultravioletas inciden en los dientes se emite una luz fluorescente azulada producto de la excitación de fotosensibilidad de la dentina. La percepción cromática de fluorescencia es fuertemente influenciada por la luz solar. La energía que el diente absorbe se convierte en longitudes de onda mayores que van desde 400-500 nm (azul-violáceo). Este fenómeno se llama fluorescencia dentaria. La fluorescencia puede observarse mejor en la región media incisal y la región cervical (Dietschi, 1996).

## **5.3 Fluorescencia en diente**

Fluorescencia es la propiedad que poseen algunas sustancias de emitir luz de longitud de onda mayor a la que fue expuesta. La fluorescencia inducida por luz en la dentina y esmalte es un fenómeno óptico causado por la absorción y emisión por parte de moléculas cromóforas dentro del tejido (Al-Khateeb et al, 2002).

### **5.3.1 Antecedentes Históricos**

La emisión de fluorescencia propia de los tejidos dentarios expuestos a luz ultravioleta, fue por primera vez descrita en 1911 por Stubel. Benedict en 1928 sugiere que la dentina fluoresce más brillantemente que el esmalte cuando es sometida a una luz azulada. También observó la pérdida de fluorescencia en las manchas blancas propias de las caries incipientes, siendo su característica fluorescente una herramienta útil para estudiar las caries dentales; y tras los hallazgos de sus experimentaciones, concluyó que la propiedad de fluorescencia de la dentina estaba asociada a la fracción orgánica. Hartles y Leaver en 1953 concluyeron que los componentes orgánicos están presentes aparentemente en pequeñas cantidades y confirmaron que la dentina sana, cuando es iluminada con luz UV, emitía una fluorescencia azul brillante. Después, en 1955, sugirieron que el contenido de pirimidina es en parte responsable de la fluorescencia (Booij y ten Bosch, 1982).

Laurila y Mancewicz en 1960 extrajeron péptidos fluorescentes de la dentina humana y concluyeron que el máximo de excitación ocurrió a los 328-330 nm y la máxima emisión a los 395-400 nm. Investigaciones en fluorescencia de proteínas por Shore y Pardee en 1956 presentaron excitaciones alrededor de los 280-300 nm y emisiones alrededor de 350 nm, debidas a aminoácidos aromáticos en las proteínas. Armstrong en 1963 precisó que estos espectros de

emisión están en la porción invisible del espectro y no pueden por lo tanto ser responsables de la fluorescencia en la dentina humana a menos que algún otro componente capaz de lograr un nivel de excitación con una emisión de fluorescencia más alto estuviera presente. También sugirió que la fluorescencia en dentina humana puede ser originada en los complejos inorgánicos de algunos componentes orgánicos; tales componentes, pueden estar presentes tanto independientes o relacionados con proteínas de la dentina. El fenómeno de re-absorción puede ser también considerado pues su efecto es mayor si los fluoróforos están combinados en la misma molécula (Booij y ten Bosch, 1982).

Mancewicz y Höerman en 1964 describieron la fluorescencia de proteínas calcificadas, concluyendo que existen tres o más moléculas fluorescentes en ellas: tirosina, triptofano y otro fluoróforo no identificado (Booij y ten Bosch, 1982).

Spitzer y ten Bosch en 1976 notan que el triptofano está presente en el esmalte, pero concluyen que la fluorescencia fue producida por un material orgánico inespecífico, determinando que el componente orgánico es responsable de la mayoría de la fluorescencia del esmalte. Además, han demostrado que la hidroxiapatita sintética y el esmalte fluorescen en el rango visible del espectro, cuando son excitados con láser ultravioleta.

De acuerdo a lo mencionado por Hefferen en 1971, la fluorescencia no se produce por un específico y único componente, por lo que describe interacciones entre los diferentes fluoróforos que se encuentran dentro del tejido dental (Booij y ten Bosch, 1982).

Propiedades de fluorescencia similar a las del esmalte, fueron encontradas en la ditirosina. Andersen en 1963, 1964, 1966 y 1967, detectó la presencia de este componente en queratinas, colágeno, elastina y otras proteínas estructurales. La catalizadora de la peroxidasa forma la ditirosina en el colágeno del ligamento periodontal, lo que fue estudiado por Tenovuo y Paunio en 1979, quienes también estudiaron la formación de ditirosina por la lactoperoxidasa de la saliva humana (Booij y ten Bosch, 1982).

### 5.3.2 Factores que Interfieren en la Emisión de Fluorescencia del Diente.

Se han estudiado distintos factores que pueden interferir en la intensidad de fluorescencia de los dientes humanos tales como la edad, el calor, la humedad, la morfología del diente, la angulación de la muestra, entre otras.

Otro factor que puede alterar esta variable es la **angulación de la muestra** (Matsumoto et al, 1999) producto de la reflexión provocada por la luz de excitación (Buchalla et al, 2004). Hay que considerar además que la micro morfología del diente es determinante, dado que ésta difiere de muestra en muestra, por lo tanto la reflexión de la luz es difícil de controlar (Buchalla et al, 2004).

Lo que si hay que considerar es el estado de **hidratación** del esmalte, dado que la deshidratación altera las cualidades ópticas, tales como la dispersión de la luz y con ello la fluorescencia (Al-Khateeb et al, 2002).

Se debe tener presente además que el **aumento de temperatura** implica un incremento en la intensidad y esto no es debido a un simple mecanismo biológico como una reacción enzimática, sino más bien a un mecanismo fisicoquímico (Matsumoto et al, 1999).

Incluso en algunos estudios se ha planteado que posterior a la extracción dentaria aumenta la intensidad de fluorescencia (Matsumoto et al, 1999), e incluso que existe un leve aumento en dientes removidos de cadáveres que en los extraídos naturalmente (Kvaal y Solheim, 1989). Sin embargo, el motivo de extracción no presenta variaciones marcadas en la intensidad.

En cuanto al **tiempo de vida** no se observaron mayores variaciones en los diferentes tipos de dientes y distintas edades (Matsumoto et al, 1999). Según Alfano y Yao (1981) la emisión del tiempo de vida de la dentina cariada y la normal fue la misma, 2.3 nseg.

En lo que se refiere al **color del diente** bajo luz negra, algunos autores señalan que es independiente del color del espectro fluorescente (Monsénègo et al, 1993), pero que existe una fuerte relación entre la profundidad del color y el incremento de la intensidad con la edad (Kvaal y Solheim, 1989).

### 5.3.3. Diferencias en la Emisión de Fluorescencia entre Dientes Sanos y con Caries.

Como mencionábamos, investigaciones han estudiado la fluorescencia en la dentina intentando caracterizar los componentes responsables de su fluorescencia, tanto en dentina sana como en dentina cariada. Similares estudios han sido llevados a cabo en esmalte dental. (Sundström et al, 1985).

La mayoría de los estudios han concluido en que existiría una disminución de la fluorescencia en aquellos dientes que presentan caries, respecto a aquellos que no las presentan. Se ha observado que la fluorescencia sigue la distribución y dirección de los túbulos dentinarios y tiende a disminuir mientras sigue la lesión en la profundidad de la dentina. (Banerjee y Boyde, 1998). La fluorescencia de la caries dentinaria y de esmalte tienen intensidad reducida en comparación con el tejido sano del mismo diente (Kval y Solheim, 1989).

Las causas de la disminución de la fluorescencia parecen ser múltiples; se han propuesto, entre otras, la pérdida de cromóforos y la amortiguación de la fluorescencia debido a cambios en el entorno inmediato de moléculas cromofóricas. (Van der Veen y ten Bosch 1995)

Se ha observado que, en aquellas lesiones por caries, donde los minerales se pierden y son reemplazados por agua, la dispersión de la luz es mayor que en esmalte sano y por lo tanto, la fluorescencia es menor. Cuando el agua se evapora desde el esmalte la dispersión de la luz ocurre en el aire en vez del agua. Debido a que el índice de refracción del aire ( $n=1.0$ ) es menor que el del agua ( $n=1.33$ ) existe mayor dispersión y, por consiguiente, menos fluorescencia puede ocurrir en esmalte seco que en esmalte húmedo (Al-Khateeb et al, 2002). La cantidad de absorción de luz y emisión de fluorescencia es mayor en el esmalte desmineralizado que ha sido hidratado que en el deshidratado (Ando et al, 2006).

En el esmalte, como en la dentina, las lesiones de caries generalmente exhiben menos fluorescencia que los tejidos sin daño. Se ha encontrado que la fluorescencia en la sustancia dentaria puede ser obtenida por luz visible así como por luz en el rango ultravioleta. Cuando el esmalte es iluminado con luz en el rango azul-verde la fluorescencia observable ocurre en el rango verde-amarillo. La diferencia en la fluorescencia entre esmalte intacto y esmalte cariado parece ser mayor en este rango que en el azul fluorescente obtenido por excitación ultravioleta (Sundström et al, 1985).

El esmalte desmineralizado artificialmente tuvo menor fluorescencia en quantum que el esmalte sano, cuando es excitado con luz UV. Las caries naturales de esmalte, sin embargo, exhibieron adicionalmente fluorescencia en la región roja del espectro cuando fue excitado con luz ultravioleta, probablemente por la presencia de derivados de porfirina producidas por los microorganismos orales (Buchalla et al, 2004).

Konig et al en 1999, citado por Ribeiro et al en el 2005, muestra que las lesiones cariosas exhiben menor fluorescencia que los tejidos duros intactos. El fluoróforo de larga vida media, presente en la caries, emite en la región roja espectral. La disminución del tiempo y las características que presentó el espectro fueron típicas de monómeros de porfirina libres de metal, que se creen son producidas por las bacterias asociadas a la caries.

Sundström et al, en 1985 estableció que una fuente de luz de 488 nm produjo fluorescencia con un peak de alrededor de 540 nm en dentina y esmalte. La diferencia en la intensidad de la fluorescencia entre esmalte sano y esmalte con caries fue generalmente mayor a esta longitud de onda que a cualquier otra usada, y también fue más pronunciado el cambio rojo del esmalte con caries.

Según Alfano y Yao en 1981, las mayores diferencias entre los espectros de dientes cariados y sanos, ocurre cercano a los 600 nm. Los peaks del espectro luminiscente se encuentran a los 427 nm y 580 nm al excitar con 350 nm y 530 nm, respectivamente.

Debido a que la intensidad de la fluorescencia del esmalte cariado es menor que el del esmalte sano, la medición de la fluorescencia puede ser aplicada para examinar porciones cariadas (Matsumoto et al 1999).

A pesar de todos los antecedentes antes presentados, existe controversia respecto al tema, debido a que algunos estudios han reportado un aumento de la fluorescencia en dientes con caries respecto a dientes sanos. Entre ellos, Van der Veen y ten Bosch en 1995, usando una luz de excitación de 460 y 488 nm, obtuvieron una fluorescencia emitida por la dentina a los 520 nm la cual se incrementó después de la desmineralización in Vitro.

Hibst y Paulus en 1998, citado por Ribeiro et al en el 2005, proponen que la fluorescencia en las caries resulta más de la presencia de metabolitos bacterianos que de la desmineralización. Ellos encontraron un incremento en la emisión de fluorescencia a los 640 y 655 nm en las caries de esmalte o dentina, en comparación con los tejidos intactos.

## HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

### Hipótesis:

*"El esmalte al ser excitado con luz ultravioleta posee una emisión de fluorescencia menor a la presentada por la dentina en las mismas condiciones"*

### Objetivos:

#### 1. Objetivo General:

- Evaluar in vitro las características de fluorescencia de los tejidos dentarios, esmalte y dentina, de dientes definitivos sanos recién extraídos, en las comunas de Viña del Mar y Valparaíso durante el año 2006.

#### 2. Objetivos Específicos:

- Evaluar la emisión de fluorescencia del esmalte.
- Evaluar la emisión de fluorescencia de la dentina.
- Comparar la emisión de fluorescencia de esmalte y dentina, tanto factorizadas como sin factorizar por la curva de sensibilidad del ojo humano.
- Comparar las áreas bajo la curva de esmalte y dentina, y determinar si existe una proporcionalidad entre ellas.

## MATERIALES Y METODOS

Se realizó un estudio experimental, comparativo e in vitro a 54 dientes extraídos en diversos establecimientos de salud dental de las ciudades de Viña del Mar y Valparaíso, recolectados de forma aleatoria durante los meses de Enero, Febrero y Marzo de 2006. Los criterios para la selección de la muestra fueron los siguientes:

- ✚ Dientes sanos
- ✚ Dientes sin hipocalcificaciones
- ✚ Dientes sin hipoplasias
- ✚ Dientes sin alteraciones genéticas
- ✚ Dientes sin tinciones intrínsecas o extrínsecas
- ✚ Dientes sin restauraciones
- ✚ Dientes extraídos por razones ortodóncicas o periodontales

Para su recolección se procedió a dejar frascos plásticos con agua destilada, y rotulados por edad, durante una semana en cada establecimiento, los rangos de edad variaban entre:

- ✚ 11-20 años
- ✚ 21-30 años
- ✚ 31-40 años
- ✚ Mayores de 40 años

Después de una semana se retiraron los dientes y fueron almacenados para proceder posteriormente a su selección dental, limpieza y despulpamiento. Para esta maniobra se utilizó el ultrasonido: Cavitron Bobcat de Dentsply, para eliminar cálculos y restos de ligamento periodontal, teniendo que incluirse en algunos casos pulidos radiculares con curetas marca Hu-Friedy. Para despulparlos se procedió a cortar levemente el ápice radicular con instrumental rotatorio de alta velocidad, utilizando como instrumento de corte una piedra de diamante cilíndrica de grano grueso, con la finalidad de acceder al sistema de conductos por vía retrógrada y extraer la pulpa con extractores de diferentes colores según el diámetro del o los conductos, evitando así la posibilidad de tinciones intrínsecas por la degradación de restos pulpares.

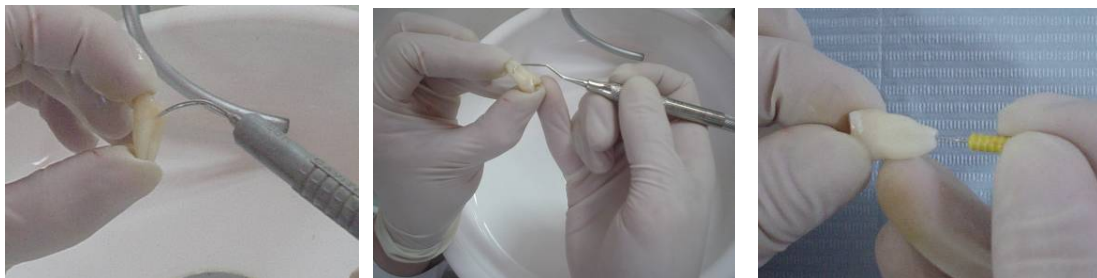


Fig. 12: Limpieza y despulpamiento de los dientes recolectados

Cada diente fue almacenado en envases plásticos cerrados, rotulados por edad y sumergidos en agua destilada para su posterior análisis.

Terminada la recolección, selección y limpieza de dientes, se contabilizaron:

En el rango 11-20 años:

- Cinco terceros molares superiores
- Dos terceros molares inferiores
- Dos segundos molares inferiores
- Cinco primeros molares inferiores
- Dos segundos premolares inferiores
- Cuatro primeros premolares superiores
- Dos primeros premolares inferiores

En el rango 21-30 años:

- Veinte terceros molares superiores
- Nueve terceros molares inferiores
- Un primer molar superior
- Dos primeros premolares inferiores

En el rango de 31-40 y mayores de 40 años, la recolección fue escasa por lo que se procedió a su eliminación.

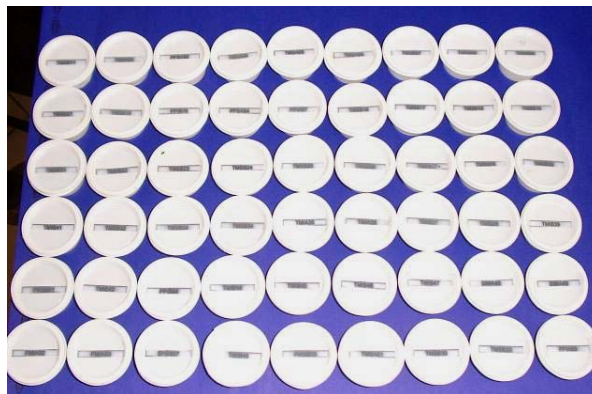


Fig. 13: Las 54 muestras rotuladas en envases cerrados

Para facilitar la identificación de las muestras se les asignó una sigla a cada diente. (Tabla IV)

**Tabla IV:** Siglas utilizadas para la identificación de las muestras

MUESTRA	DIENTE	EDAD	ABREVIACION
01	TERCER MOLAR SUPERIOR	11 - 20	TMSA01
02	TERCER MOLAR SUPERIOR	11 - 20	TMSA02
03	TERCER MOLAR SUPERIOR	11 - 20	TMSA03
04	TERCER MOLAR SUPERIOR	11 - 20	TMSA04
05	TERCER MOLAR SUPERIOR	11 - 20	TMSA05

06	TERCER MOLAR SUPERIOR	21 - 30	TMSB06
07	TERCER MOLAR SUPERIOR	21 - 30	TMSB07
08	TERCER MOLAR SUPERIOR	21 - 30	TMSB08
09	TERCER MOLAR SUPERIOR	21 - 30	TMSB09
10	TERCER MOLAR SUPERIOR	21 - 30	TMSB10
11	TERCER MOLAR SUPERIOR	21 - 30	TMSB11
12	TERCER MOLAR SUPERIOR	21 - 30	TMSB12
13	TERCER MOLAR SUPERIOR	21 - 30	TMSB13
14	TERCER MOLAR SUPERIOR	21 - 30	TMSB14
15	TERCER MOLAR SUPERIOR	21 - 30	TMSB15
16	TERCER MOLAR SUPERIOR	21 - 30	TMSB16
17	TERCER MOLAR SUPERIOR	21 - 30	TMSB17
18	TERCER MOLAR SUPERIOR	21 - 30	TMSB18
19	TERCER MOLAR SUPERIOR	21 - 30	TMSB19
20	TERCER MOLAR SUPERIOR	21 - 30	TMSB20
21	TERCER MOLAR SUPERIOR	21 - 30	TMSB21
22	TERCER MOLAR SUPERIOR	21 - 30	TMSB22
23	TERCER MOLAR SUPERIOR	21 - 30	TMSB23
24	TERCER MOLAR SUPERIOR	21 - 30	TMSB24
25	TERCER MOLAR SUPERIOR	21 - 30	TMSB25
26	TERCER MOLAR INFERIOR	11 - 20	TMIA26
27	TERCER MOLAR INFERIOR	11 - 20	TMIA27
28	TERCER MOLAR INFERIOR	21 - 30	TMIB28
29	TERCER MOLAR INFERIOR	21 - 30	TMIB29
30	TERCER MOLAR INFERIOR	21 - 30	TMIB30
31	TERCER MOLAR INFERIOR	21 - 30	TMIB31
32	TERCER MOLAR INFERIOR	21 - 30	TMIB32
33	TERCER MOLAR INFERIOR	21 - 30	TMIB33
34	TERCER MOLAR INFERIOR	21 - 30	TMIB34
35	TERCER MOLAR INFERIOR	21 - 30	TMIB35
36	TERCER MOLAR INFERIOR	21 - 30	TMIB36
37	SEGUNDO MOLAR INFERIOR	11 - 20	SMIA37
38	SEGUNDO MOLAR INFERIOR	11 - 20	SMIA38
39	PRIMER MOLAR SUPERIOR	21 - 30	PMSB39
40	PRIMER MOLAR INFERIOR	11 - 20	PMIA40
41	PRIMER MOLAR INFERIOR	11 - 20	PMIA41
42	PRIMER MOLAR INFERIOR	11 - 20	PMIA42
43	PRIMER MOLAR INFERIOR	11 - 20	PMIA43
44	PRIMER MOLAR INFERIOR	11 - 20	PMIA44
45	SEGUNDO PREMOLAR INFERIOR	11 - 20	SPIA45
46	SEGUNDO PREMOLAR INFERIOR	11 - 20	SPIA46
47	PRIMER PREMOLAR SUPERIOR	11 - 20	PPSA47
48	PRIMER PREMOLAR SUPERIOR	11 - 20	PPSA48
49	PRIMER PREMOLAR SUPERIOR	11 - 20	PPSA49
50	PRIMER PREMOLAR SUPERIOR	11 - 20	PPSA50
51	PRIMER PREMOLAR INFERIOR	11 - 20	PPIA51
52	PRIMER PREMOLAR INFERIOR	11 - 20	PPIA52
53	PRIMER PREMOLAR INFERIOR	21 - 30	PPIB53
54	PRIMER PREMOLAR INFERIOR	21 - 30	PPIB54

Cada diente fue montado en un cubo de acrílico transparente Marché con el fin de fijarlos en una prensa al momento del corte individual. Se utilizó instrumental de alta velocidad fijado a

un riel en posición vertical. Este instrumental rotatorio fue utilizado con una piedra de diamante cilíndrica extralarga de grano grueso, la cual fue renovada cada 5 dientes, evitando así el desgaste excesivo de la piedra.

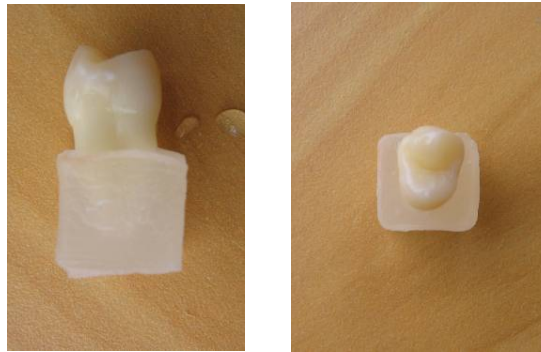


Fig 14: Dientes montados enacrílico previo al proceso de corte

En los molares se tomó como referencia los vértices de las cúspides, posicionando la piedra de diamante paralela a la vertiente interna del diente, obteniendo así tres secciones: vestibular, palatina/lingual y un corte interno de dentina en su parte inferior y esmalte en su parte superior. En los premolares, tanto superiores como inferiores, se estandarizó el corte de la misma forma, considerándose como referencia el vértice de la cúspide vestibular.

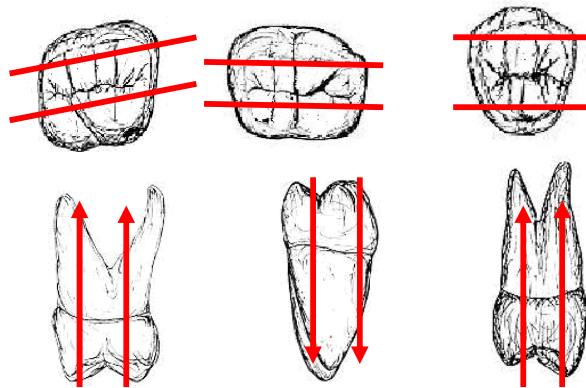


Fig. 15: Esquema del sistema de corte de los dientes recolectados

El corte central posteriormente fue dividido con alta velocidad en esmalte y dentina, obteniéndose de esta forma las muestras a medir, en algunos casos los esmaltes se fracturaron por el surco medio, originando dos muestras por diente.

Los grosores de la muestras fueron medidos con un micrómetro externo manual Uyustool Professional y registrados para su posterior análisis. (Tabla V)

**Tabla V: Grosos de las muestras por tipo de diente**

<b>MUESTRA</b>	<b>DIENTE</b>	<b>GROSOR DENTINA</b>	<b>GROSOR ESMALTE</b>
01	TERCER MOLAR SUPERIOR	1,64	1,72
02	TERCER MOLAR SUPERIOR	2,21	2,03
03	TERCER MOLAR SUPERIOR	2,06	1,68
04	TERCER MOLAR SUPERIOR	1,4	0,91
05	TERCER MOLAR SUPERIOR	2,03	1,71
06	TERCER MOLAR SUPERIOR	1,86	1,79
07	TERCER MOLAR SUPERIOR	1,64	1,83
08	TERCER MOLAR SUPERIOR	1,58	1,83
09	TERCER MOLAR SUPERIOR	1,72	1,8
10	TERCER MOLAR SUPERIOR	2,17	2,08
11	TERCER MOLAR SUPERIOR	2,95	2,34
12	TERCER MOLAR SUPERIOR	1,95	2,03
13	TERCER MOLAR SUPERIOR	2,38	1,66
14	TERCER MOLAR SUPERIOR	1,86	2,37
15	TERCER MOLAR SUPERIOR	1,96	1,68
16	TERCER MOLAR SUPERIOR	1,88	2,08
17	TERCER MOLAR SUPERIOR	1,84	1,69
18	TERCER MOLAR SUPERIOR	1,45	1,35
19	TERCER MOLAR SUPERIOR	1,51	1,43
20	TERCER MOLAR SUPERIOR	2,55	1,74
21	TERCER MOLAR SUPERIOR	2,19	1,78
22	TERCER MOLAR SUPERIOR	1,96	1,47
23	TERCER MOLAR SUPERIOR	2,52	1,68
24	TERCER MOLAR SUPERIOR	1,68	1,59
25	TERCER MOLAR SUPERIOR	2,94	1,94
26	TERCER MOLAR INFERIOR	1,87	1,22
27	TERCER MOLAR INFERIOR	1,97	2,25
28	TERCER MOLAR INFERIOR	2,41	1,76
29	TERCER MOLAR INFERIOR	1,46	2,12
30	TERCER MOLAR INFERIOR	1,77	1,24
31	TERCER MOLAR INFERIOR	1,78	1,63
32	TERCER MOLAR INFERIOR	1,31	1,46
33	TERCER MOLAR INFERIOR	0,97	1,33
34	TERCER MOLAR INFERIOR	1,35	1,61
35	TERCER MOLAR INFERIOR	1,72	1,4
36	TERCER MOLAR INFERIOR	1,93	1,96
37	SEGUNDO MOLAR INFERIOR	2,4	2,11
38	SEGUNDO MOLAR INFERIOR	2,37	2,22
39	PRIMER MOLAR SUPERIOR	4,05	1,63
40	PRIMER MOLAR INFERIOR	2,26	1,93
41	PRIMER MOLAR INFERIOR	2,09	2,23
42	PRIMER MOLAR INFERIOR	1,4	1,79
43	PRIMER MOLAR INFERIOR	2,75	2,1
44	PRIMER MOLAR INFERIOR	2,81	2,36
45	SEGUNDO PREMOLAR INFERIOR	1,24	1,04
46	SEGUNDO PREMOLAR INFERIOR	1,72	1,6
47	PRIMER PREMOLAR SUPERIOR	2,33	1,6
48	PRIMER PREMOLAR SUPERIOR	2,21	1,47

49	PRIMER PREMOLAR SUPERIOR	1,33	1,68
50	PRIMER PREMOLAR SUPERIOR	2,61	1,69
51	PRIMER PREMOLAR INFERIOR	1,07	1,13
52	PRIMER PREMOLAR INFERIOR	1,7	1,98
53	PRIMER PREMOLAR INFERIOR	1,76	1,47
54	PRIMER PREMOLAR INFERIOR	1,57	1,43

Los cortes se reservaron en recipientes plásticos, cerrados, rotulados y en agua destilada; en espera de su análisis espectrofluorimétrico.

Para medir el espectro de emisión de fluorescencia se utilizó el espectrofluorímetro ISS K2, Multifrequency Phase Fluorometer del año 2005 del departamento de Química y Ciencias Matemáticas de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, bajo la supervisión y colaboración del profesor Sr. Patricio Sotomayor.



**Fig. 16: Espectrofluorímetro ISS K2 del Departamento de Química y Ciencias Matemáticas de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso**

Este espectrofluorímetro trabaja con celdas de cuarzo especiales de 1 cm de ancho por 1 cm de largo y 3,5 cm de alto, diseñadas para recibir muestras en solución. Debido a que este estudio se realiza con sólidos, fue necesario confeccionar un soporte muestral. Para su realización se utilizó acrílico de autopolimerización Marché.

Finalmente toda la estructura fue pintada con spray de color negro opaco no fluorescente, para evitar que interfiriera en las mediciones. El dispositivo se probó en el espectrofluorímetro sin muestra para comprobar que no hubiese emisiones fluorescentes.

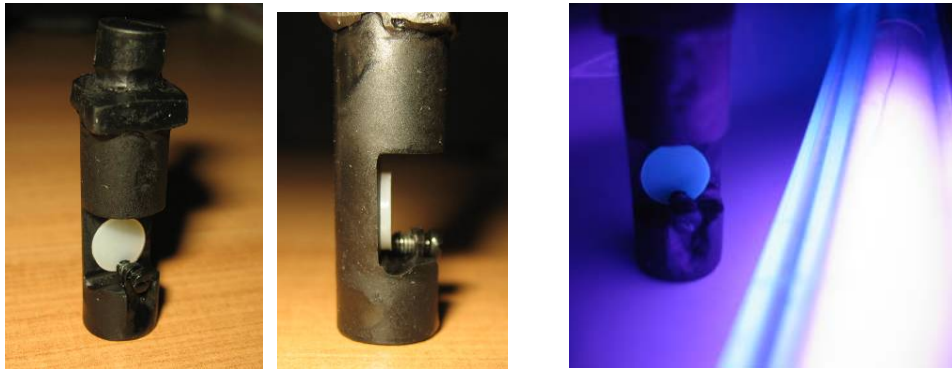


Fig. 17: A la derecha: soporte muestral con luz artificial. A la izquierda bajo luz fluorescente ultravioleta.

Con el soporte de muestra ya confeccionado se procedió a realizar las mediciones de los 54 cortes de dentina y 54 cortes de esmalte en el espectrofluorímetro, cuyo haz de excitación fue calibrado a una longitud de onda de 360 nm, registrándose los resultados entre 380 y 550 nm, esto es porque en este rango se observa el fenómeno fluorescente del tejido dentario, además de comenzar a los 380 nm el espectro visible. El amperaje utilizado fue de 12.5. Los resultados obtenidos fueron registrados por el software VINCI, expresando curvas de emisión para cada muestra que posteriormente fueron analizadas y graficadas con el programa Origin 7.0 y Stata 9.0.

Para evaluar las características de emisión de fluorescencia de esmalte y dentina se registraron curvas de emisión para todas las muestras, separadas en grupos de edad, y por tipo de diente; los datos obtenidos se focalizaron principalmente en el análisis de los peaks nanométricos, peaks de intensidad y análisis de áreas. Para obtener el comportamiento clínico de la curva se factorizaron los datos por la curva de sensibilidad del ojo humano y se evaluaron los mismos parámetros descritos anteriormente.

Una vez obtenidas las características de emisión de los tejidos, se procederá a comparar las áreas, con y sin factorizar con la curva de sensibilidad del ojo humano, con el fin de establecer relaciones entre dentina y esmalte.

## RESULTADOS

Los datos obtenidos por esta investigación fueron analizados por tipo de diente y rango etéreo, detallándose a continuación la frecuencia y porcentaje de cada una de ellos.

**Tabla VI:** Tipo de diente v/s frecuencia y porcentaje.

Tipo diente	Frecuencia	Porcentaje
TMS	25	46.30
TMI	11	20.37
SMI	2	3.70
PMS	1	1.85
PMI	5	9.26
SPI	2	3.70
PPS	4	7.41
PPI	4	7.41
<b>Total</b>	<b>54</b>	<b>100.00</b>

**Tabla VII:** Rango etéreo v/s frecuencia y porcentaje.

Rango Etéreo	Frecuencia	Porcentaje
11 – 20	22	40.75
21 – 30	32	59.25
<b>Total</b>	<b>54</b>	<b>100.00</b>

Los datos entregados por el programa Vinci Analysis son graficados en curvas de emisión de fluorescencia cuyo eje X corresponde a la longitud de onda en nanómetros; en tanto el eje Y corresponde a la intensidad medida en quantum de fotones. Estos datos fueron ingresados al programa Origin 7.0 (gráfico 1) obteniendo para los 54 dientes, 108 curvas para los valores de dentina y esmalte sin factorizar por la curva de sensibilidad del ojo humano, y 108 curvas para aquellas mediciones que fueron factorizadas.

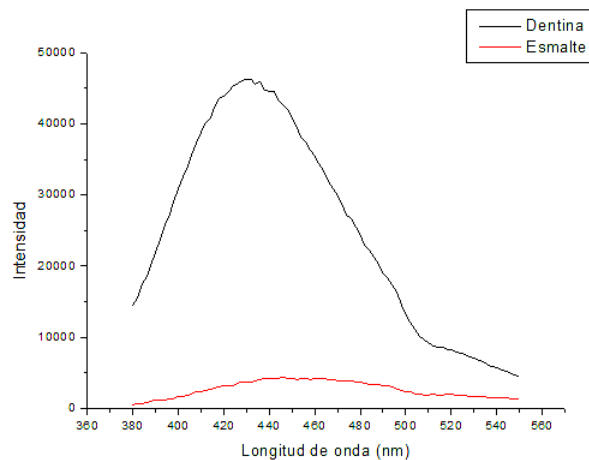


Gráfico 1: Curva de emisión de fluorescencia de esmalte y dentina, obtenida del programa Origin 7.0.

Posteriormente los datos fueron integrados en el programa Origin 7.0, obteniéndose cuatro medidas: *área bajo la curva*, *peak de longitud de onda*, *ancho* y *altura*, estos dos últimos no se analizaron por carecer de relevancia en el estudio. Luego los datos fueron traspasados al programa Excel 2003, donde se procedió a calcular la proporción entre las áreas bajo la curva de dentina y esmalte de cada muestra. Esta *proporción área D/E* se utilizará para obtener una relación de la emisión de fluorescencia de ambos tejidos por cada diente y en consecuencia obtener una proporción general al promediar los resultados.

**Tabla VIII:** Datos obtenidos de cada muestra, factorizados por la curva de sensibilidad del ojo humano.

Diente	Área D	Peak D	Grosor D	Área E	Peak E	Grosor E	Proporción áreas D/E
TMSA01	1,60E+06	460	1,64	502039,0419	468	1,72	3,17
TMSA02	812192,554	462	2,21	85758,0806	476	2,03	9,47
TMSA03	5,33E+06	460	2,06	3,14E+06	466	1,68	1,69
TMSA04	2,15E+06	460	1,4	191890,4749	476	0,91	11,20
TMSA05	744837,909	460	2,03	439728,2523	468	1,71	1,69
TMSB06	488406,581	466	1,86	234055,3962	468	1,79	2,08
TMSB07	3,71E+06	460	1,64	1,15E+06	462	1,83	3,22
TMSB08	1,70E+06	460	1,58	529058,5922	466	1,83	3,21
TMSB09	1,48E+06	460	1,72	354773,3547	462	1,8	4,16
TMSB10	4,93E+05	462	2,17	274385,3802	470	2,08	1,79
TMSB11	1,48E+06	460	2,95	694297,1348	470	2,34	2,12
TMSB12	3,77E+06	460	1,95	274004,1078	476	2,03	13,76
TMSB13	2,31E+06	460	2,38	345347,1524	478	1,66	6,69
TMSB14	2,04E+06	460	1,86	274004,1078	476	2,37	7,45
TMSB15	3,91E+06	460	1,96	502039,0419	468	1,68	7,78
TMSB16	2,32E+06	460	1,88	845398,3499	470	2,08	2,74
TMSB17	2,13E+06	460	1,84	433500,9215	472	1,69	4,90
TMSB18	620890,939	460	1,45	264597,7428	476	1,35	2,34
TMSB19	582799,063	464	1,51	75636,7244	472	1,43	7,70
TMSB20	891589,326	460	2,55	398644,5435	464	1,74	2,23
TMSB21	2,10E+06	462	2,19	767916,0322	472	1,78	2,74
TMSB22	488405,939	460	1,96	113501,4864	462	1,47	4,30
TMSB23	1,03E+06	462	2,52	235.140	474	1,68	4,37
TMSB24	5,11E+06	460	1,68	1,59E+06	466	1,59	3,22
TMSB25	2,14E+06	460	2,94	793331,074	474	1,94	2,69
TMIA26	2,52E+06	460	1,87	213196,8799	464	1,22	11,83
TMIA27	2,68E+06	462	1,97	746887,8212	464	2,25	3,59
TMIB28	1,26E+06	460	2,41	990444,865	466	1,76	1,27
TMIB29	3,53E+06	460	1,46	1,54E+06	462	2,12	2,29
TMIB30	988794,468	462	1,77	493786,1054	464	1,24	2,00
TMIB31	3,25E+06	460	1,78	2,51E+06	460	1,63	1,29
TMIB32	5,37E+06	460	1,31	438653,4715	468	1,46	12,23
TMIB33	2,92E+06	460	0,97	2,00E+06	464	1,33	1,46
TMIB34	2,32E+06	460	1,35	300060,6575	470	1,61	7,73
TMIB35	740562,437	454	1,72	135558,4749	466	1,4	5,46

Seminario de Tesis 2006: "Evaluación de la Fluorescencia en la Dentición Humana"

TMIB36	4,19E+06	460	1,93	1,58E+06	466	1,96	2,65
SMIA37	2,48E+06	460	2,4	684465,626	460	2,11	3,62
SMIA38	1,81E+06	462	2,37	327328,3054	464	2,22	5,53
PMSB39	819173,189	460	4,05	402262,4024	464	1,63	2,03
PMIA40	654461,347	468	2,26	498837,3611	464	1,93	1,31
PMIA41	923.012,72	460	2,09	301358,994	472	2,23	3,06
PMIA42	1,04E+06	462	1,4	468047,8519	468	1,79	2,21
PMIA43	672985,742	460	2,75	349274,1022	466	2,1	1,92
PMIA44	389980,865	462	2,81	207839,3343	462	2,36	1,87
SPIA45	814862,403	460	1,24	289765,3006	470	1,04	2,81
SPIA46	1,18E+06	462	1,72	297125,1082	464	1,6	3,97
PPSA47	744022,697	462	2,33	401259,2091	462	1,6	1,85
PPSA48	2,48E+06	462	2,21	842034,4604	470	1,47	2,94
PPSA49	691039,877	464	1,33	391802,6653	460	1,68	1,76
PPSA50	1,20E+06	464	2,61	106455,9584	476	1,69	11,26
PPIA51	1,57E+06	460	1,07	118746,9498	470	1,13	13,23
PPIA52	1,75E+06	460	1,7	730293,4416	466	1,98	2,40
PPIB53	1,09E+06	462	1,76	260661,2632	460	1,47	4,18
PPIB54	1,70E+06	458	1,57	246537,5648	468	1,43	6,90

**Tabla IX: Datos obtenidos de cada muestra, sin factorizar por la curva de sensibilidad del ojo humano.**

Diente	Area D	Peak D	Grosor D	Area E	Peak E	Grosor E	Proporción D/E
TMSA01	3,73E+06	426	1,64	957911,733	446	1,72	3,89
TMSA02	1,69E+06	428	2,21	149555,5	450	2,03	11,32
TMSA03	1,19E+07	424	2,06	5,67E+06	440	1,68	2,09
TMSA04	5,16E+06	424	1,4	310969,133	452	0,91	16,58
TMSA05	1,58E+06	430	2,03	862829,233	436	1,71	1,82
TMSB06	889359,067	438	1,86	406259,3	448	1,79	2,18
TMSB07	8,36E+06	426	1,64	2,28E+06	434	1,83	3,66
TMSB08	3,94E+06	424	1,58	932994,367	444	1,83	4,22
TMSB09	3,36E+06	424	1,72	626931,833	450	1,8	5,35
TMSB10	926009,667	438	2,17	466920,9	448	2,08	1,98
TMSB11	3,22E+06	428	2,95	1,24E+06	442	2,34	2,58
TMSB12	7,79E+06	430	1,95	448923,1	446	2,03	17,34
TMSB13	4,82E+06	430	2,38	564785,6	460	1,66	8,52
TMSB14	4,29E+06	432	1,86	448923,1	446	2,37	9,56
TMSB15	7,34E+06	438	1,96	3,76E+06	442	1,68	1,95
TMSB16	5,27E+06	424	1,88	1,45E+06	446	2,08	3,63
TMSB17	4,02E+06	434	1,84	709386,633	454	1,69	5,67
TMSB18	1,18E+06	434	1,45	421905	446	1,35	2,79
TMSB19	1,18E+06	430	1,51	131341,733	446	1,43	8,98
TMSB20	1,86E+06	432	2,55	676164,267	444	1,74	2,75
TMSB21	3,97E+06	438	2,19	1,27E+06	454	1,78	3,13
TMSB22	958043,567	440	1,96	225039	444	1,47	4,25
TMSB23	2,03E+06	434	2,52	378367,467	452	1,68	5,36

TMSB24	1,07E+07	432	1,68	2,83E+06	444	1,59	3,76
TMSB25	4,34E+06	432	2,94	1,28E+06	452	1,94	3,39
TMIA26	5,65E+06	428	1,87	401429,233	436	1,22	14,08
TMIA27	5,97E+06	432	1,97	1,39E+06	440	2,25	4,30
TMIB28	2,62E+06	434	2,41	1,76E+06	448	1,76	1,49
TMIB29	7,85E+06	428	1,46	2,98E+06	440	2,12	2,63
TMIB30	1,99E+06	430	1,77	901401,7	440	1,24	2,21
TMIB31	8,28E+06	412	1,78	4,65E+06	442	1,63	1,78
TMIB32	1,17E+07	430	1,31	786826,767	440	1,46	14,82
TMIB33	7,39E+06	418	0,97	3,68E+06	444	1,33	2,00
TMIB34	4,91E+06	432	1,35	487421,033	448	1,61	10,06
TMIB35	2,02E+06	440	1,72	248970,167	450	1,4	8,12
TMIB36	8,91E+06	430	1,93	2,79E+06	444	1,96	3,19
SMIA37	5,69E+06	428	2,4	1,22E+06	442	2,11	4,66
SMIA38	3,64E+06	434	2,37	550562,7	448	2,22	6,61
PMSB39	906877,467	434	4,05	725189,8	450	1,63	1,25
PMIA40	1,14E+06	432	2,26	949555,833	444	1,93	1,19
PMIA41	1,84E+06	434	2,09	564892,4	444	2,23	3,26
PMIA42	1,99E+06	436	1,4	824896,267	448	1,79	2,40
PMIA43	1,40E+06	432	2,75	643270,5	444	2,1	2,17
PMIA44	874962,533	420	2,81	385756,067	444	2,36	2,26
SPIA45	1,75E+06	426	1,24	512091,7	444	1,04	3,42
SPIA46	2,34E+06	436	1,72	557958,5	442	1,6	4,19
PPSA47	1,60E+06	428	2,33	726847,233	442	1,6	2,20
PPSA48	5,58E+06	430	2,21	1,56E+06	444	1,47	3,58
PPSA49	1,55E+06	428	1,33	797445,033	442	1,68	1,93
PPSA50	2,22E+06	436	2,61	180182,2	448	1,69	12,30
PPIA51	4,24E+06	408	1,07	231656,5	440	1,13	18,30
PPIA52	4,26E+06	422	1,7	1,32E+06	438	1,98	3,23
PPIB53	2,61E+06	418	1,76	504992	442	1,47	5,15
PPIB54	4,14E+06	426	1,57	463985	444	1,43	8,93

## 1.- Evaluar la fluorescencia de esmalte.

### 1.1 Peak de longitud de onda.

Se analizarán los peaks de longitud de onda, en forma general, y en forma específica: por tipo de diente y por rango etéreo.

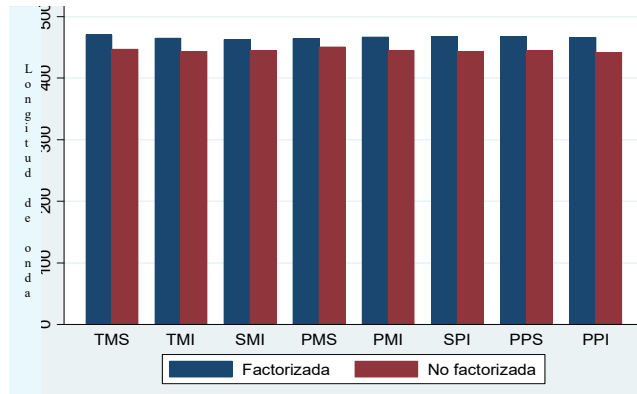
**Tabla X:** Análisis de peak de longitud de onda en esmalte factorizado y sin factorizar.

Peak (nm)	n	Promedio	Desviación Standard	Mínimo	Máximo	Intervalo de Confianza 95%	
Esmalte c/f	54	467.62	4.93	460	478	466.28	468.97
Esmalte s/f	54	444.96	4.89	434	460	443.62	446.29

\* s/f: datos sin factorizar; c/f: datos factorizados

De esta tabla se concluye que el peak de longitud de onda de esmalte factorizado obtenido en esta investigación, fue de 468 nm, con una D.S. de 4.93. En el caso de esmalte sin factorizar, el peak obtenido fue de 445 nm, con una D.S. de 4.89.

**Gráfico 2:** Análisis de peak de longitud de onda por tipo de diente en esmalte, tanto factorizado como sin factorizar.



En este gráfico se observa la tendencia existente entre los distintos tipos de dientes, en mantener el peak de longitud de onda dentro del promedio establecido para este tejido.

**Tabla XII:** Análisis de peak de longitud de onda por rango etéreo en esmalte, tanto factorizado como sin factorizar.

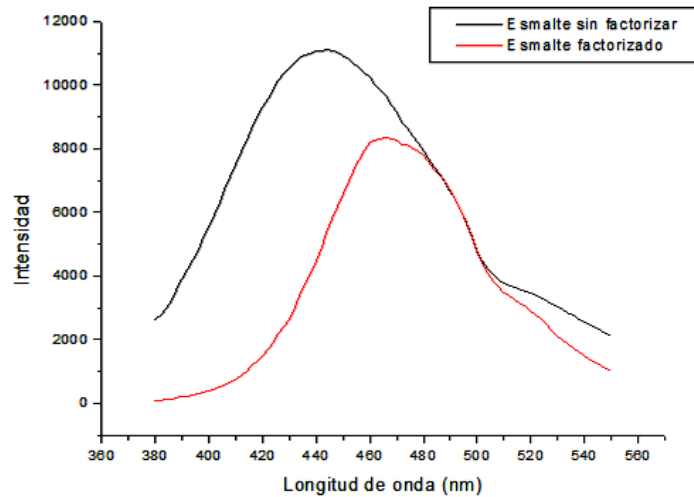
Rango etéreo	n	Promedio Esmalte c/f	Promedio Esmalte s/f
11-20 años	22	467.35	443.1
21-30 años	32	465.35	445.18

\* s/f: datos sin factorizar; c/f: datos factorizados

### 1.2 Curva Promedio de esmalte factorizado y sin factorizar.

Con los datos obtenidos se confeccionó una **curva promedio** para esmalte, factorizado y sin factorizar por los datos de la curva de sensibilidad del ojo humano; esto es, el promedio de cada una de las intensidades obtenidas versus cada uno de los nanómetros de longitud de onda. (Gráfico 3)

**Gráfico 3:** Curva promedio de los valores de longitud de onda v/s intensidad de esmalte con y sin factorizar por la curva de sensibilidad del ojo humano.



## 2.- Evaluar las características fluorescentes de la dentina

### 2.1 Peak de longitud de onda.

Se analizarán los peaks de longitud de onda, en forma general, por tipo de diente y por rango etáreo.

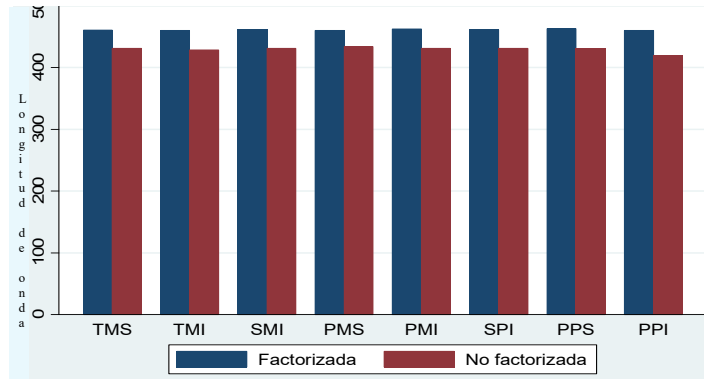
**Tabla XII:** Análisis de peak de longitud de onda, tanto en Dentina factorizada como sin factorizar por la curva de sensibilidad del ojo humano.

Peak (nm)	N	Promedio	Desviación Standard	Mínimo	Máximo	Intervalo de Confianza 95%	
Dentina c/f*	54	460.81	1.96	454	468	460.27	461.35
Dentina s/f*	54	429.48	6.47	408	440	427.71	431.25

\* s/f: datos sin factorizar; c/f: datos factorizados

De esta tabla se concluye que el peak de longitud de onda de dentina factorizada, obtenido en esta investigación, fue de 461 nm, con una D.S. de 1.96. En el caso de dentina sin factorizar, el peak obtenido fue de 429 nm, con una D.S. de 6.47.

**Gráfico 4:** Análisis de peak de longitud de onda en Dentina con y sin factorizar por la curva de sensibilidad del ojo humano, por tipo de diente.



**Tabla XIII:** Análisis de peak de longitud de onda en Dentina sin factorizar y factorizada por la curva de sensibilidad del ojo humano, por rango etáreo.

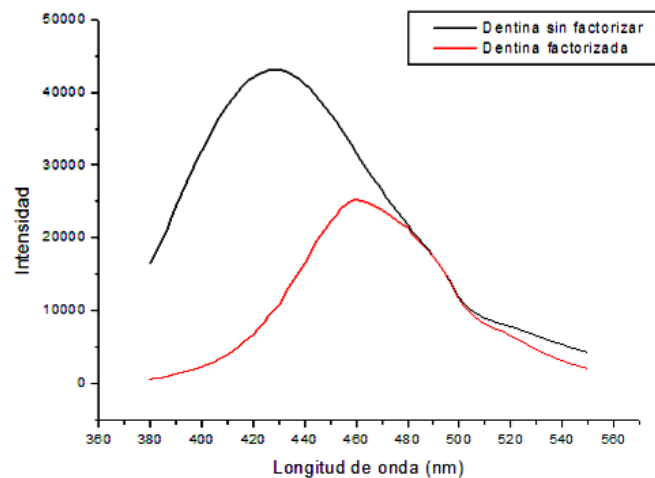
Rango etáreo	n	Promedio Dentina c/f	Promedio Dentina s/f
11-20 años	22	461.34	427.625
21-30 años	32	459.98	427.723

\* s/f: datos sin factorizar; c/f: datos factorizar

## 2.2 Curva Promedio de Dentina factorizada y sin factorizar.

Con los datos obtenidos se confeccionó una **curva promedio** para dentina factorizada y sin factorizar; esto es, el promedio de cada una de las intensidades obtenidas versus cada uno de los nanómetros de longitud de onda

**Gráfico 5:** Curva promedio de los valores de longitud de onda v/s intensidad de dentina con y sin Factorizar por la curva de sensibilidad del ojo humano.



**3.- Comparar la emisión de fluorescencia de esmalte y dentina, tanto factorizadas como sin factorizar por la curva de sensibilidad del ojo humano.**

**3.1 Comparar los promedios de peak de longitud de onda de dentina y esmalte, tanto factorizados como sin factorizar por la curva de sensibilidad del ojo humano.**

**Tabla XIV:** Comparación del peak de longitud de onda en esmalte y dentina, factorizados y sin factorizar por la curva de sensibilidad del ojo humano

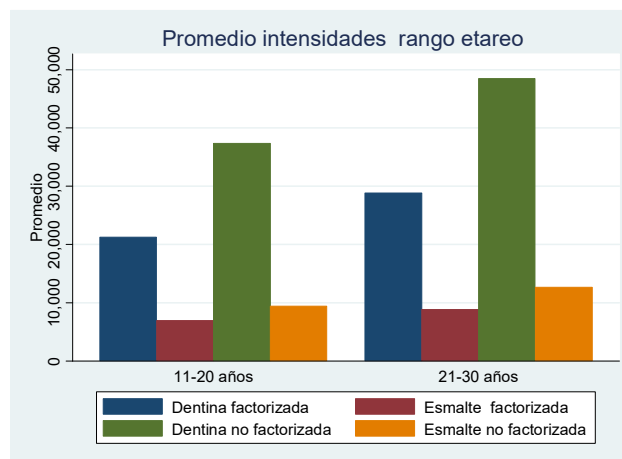
Peak (nm)		Promedio	Desviación Standard	Mínimo	Máximo	Intervalo de Confianza 95%	
Dentina c/f*	54	460.8148	1.962614	454	468	460.2791	461.3505
Esmalte c/f	54	467.6296	4.930828	460	478	466.2838	468.9755
Dentina s/f*	54	429.4815	6.479986	408	440	427.7128	431.2502
Esmalte s/f	54	444.963	4.894984	434	460	443.6269	446.299

\* s/f: datos sin factorizar; c/f: datos factorizados

Se aplicó el Test *t* de Student pareado obteniendo que los valores de *t* para los datos factorizados y sin factorizar fue de -9.33 y -17.21, respectivamente; con sus respectivos valores de  $-p = 0.00$  y  $0.00$ ; por lo que se concluye que los datos son altamente significativos, es decir, las medias son estadísticamente diferentes.

**3.2 Comparación del peak de intensidad por rango etáreo, obtenido tanto en esmalte y dentina factorizados y sin factorizar.**

**Gráfico 6:** Comparación del peak de intensidad obtenidos tanto en esmalte y dentina, factorizados y sin factorizar, por rango etáreo.



Podemos observar que existe la tendencia de aumento en la intensidad de fluorescencia con la edad, tanto para esmalte como para dentina.

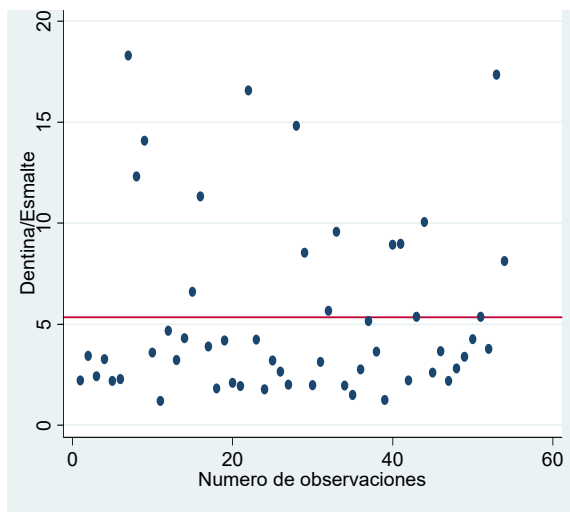
3.3 Comparación del peak de intensidad por grosor de muestra, obtenido tanto en esmalte y dentina factorizados y sin factorizar.

En cuanto a la variable **grosor de muestra**, se analizó la correlación que pudiera existir entre esta variable y la intensidad. Con este propósito se aplicó el test de coeficiente de correlación de Pearson; en el cual los valores de esmalte dan resultados positivos bajos (Pearson = 0.0526 y 0.0666), y el test de coeficiente de correlación de Spearman para dentina, donde los valores son negativos y cercanos al cero (Spearman = -0.2790; y -0.2024).

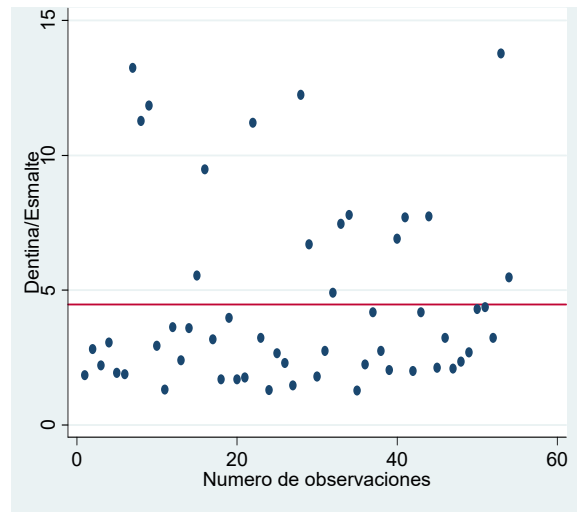
4.- **Comparar las áreas bajo la curva de esmalte y dentina, y determinar si existe una proporcionalidad entre ellas.**

Para cumplir el objetivo se estableció la proporción dentina/esmalte de cada una de las muestras con el fin de obtener una proporción promedio.

**Gráfico 7:** Proporción área dentina/esmalte factorizada.



**Gráfico 8:** Proporción área dentina/esmalte sin factorizar.



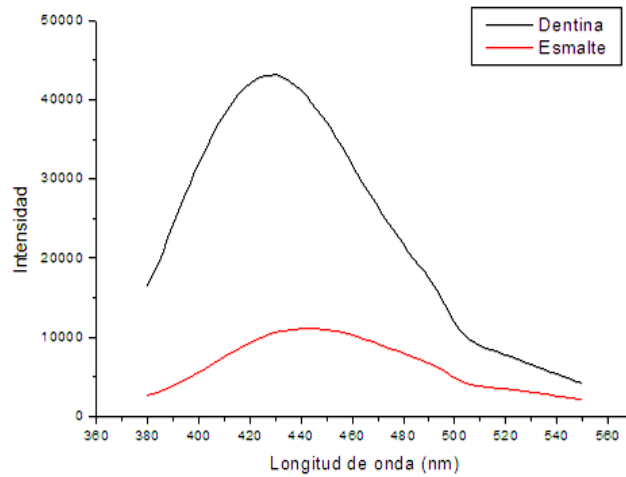
Se puede observar que existe una tendencia en la proporción de áreas, las cuales se encuentran bajo el promedio (entre los valores 1 y 5); en este rango los valores se mantienen casi constantes salvo en algunas observaciones atípicas. Este comportamiento se puede observar tanto para los datos factorizados como para los no factorizados.

**Tabla XV:** Proporción área dentina/esmalte obtenida del promedio de las 54 muestras, factorizadas y sin factorizar.

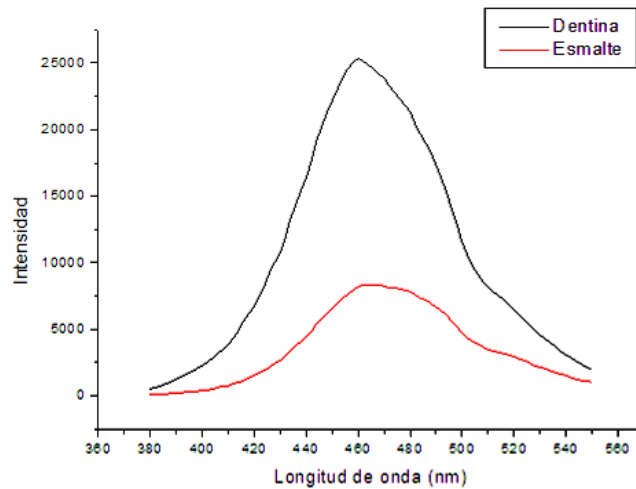
Datos	n	Proporción Promedio
Factorizados	54	4.47
Sin factorizados	54	5.34

Con esto se puede inferir que la emisión de fluorescencia de dentina es 5,34 veces mayor que la del esmalte en los datos sin factorizar; y 4,47 de veces mayor en el caso de los datos factorizados. Esto se observa más claramente en el gráfico 9 y 10 respectivamente.

**Gráfico 9:** Curva promedio de los valores de Esmalte y Dentina sin factorizar versus intensidad.



**Gráfico 10:** Curva promedio de los valores de Esmalte y Dentina factorizados por el ojo el humano versus intensidad.



## DISCUSION

Dada la falta de información existente, y como una forma de aportar al desarrollo de materiales actuales, este estudio se enfocó en la evaluación de la emisión de fluorescencia de los tejidos dentarios, esmalte y dentina, al ser expuestos a luz UV artificial.

En nuestra investigación decidimos trabajar con dos tipos de mediciones, aquellos valores registrados por el espectrofluorímetro, y aquellos obtenidos de la factorización de los datos por la curva de sensibilidad del ojo humano, específicamente la curva de visión escotópica, debido a que las condiciones de luz en las cuales se realizaron las mediciones, es similar al ambiente en el cual usaríamos este tipo de visión con predominio de los bastones. Esto fue realizado porque se deseaba lograr resultados que tuvieran aplicación clínica, ya que el espectrofluorímetro responde con igual sensibilidad a todas las longitudes de onda abarcando el fenómeno por completo, a diferencia del ojo humano que posee sensibilidad específica, determinada por las longitudes de onda de emisión y la iluminación del entorno.

El valor obtenido para el promedio de los peaks de longitud de onda emitidas por la dentina sin factorizar por la curva de sensibilidad del ojo humano fue de 429 nm, con una D.S. de 6.47, correspondiendo al color violeta. Estos resultados se asemejan a lo propuesto por Alfano y Yao, quienes en 1981 establecieron que el peak de emisión dentinaria se encontraba a los 427 nm al excitar con luz ultravioleta a los 350 nm. Posteriormente Monsénégo et al, en 1993 estableció que este peak de emisión se encontraba a los 430 nm. Matsumoto et al en 1999, y Lee et al el 2005, establecieron que la dentina excitada a 365 nm emite un peak fluorescente de 440 nm  $\pm$  10 nm. Buchalla et al en el 2004, encontraron que muestras de dentina exhibían un peak de emisión cercano a la longitud de onda de excitación; ubicándose el peak a 60 y 70 nm más que la longitud de onda usada para excitar, lo cual estaría en relación con nuestros resultados, dado que al excitar a los 360 nm, el peak se obtuvo aproximadamente a 70 nm más de la longitud de onda de excitación.

Los estudios indican que la fluorescencia de la dentina humana reside en múltiples fluoróforos que cubren un amplio rango de excitación y emisión (Buchalla et al, 2004). El objeto de nuestro estudio fue caracterizar la emisión de fluorescencia de la dentición humana, y no determinar el fluoróforo causante de dicha emisión. Sin embargo, nos parece interesante resaltar lo que aparece en la literatura acerca del tema. Matsumoto et al, en 1999, argumentaron que el problema de la identificación del elemento fluorescente radica en que si un fluoróforo presenta varios componentes y cada componente tiene el mismo espectro fluorescente, hay que distinguirlos por fluorimetría resuelta en el tiempo. Investigaciones realizadas con esta técnica sugieren que la emisión de fluorescencia observada es una mezcla de al menos 3 sustancias fluorescentes.

Se han propuesto posibles fluoróforos de la dentina, entre ellos algunos minerales, tales como el flúor, calcio, magnesio, manganeso, fosfato, etc; enlaces cruzados de colágeno y un complejo de hidroxapatita-piridinolina (Matsumoto et al, 1999).

El promedio de los peaks de longitud de onda emitidas por esmalte sin factorizar por la curva de sensibilidad del ojo humano, encontrado en nuestro estudio fue de 445 nm con una D.S. de 4.89, correspondiendo a un color azulado; esto se condice con lo hallado por autores, como Monsénigo et al (1990 y 1993) donde describe que el espectro fluorescente del esmalte natural presenta un máximo de 450 nm. Hafstrom-Bjorkman et al, (1991) determinaron que una solución de esmalte dializado y ultrafiltrado, presentó un peak de emisión a los 450 nm.

Sin embargo, la controversia reside en la composición de los fluoróforos responsables. En el mismo estudio, realizado con láser fluorescente y enfocado sólo en esmalte, encontraron que una solución de hidroxiapatita sintética tiene un peak fluorescente a los 460 nm cuando es excitada con 375 nm, concluyendo que este cromóforo inorgánico fue responsable de la mayor parte de este peak y que la otra parte debe ser consecuencia de la fluorescencia de moléculas orgánicas. Sin embargo, la separación de las pequeñas moléculas inorgánicas y las grandes moléculas orgánicas disueltas en el esmalte dental es complicado, siendo difícil purificar las sustancias orgánicas por su baja concentración en esmalte.

Los promedios de peak de longitud de onda, tanto de esmalte como de dentina, fueron estadísticamente diferentes en ambas mediciones, por lo que se concluye que ambos tejidos poseen su propia emisión de fluorescencia, pudiendo caracterizarse por sí mismos. La relevancia de este hallazgo recae en que los estudios realizados en este tema analizan sólo esmalte o sólo dentina, no existiendo una comparación real entre ellos.

En cuanto a los promedios de peaks de longitud de onda, por tipo de diente, encontramos una tendencia a la similitud entre ellos; lo que se relaciona con lo expuesto por Kvaal y Solheim en 1989; Matsumoto et al en 1999 y Buchalla et al en el 2004, donde establecen que el tipo de diente no es considerado significativo estadísticamente, al comparar las muestras.

Para el promedio de los peaks de longitud de onda emitidas por esmalte factorizado por la curva de sensibilidad del ojo humano, se encontró que era de 468 nm, con una D.S. de 4.93. El valor obtenido para el promedio de los peaks de longitud de onda emitidas por la dentina factorizada en nuestra investigación, fue de 461 nm, con una D.S. de 1.96.

Es preciso destacar que al momento de factorizar por la curva de sensibilidad del ojo humano, se desplaza el peak de longitud de onda hacia la derecha, aumentando el registro de los nanómetros, y se produce una disminución en el valor de intensidad de emisión de fluorescencia, dando una curva de menor área, tanto en esmalte como en dentina.

Los resultados obtenidos posteriores a la factorización por la curva de sensibilidad del ojo humano, permiten otorgar parámetros objetivos a los fabricantes con los cuales puedan desarrollar materiales restauradores estéticos buscando la similitud de sus productos con el tejido dentario. La mayoría de los materiales disponibles en la actualidad no cumplen con esta característica, lo que fue demostrado en el estudio realizado por Poblete y Rubio en el año 2003, donde se comparó la emisión de fluorescencia de las resinas compuestas disponibles en el mercado nacional con la emisión de los tejidos dentarios, arrojando resultados contradictorios a lo publicitado por las empresas.

Respecto a la variable rango etáreo, a pesar de ser acotado a las muestras en estudio; esto es, de 11 a 20 años, y de 21 a 30 años; encontramos que existe una relación directamente proporcional entre esta variable y la intensidad de emisión de fluorescencia; este aumento en la intensidad es similar a lo que concluyera Kvaal y Sölheim en 1989, y Matsumoto et al en 1999; éste último sugiere que el aumento de la intensidad de fluorescencia en la dentina es resultado del proceso fisiológico del envejecimiento; pudiendo atribuírsele a la deposición gradual de dentina secundaria y terciaria, que presenta mayor mineralización. Este aumento en la intensidad es más notorio en la dentina, que en el esmalte.. Hay que considerar además que si bien se produce aumento de la intensidad, la longitud de onda entre dientes de un mismo individuo o entre dientes de la misma edad, se mantienen (Kvaal y Sölheim, 1989).

Otro aspecto a considerar es el grosor de la muestra; parece lógico pensar que si aumenta el grosor de la muestra aumenta la emisión de fluorescencia, dado que a mayor cantidad de tejido dentario, mayor cantidad de fluróforos y con ello mayor emisión. Un estudio realizado por Lee et al en el año 2005, propone que el grosor podría influir en la fluorescencia, pero no da resultados concretos que avalen esta afirmación. Es por eso que en este estudio se decidió no darle un valor estándar a las muestras, con el objeto de establecer la existencia de una relación entre esta variable y la emisión de fluorescencia. Tras los valores obtenidos del análisis estadístico no se encontró una correlación clara entre ambas variables, dado que no se pudo establecer una tendencia lineal, ya se directa o inversamente proporcional entre el grosor y las características de emisión, dado que los valores obtenidos en los tests de significancia fueron cercanos al cero y por eso no pueden extrapolarse. Este hallazgo no puede ser contrastado con la literatura, dado que la evidencia sobre este tema es poco concluyente.

Con la finalidad de encontrar una relación objetiva entre esmalte y dentina y demostrar que este tejido emite mayor fluorescencia, se analizaron las áreas bajo la curva de cada muestra. Con este propósito se comparó la proporción existente entre dentina y esmalte de cada diente, obteniendo posteriormente un valor de asociación que resumiera la proporción general de las muestras en estudio. Este valor se estableció al promediar la relación entre las áreas, siendo equivalente a 4.5 y 5.3 en los datos con y sin factorizar por la curva de sensibilidad del ojo humano, respectivamente. Una relación similar fue descrita por Monsénego et al en 1990 y 1993, y Lee et al el 2005, quienes concuerdan en que la dentina presenta una intensidad 3 veces mayor que la del esmalte, al igual que Matsumoto et al en 1999, quien llega a la misma conclusión, pero sin establecer valores concretos de esta relación. En nuestra investigación utilizamos esta proporción entre áreas, porque consideramos que es el parámetro más representativo, dado que se abarcó el espectro de emisión completo y no sólo los valores más altos de las curvas.

Con los resultados obtenidos de cada muestra se graficó una curva promedio tanto para dentina como para esmalte, factorizados y sin factorizar por la curva de sensibilidad del ojo humano, y la relación entre ambos tejidos. Fueron confeccionadas tomando cada una de las intensidades obtenidas versus cada uno de los nanómetros de longitud de onda. Esto es importante de considerar, dado que no sólo se obtiene la longitud de onda y su respectivo color de luz, sino que también se relaciona con la intensidad de emisión. Así, se dispondrá de estos dos datos relacionados entre sí, obteniéndose un patrón al cual se podrán asemejar los nuevos biomateriales estéticos que se vayan desarrollando, tanto para la fabricación de resinas compuestas de esmalte como de dentina por separado.

## CONCLUSIÓN

Finalizado este estudio acerca de la evaluación de la fluorescencia en la dentición humana, podemos concluir que:

1. El esmalte dental posee una emisión de fluorescencia cuyo peak de longitud de onda se encuentra en los 445 nm promedio, en los datos sin factorizar por la curva de la sensibilidad del ojo humano, correspondiendo al color azul; y 468 nm en los datos factorizados, siendo de un color azul más cercano al verde, y de menor intensidad que la curva sin factorizar.
2. En cuanto a la dentina, ésta posee una emisión de fluorescencia con un peak de longitud de onda promedio de 429 nm en los datos sin factorizar por la curva de la sensibilidad del ojo humano, correspondiendo al color violeta intenso; y de 461 nm en los datos factorizados, siendo de un color azul y de menor intensidad que la curva sin factorizar.
3. Al comparar la emisión de fluorescencia que presentan dentina y esmalte, factorizados y sin factorizar por la curva de la sensibilidad del ojo humano, se puede establecer que existen diferencias altamente significativas, tanto al considerar el peak de longitud de onda, como la intensidad, siendo la del esmalte una longitud de onda mayor y de intensidad menor en comparación con la dentina. Además al enfrentar la intensidad de emisión de fluorescencia con la edad y grosor de muestra, podemos concluir, en cuanto a la edad, que existe una tendencia a la relación directamente proporcional entre las variables de ambos tejidos, pero con un aumento más marcado en la dentina, manteniéndose la longitud de onda. Esto no ocurre con el grosor, dado que no se demostró una relación significativa entre las variables, es decir, no se pudo establecer una tendencia lineal entre el grosor y las características de emisión.
4. Al relacionar las áreas bajo la curva de esmalte y dentina, podemos decir que el área de la dentina es 5,3 y 4,7 veces mayor que la del esmalte sin factorizar y factorizado respectivamente, por la curva de la sensibilidad del ojo humano. Existiendo una tendencia a esta proporcionalidad entre las áreas de las muestras.

Por todo lo anteriormente expuesto, se acepta la hipótesis propuesta, demostrándose que el esmalte al ser excitado con luz ultravioleta posee una emisión de fluorescencia menor a la presentada por la dentina en las mismas condiciones.

## RESUMEN

Se realizó un estudio experimental, de comparación e in Vitro para evaluar la emisión de fluorescencia en la dentición humana. Para ello se recolectaron aleatoriamente 54 dientes, en las ciudades de Viña del Mar y Valparaíso, los cuales fueron despulpados y seccionados en su parte coronal, para así obtener por separado cortes de esmalte y dentina. Éstos fueron medidos en el espectrofluorímetro ISS K2 Multifrequency Phase, obteniéndose curvas de longitud de onda versus intensidad de emisión de fluorescencia, las cuales fueron analizadas individualmente y en conjunto. Para evaluar el comportamiento clínico de estas curvas se factorizaron los resultados por la curva de sensibilidad del ojo humano. Finalmente se concluyó que el esmalte posee un peak de longitud de onda, con y sin factorizar respectivamente, de 445 nm (color azul) y 468 nm (color azul más cercano al verde); y la dentina un peak de longitud de onda de 429 nm (violeta) y 461 nm (azul). Además se encontró una tendencia a la proporcionalidad de las áreas bajo la curva entre ambos tejidos, siendo el área de la dentina, en promedio, 5.3 y 4.7 veces mayor que la del esmalte con y sin factorizar respectivamente. En lo que se refiere a la intensidad de emisión de fluorescencia existe la tendencia al aumento con la edad, no así con el grosor de la muestra donde no se pudo establecer una tendencia lineal entre las variables.

## SUGERENCIAS

1. El estudio de la fluorescencia en los tejidos dentarios carece de investigaciones recientes sobre los fluoróforos responsable de este fenómeno. Por ello, sugerimos que en próximas investigaciones se realice una separación química de los componentes, tanto del esmalte como de dentina, con el objeto de reconocer cuáles son las sustancias fluorescentes en cada tejido.
2. Sería interesante realizar una investigación donde existiera una comparación entre tejidos dentarios, resinas compuestas y porcelanas, determinando el estado actual de los biomateriales considerados estéticos.
3. Al momento de la recolección dentaria, se sugiere considerar tanto dientes anteriores como posteriores, y así poder comparar la emisión de fluorescencia entre ambos grupos.
4. En cuanto a la edad, sería interesante considerar todos los rangos etáreos para realizar comparaciones entre ellos.
5. En el caso del grosor de corte, sugerimos agrupar las muestras en categorías similares, que posteriormente fueran factibles de comparar, de forma de relacionar esta variable con la emisión de fluorescencia.
6. Para finalizar, creemos que es importante que los fabricantes de resinas compuestas y porcelanas entreguen valores reales de las propiedades ópticas (translucidez, fluorescencia y color) de sus productos, de modo que éstos puedan ser comparados con lo encontrado en los tejidos dentarios, y así elegir el material más propicio para realizar restauraciones verdaderamente estéticas.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abramovich, A., (1999) *Histología y Embriología dentaria*. Segunda Edición. Buenos Aires. Médica Panamericana.
- Al-Khateeb, S., Exterkate, R.A.M., de Josselin de Jong, E., Angmar-Mansson, B., Ten Cate, JM., (2002) Light-Induced Fluorescence Studies on Dehydration of Incipient Enamel Lesions. *Caries Res* 36: 25-30.
- Alfano, R., Yao, S.S., (1981) Human Teeth with and without dental caries studied by visible luminescent spectroscopy. *J Dent Res* 80: 120-122.
- Ando, M., Stookey, G.K., Zero, D.T., (2006) Ability of quantitative light-induced fluorescence (QLF) to assess the activity of white spot lesions during dehydration. *Am J Dent* 19(1): 15-18.
- Banerjee, A., Boyde, A., (1998) Autofluorescence and mineral content of carious dentine: Scanning optical and Backscattered Electron microscopic studies. *Caries Res* 32: 219-226.
- Booij, M., ten Bosch, J.J., (1982) A fluorescent compound in bovine dental enamel matrix compared with synthetic dityrosine. *Archs Oral Biol* 27: 417-421.
- Born, M., Wolf, E., (1999) *Principles of optics: electromagnetic theory of propagation, interference and diffraction of light*. Séptima Edición.. Cambridge. Cambridge University.
- Buchalla W., Lennon AM., Attin T., (2004) Comparative Fluorescence spectroscopy of root caries lesions. *Eur J Oral Sci* 112: 490-496.
- Cabrales, Carlos., (2004) "Luminiscencia en polímeros semiconductores" en *Ingenierias*, [en línea] Abril-junio, 2004 vol VII, n 23, disponible en: [http://ingenierias.uanl.mx/23/pdfs/23\\_p12a16\\_cabrales.pdf](http://ingenierias.uanl.mx/23/pdfs/23_p12a16_cabrales.pdf) [accesado el 27 de noviembre de 2005].
- Cattaruzza, M. (2002) *Il Colore: Odontoiatria Conservativa Restauri Adesivi Diretti Fondamenti sul Colore e sue Applicazioni*. Italia.Promoden.
- Castro, M., (1999) "Propagación de la Luz" disponible en: [http://members.tripod.com/~Mauve\\_Ciel/propagacion.html](http://members.tripod.com/~Mauve_Ciel/propagacion.html) [accesado el 22 de octubre de 2005].
- Craig, G., (1998) *Materiales de Odontología Restauradora*. Madrid. Harcourt - Brace.
- Dietschi, D., Dietschi, JM., (1996) Current developments in composite materials and techniques. *Pract Periodont Aesthet Dent* 8(7): 603-613.
- Dietschi, D., (2001): Layering concepts in anterior composite restorations. *J. Adhes. Dent.* 3: 71-80.

Ewing, G., (1978) *Métodos instrumentales de análisis químicos*. México. MacGraw-Hill

Fernández, B., (2002) Efectos dañinos de la radiación UV y bases fundamentales para la fotoprotección. Valparaíso. Universidad de Valparaíso.

Foreman, P.C., (1980) The excitation and emission spectra of fluorescent components of human dentine. *Archs Oral Biol* 25: 641-647.

García del Amo, D., Calvo, B., Vladimirovich, E., Cueto, R., García, E., (1996) "Luminiscencia" Universidad Politécnica de Madrid, disponible en: [http://www.uned.es/cristamine/mineral/prop\\_fis/luminiscencia1.htm#LUMINISCENCIA](http://www.uned.es/cristamine/mineral/prop_fis/luminiscencia1.htm#LUMINISCENCIA) [accesado el 25 de octubre de 2005].

García del Amo, D., Calvo, B., Vladimirovich, E., Cueto, R., García, E., (1996) "Efectos ópticos especiales" Universidad Politécnica de Madrid, disponible en: [http://www.uned.es/cristamine/gemas/propiedades/ef\\_optic.htm](http://www.uned.es/cristamine/gemas/propiedades/ef_optic.htm) [accesado el 25 de octubre de 2005].

Gómez de Ferraris, M.A., Campos, A., (2002) *Histología y Embriología Bucodental*. Segunda Edición. Madrid. Médica Panamericana.

González, L., (2005) "El espectro electromagnético" en *Electrónica Unicrom*, disponible en: [http://www.unicrom.com/Tel\\_espectroelectromagnetico.asp](http://www.unicrom.com/Tel_espectroelectromagnetico.asp) [accesado el 5 de noviembre del 2005].

González, S., Haro, P., (2002) "Opalescencia, Fluorescencia y Translucidez". Disponible en <http://www.tecnicaidental.com/articulos/100902.asp> [accesado el 20 de octubre del 2005].

González, W., Vidal, F., (2005) "Evaluación espectrofotométrica de las resinas compuestas .Estudio comparativo con guía Vitapan 3-D Master". Tesis para optar al Título de Cirujano Dentista. Escuela de Odontología. Universidad de Valparaíso.

Hafstrom-Bjorkman, U., Sundstrom, F., ten Bosch, JJ. (1991) Fluorescence in dissolved fraction of human enamel. *Acta Odontol Scand* 49:133-138.

Halliday, D., Kenneth, S., Resnick, R., (2002) *Física*. Wiley, J. Ciudad de México. Editorial Continental.

Harris, T., (2000) "How Black Lights Work", disponible en: <http://science.howstuffworks.com/light-black1.htm> [accesado el 14 de octubre del 2005].

Jenkins, G.N., (1983) *Fisiología y Bioquímica bucal*. Cuarta Edición. México. Editorial Limusa.

Kvaal, S., Solheim, T., (1989) Fluorescence from dentin and cementum in human mandibular second premolars and its relation to age. *Scand J Dent Res* 97: 131-8.

- Lakowicz, J.R., (1999) *Principles of fluorescence spectroscopy*. Segunda edición. New York. Kluwer Academic.
- Lee, YK., Lu, H., Powers, JM. (2005) Fluorescence of layered resin composites. *J Esthet Restor Dent* 17(2): 93-100.
- Matsumoto H.; Kitamura S.; Araki T. (1999): Autofluorescence in human dentine in relation to age, tooth type and temperature measured by nanosecond time-resolved fluorescence microscopy. *Archs Oral Biol* 44: 309-318.
- Merriam-Webster, (1995) Merriam-Webster's Collegiate Dictionary, 10th Edition. Springfield, MA, USA, disponible en: <http://www.noteaccess.com> [accesado el 9 de noviembre del 2005].
- Monsénégo G., Burdairon G., Clerjoud B., (1993) Fluorescence of dental porcelain. *J Prosthet Dent* 69 :106-113.
- Pedrotti, L.S., Pedrotti, F.L., (1998) *Optics and Vision*. New Jersey. Prentice-Hall.
- Permyakov, E.A., (1993) *Luminescent spectroscopy of proteins*. Florida. CRC.
- Poblete, A., (2003) "Evaluación del efecto de fluorescencia en resinas compuestas". Tesis para optar al Título de Cirujano Dentista. Escuela de Odontología. Universidad de Valparaíso.
- Resnick, R., (2002) *Física*. Cuarta Edición. Mexico. Editorial CECSA.
- Ribeiro, A.C., Kurachi, C., Bagnato, V.S., (2005) Comparison of fluorescence detection of carious dentin for different excitation wavelengths. *Caries Res* 39: 393-396.
- Ruiz, J., (1999) "Reflexión de la luz: Ley de Snell". Instituto Julio Rey Pastor, Albacete, disponible en: <http://acacia.pntic.mec.es/~jrui27/light/refracciones.html> [accesado el 28 de octubre del 2005].
- Serway, R.A., (1997) *Física*. Tomo II. Cuarta Edición. México. McGraw-Hill.
- Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., (2001) *Principios de análisis instrumental*. Quinta Edición. Madrid. McGraw Hill.
- Spitzer, D., ten Bosch J.J., (1976) The total luminescence of bovine and human dental enamel. *Calcif Tissue Res* 20: 201-208.
- Steenbecker, O., (2006) *Principios y bases de los biomateriales en operatoria dental estética adhesiva : propiedades, principios, fundamentos*. Valparaíso. Universidad de Valparaíso.
- Sundström F., Fredriksson K., Montán S., Hafström-Björkman U., Ström J., (1985) Laser-induced fluorescence from sound and carious tooth substance: Spectroscopic studies. *Swed Dent J* 9: 71-80.

Touati, B., Miara, P., Nathanson, D., Giordano, Russell (2000) *Odontología estética y restauraciones cerámicas*. Barcelona. Masson.

Valdés, M., (1999) "La Radiación Solar" Instituto de Geofísica, Universidad Autónoma de México. Mayo 1999, disponible en: <http://www.igeofcu.unam.mx/divulgacion/geofisicosas/geofisicosas5.pdf> [accesado el 10 de diciembre de 2005].

Van der Veen, M.H., ten Bosch, J.J., (1995) Autofluorescence of bulk sound and in vitro demineralized human root dentin. *European J Oral Sci* 103: 375-381.

Van der Veen, M.H., Ando, M., Stookey, G.K., de Josselin de Jong, E., (2002) A Monte Carlo Simulation of the Influence of Sound Enamel Scattering Coefficient on Lesion Visibility in Light-Induced Fluorescence. *Caries Res* 36: 10-18.

Vásquez, E., (2003) "Bioquímica y Biología Molecular en Línea" Instituto de Química UNAM 2003, disponible en: [http://laguna.fmedic.unam.mx/~evazquez/0403/aminoacidos%20no%20polares\\_archivos/image009.jpg](http://laguna.fmedic.unam.mx/~evazquez/0403/aminoacidos%20no%20polares_archivos/image009.jpg) [accesado el 15 de noviembre de 2005].

Villalobos, J.A., (2005) "Radiaciones Electromagnéticas" Universidad de Costa Rica, disponible en: <http://www.cientec.or.cr/ciencias/radiaciones.html#espectro> [accesado el 20 de octubre de 2005].

Westland, S., (2001) "La visión del color: Qué son la visión escotópica y fotópica", disponible en: [http://www.gusgsm.com/escotopica\\_fotopica](http://www.gusgsm.com/escotopica_fotopica) [accesado el 21 de junio de 2005].

Westland, S., (2001) "Luz y materia: Qué es el espectro cromático", disponible en: <http://www.gusgsm.com/book/export/html/286> [accesado el 21 de junio de 2005].

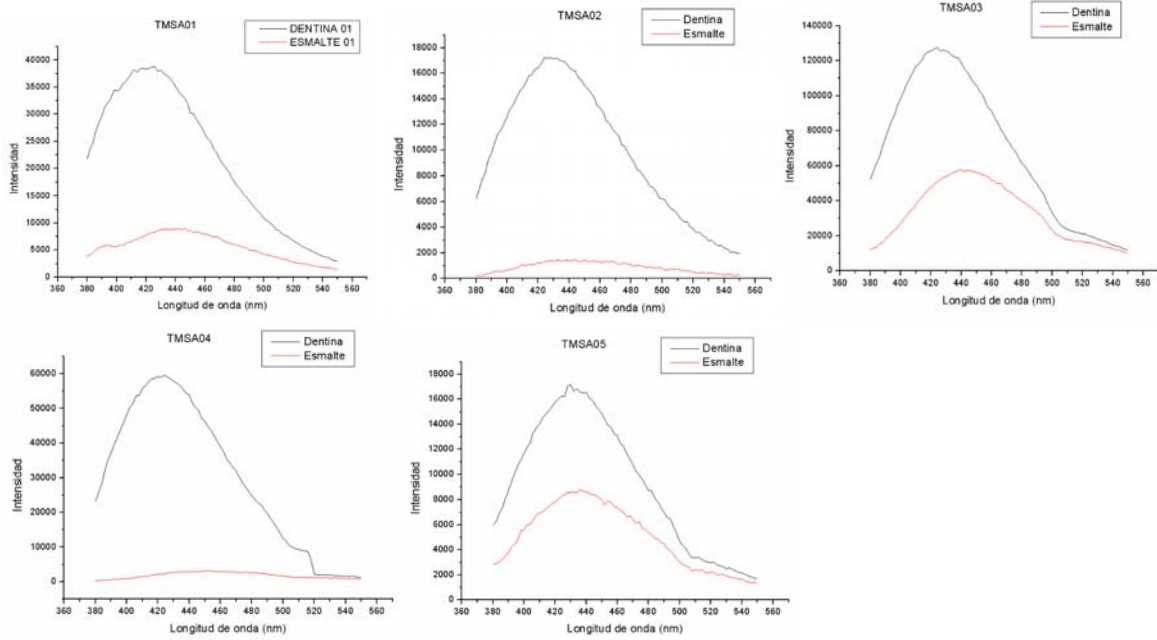
Wikipedia (2005) "Luz", disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Luz> [accesado el 21 de junio de 2005].

Wikipedia (2005) "Radiación Ultravioleta", disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Ultravioleta> [accesado el 21 de junio de 2005].

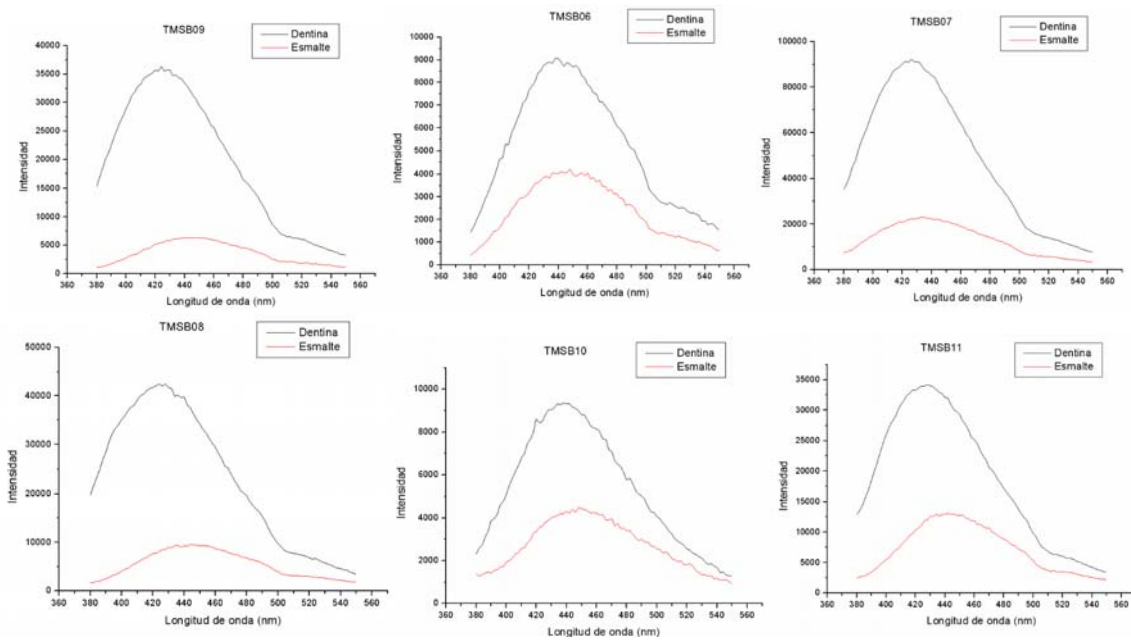
Williams, R.A.D., Elliot, J.C., (1990) *Bioquímica dental básica y aplicada*. Segunda Edición. México. El Manual Moderno.

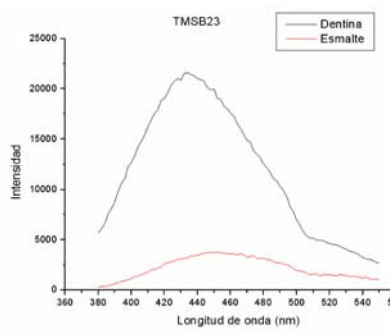
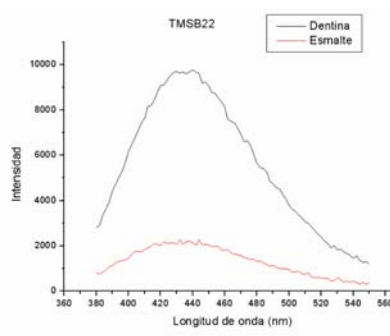
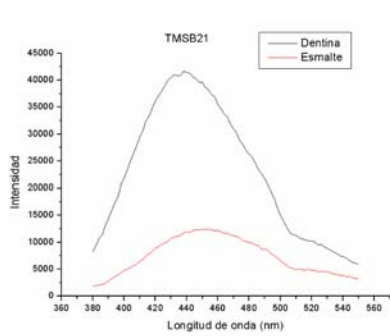
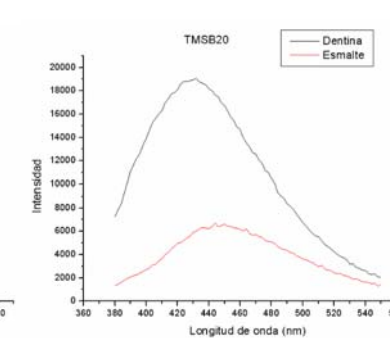
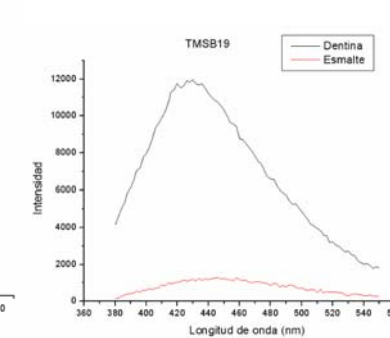
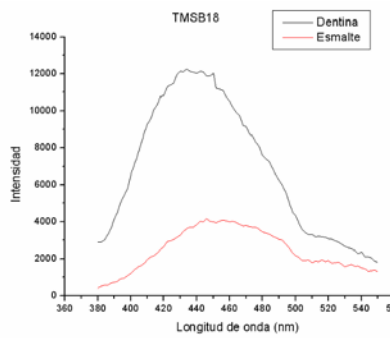
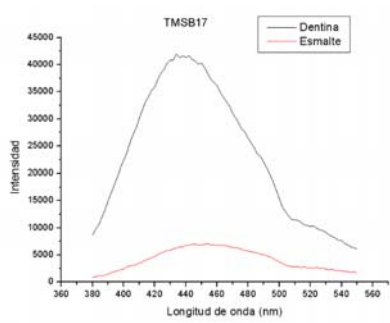
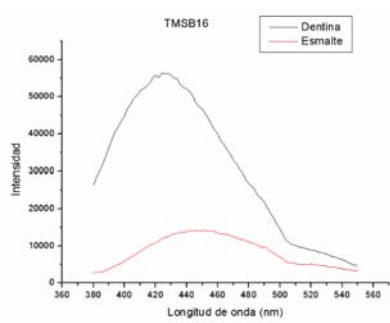
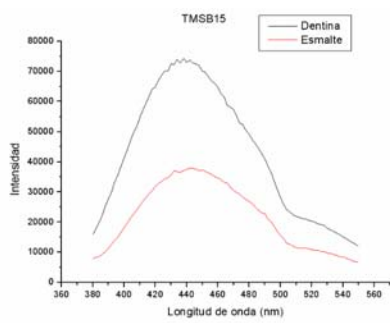
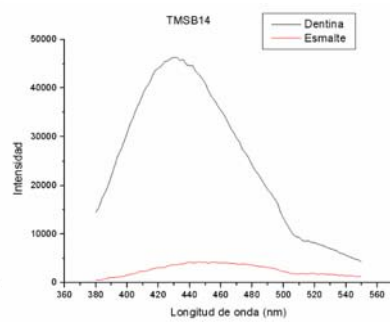
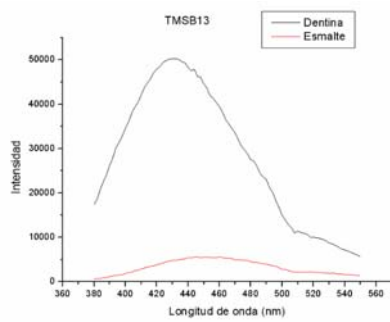
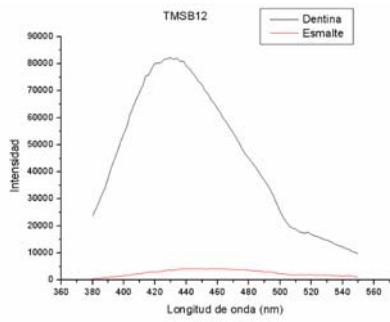
**ANEXO I "Gráficos de dientes sin factorizar por la curva de sensibilidad del ojo humano"**

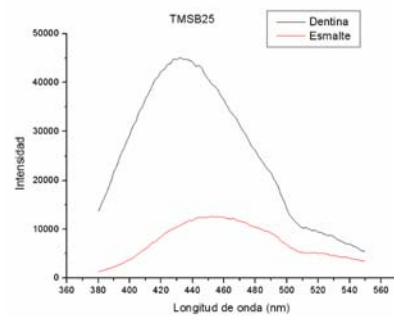
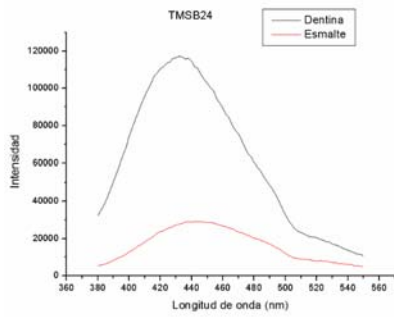
- Gráficos Terceros Molares Superiores de 11 a 20 años (TMSA)



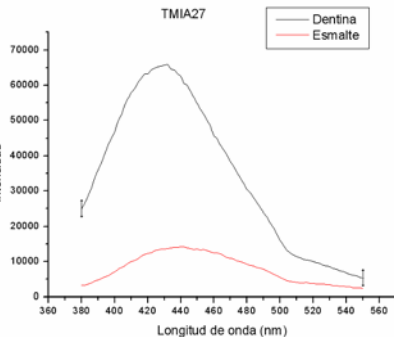
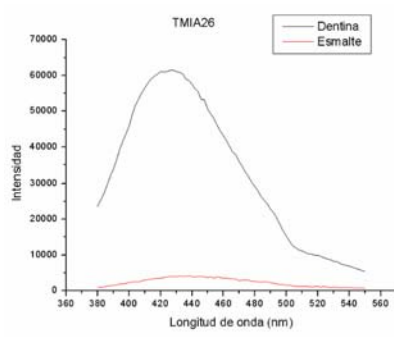
- Gráficos Terceros Molares Superiores de 21 a 30 años (TMSB)



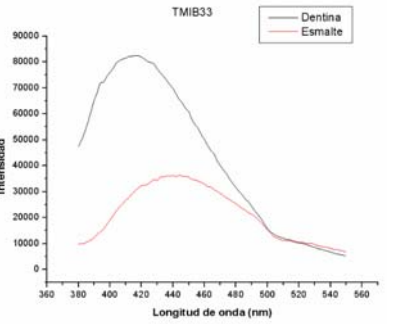
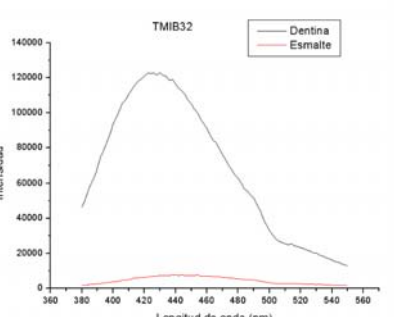
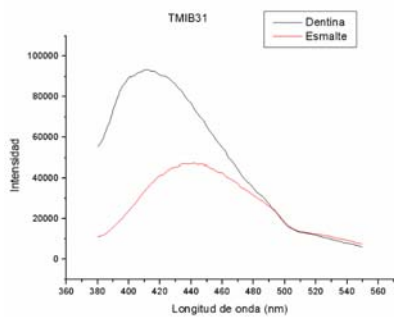
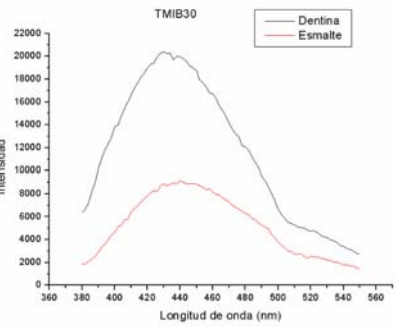
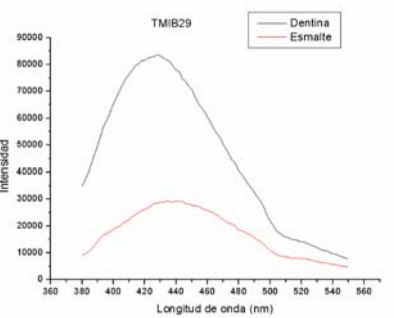
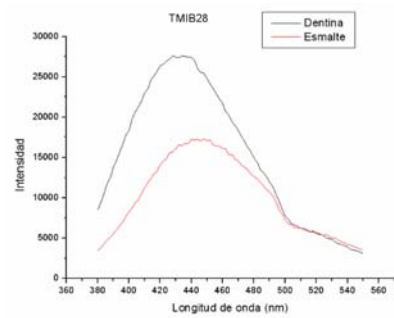


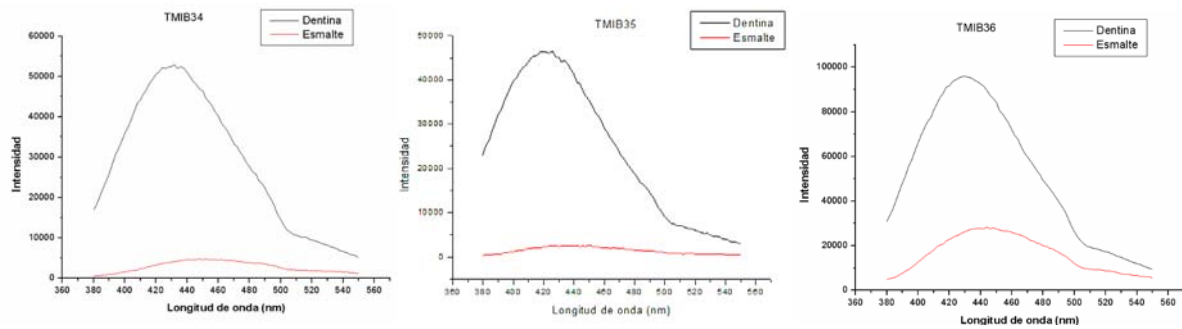


- Gráficos Terceros Molares Inferiores de 11 – 20 años (TMIA)

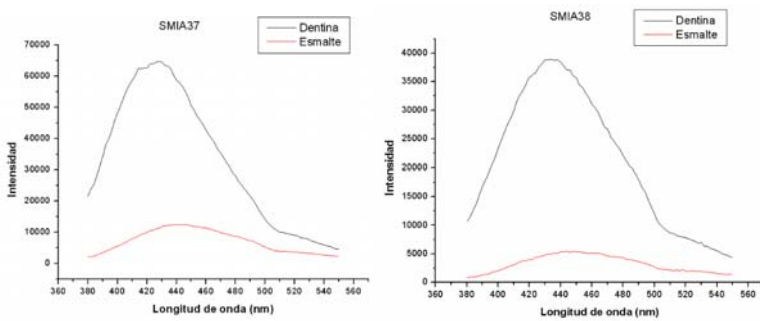


- Gráficos Terceros Molares Inferiores de 21 – 30 años (TMIB)

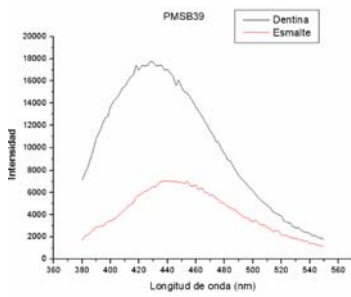




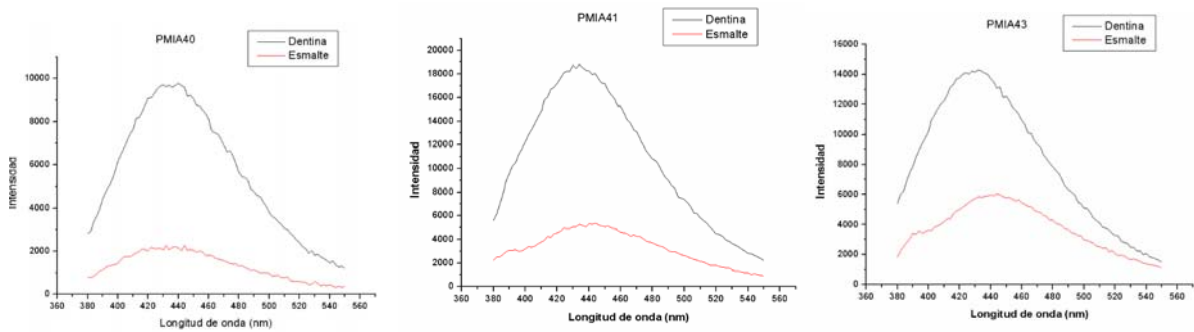
- Gráficos Segundos Molares Inferiores de 11 - 20 años (SMIA)

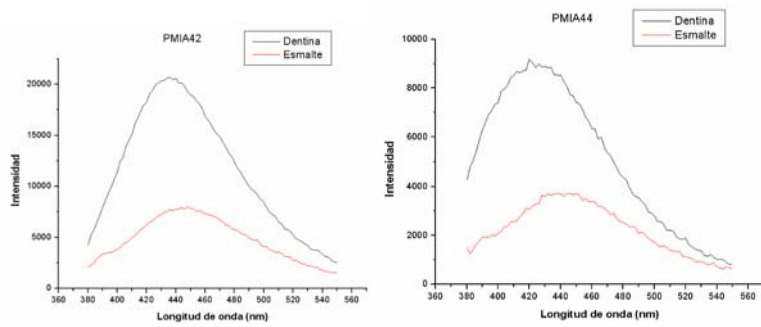


- Gráfico Primer Molar Superior de 21 – 30 años (PMSB)

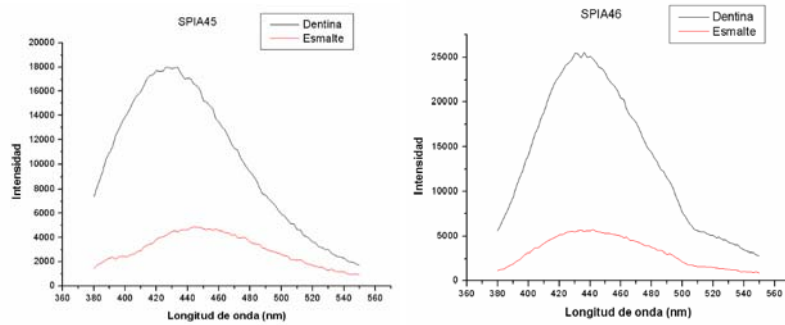


- Gráficos Primeros Molares Inferiores de 11 – 20 años

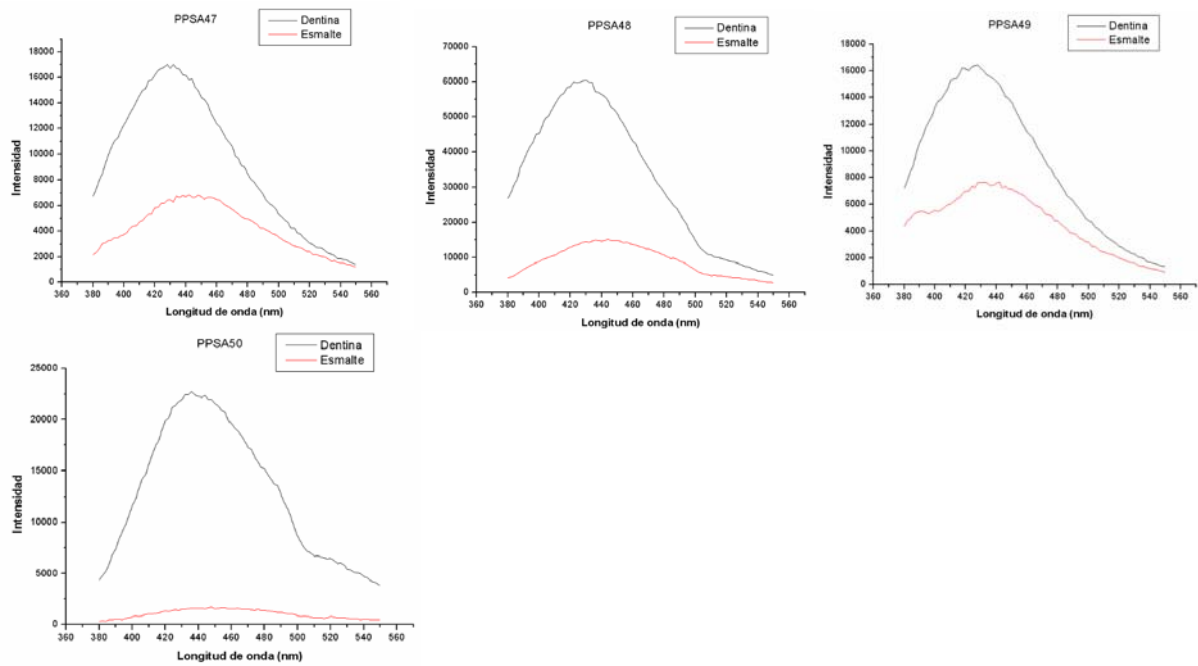




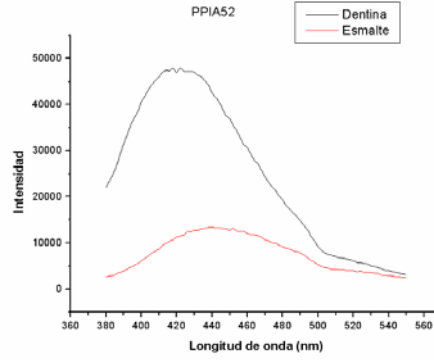
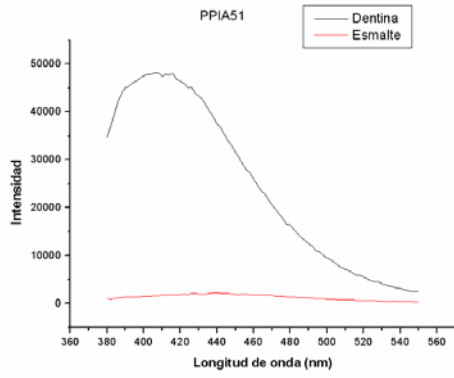
- Gráficos Segundos Premolares Inferiores de 11 – 20 años



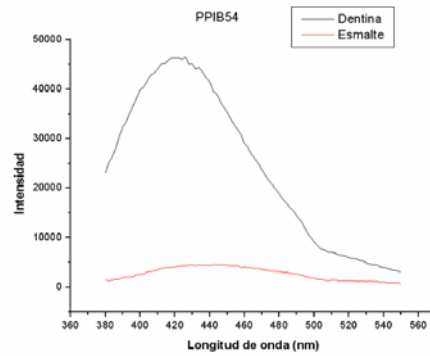
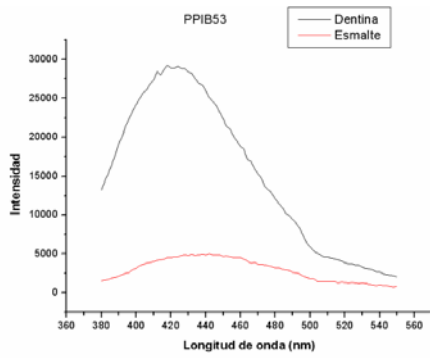
- Gráficos Primeros Premolares superiores de 11 – 20 años



- Gráficos Primeros Premolares Inferiores de 11 – 20 años

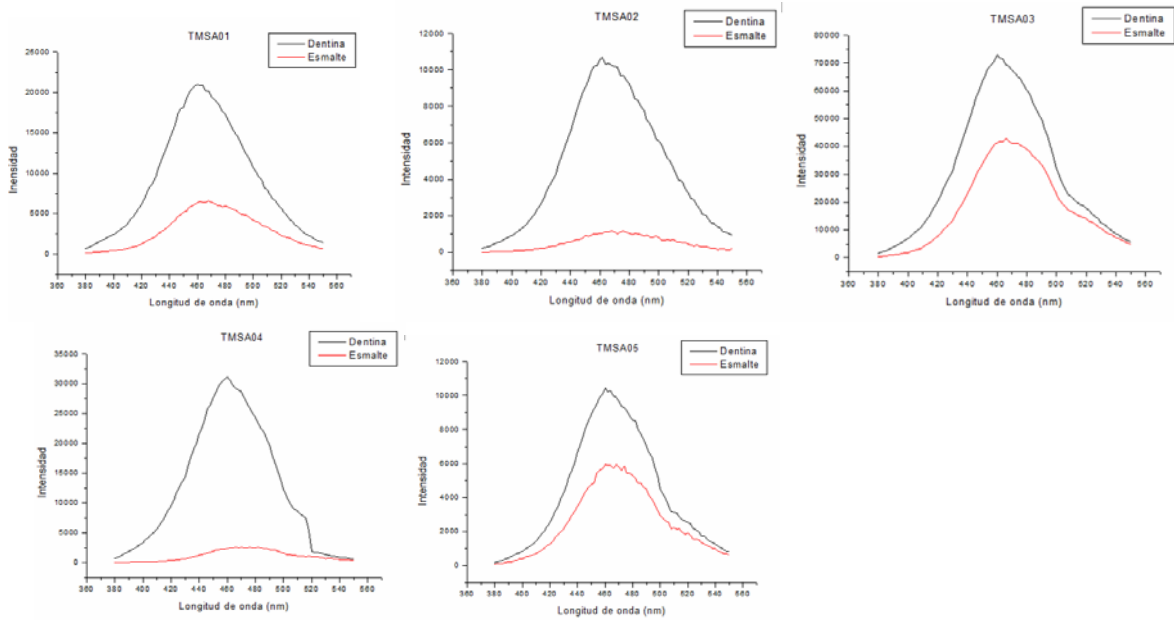


- Gráficos Primeros Premolares Inferiores de 21 – 30 años

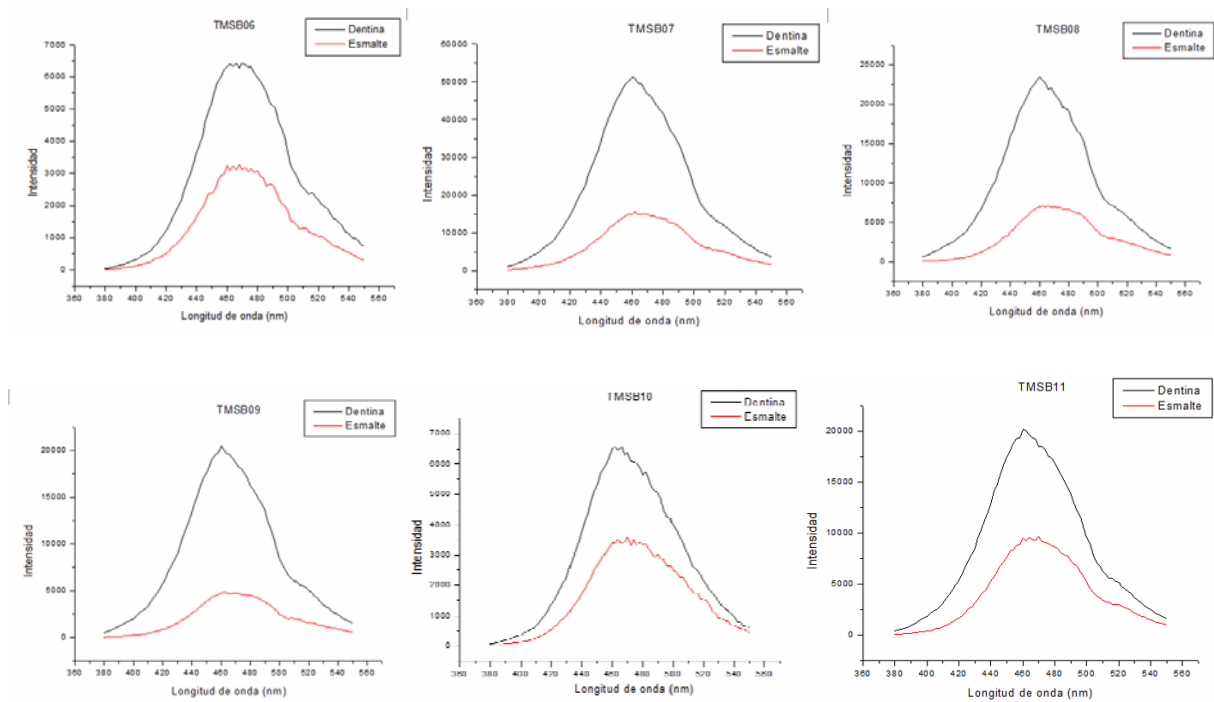


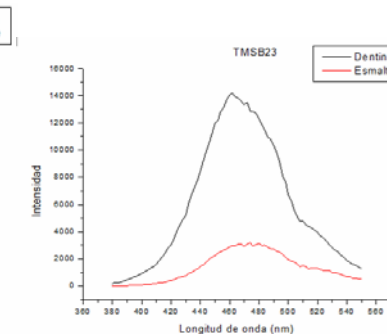
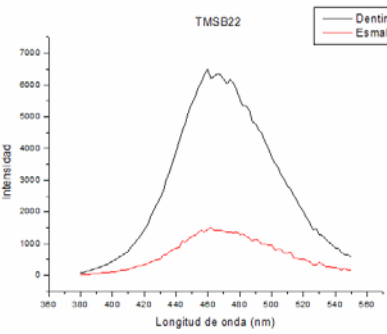
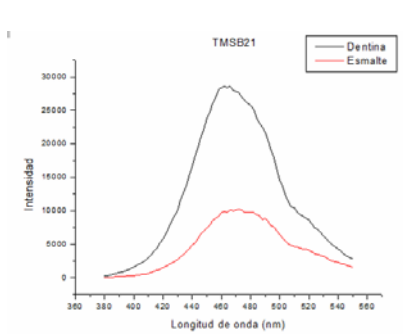
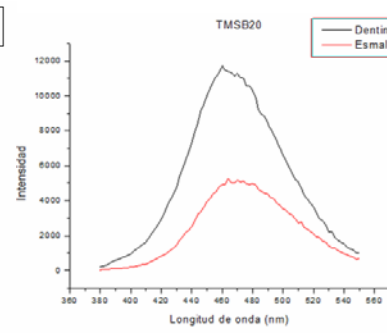
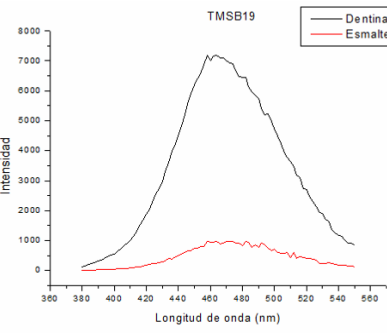
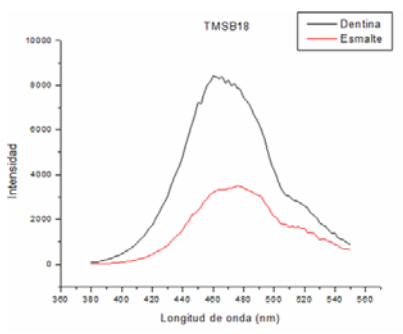
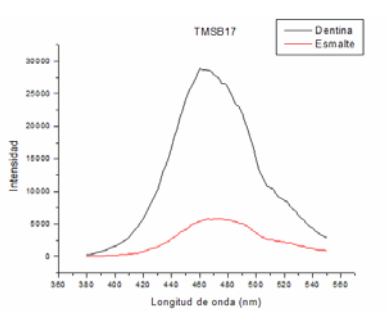
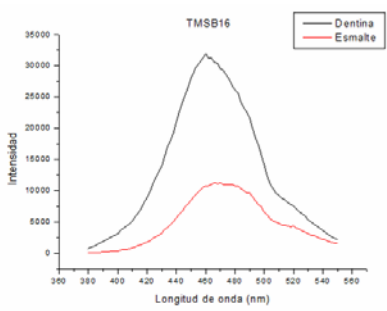
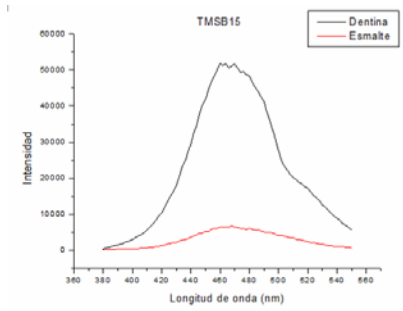
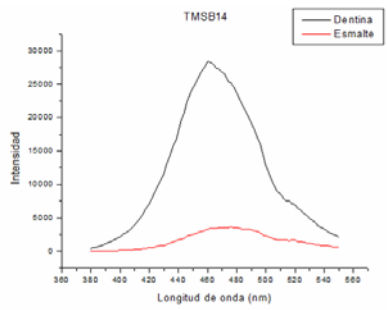
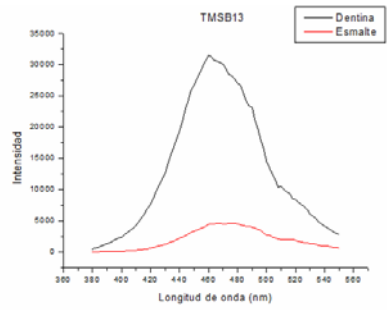
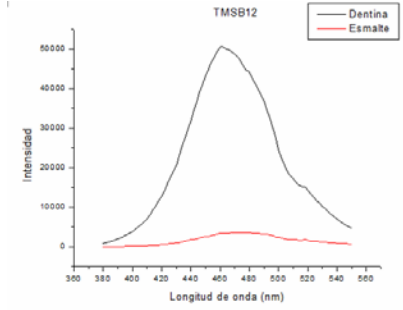
**ANEXO II “Gráficos de dientes factorizados por la curva de sensibilidad del ojo humano”**

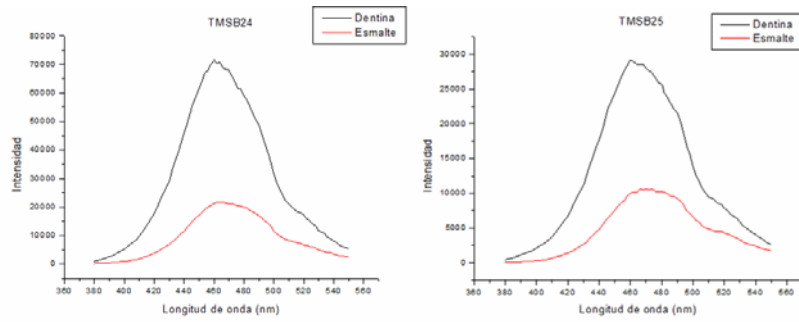
- Gráficos Terceros Molares Superiores de 11 – 20 años



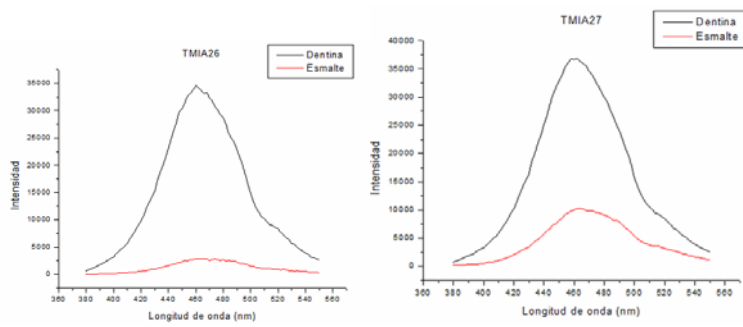
- Gráficos Terceros Molares superiores de 21 – 30 años



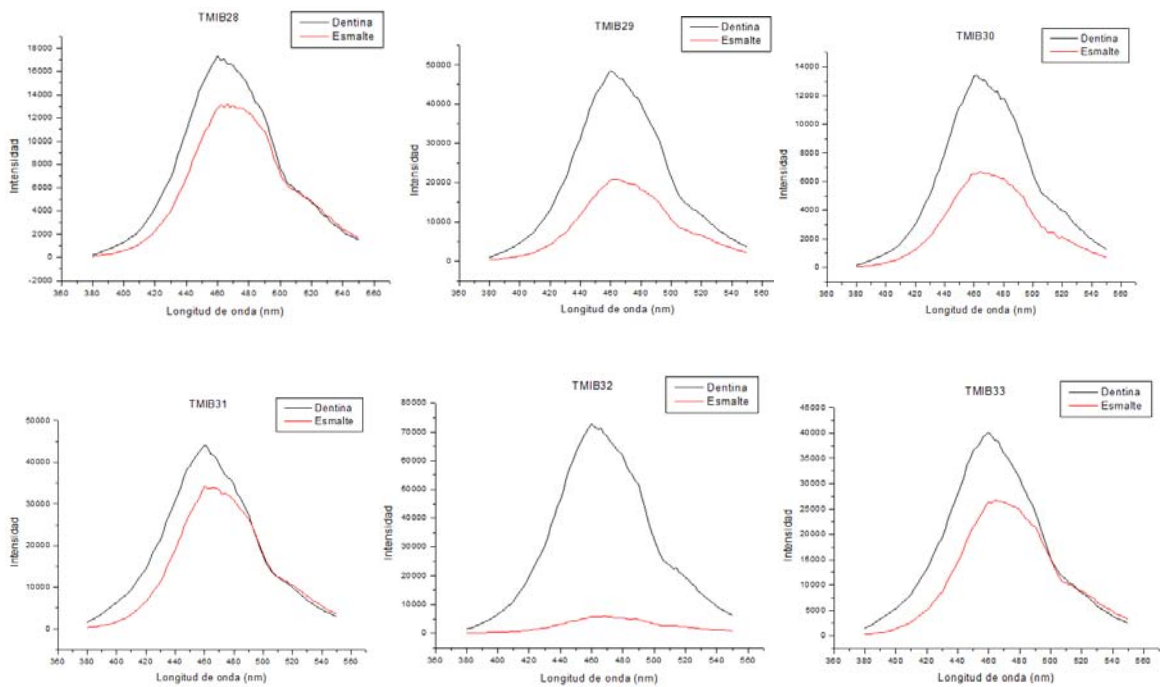


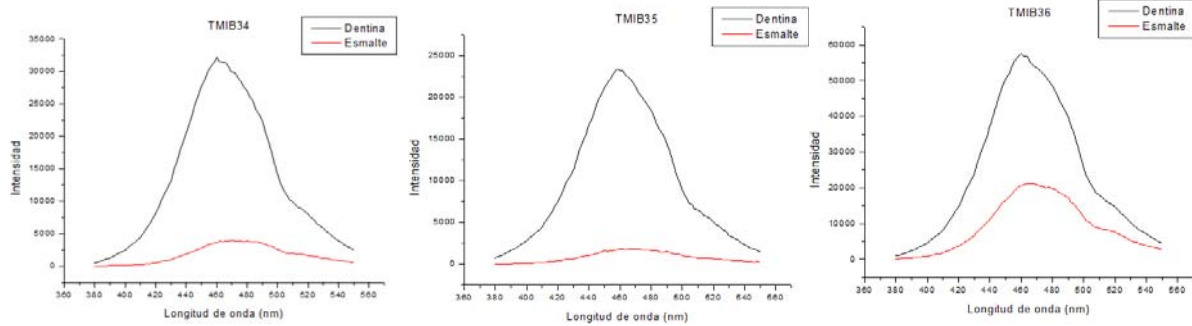


- Gráficos Terceros Molares inferiores de 11 – 20 años

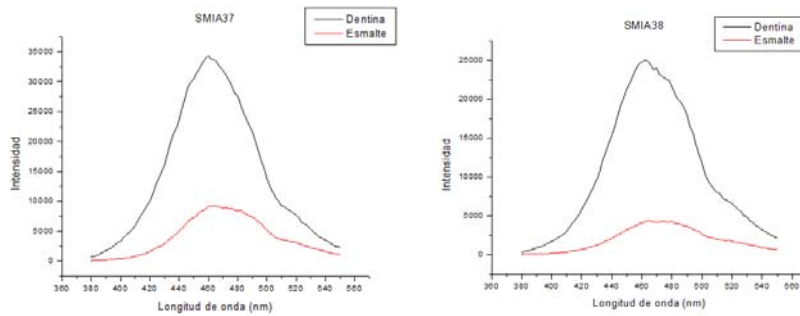


- Gráficos Terceros Molares inferiores de 21 – 30 años

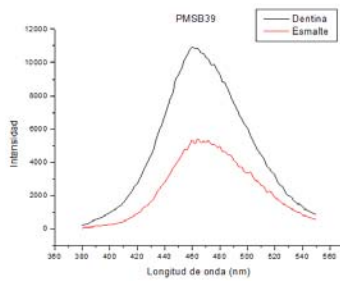




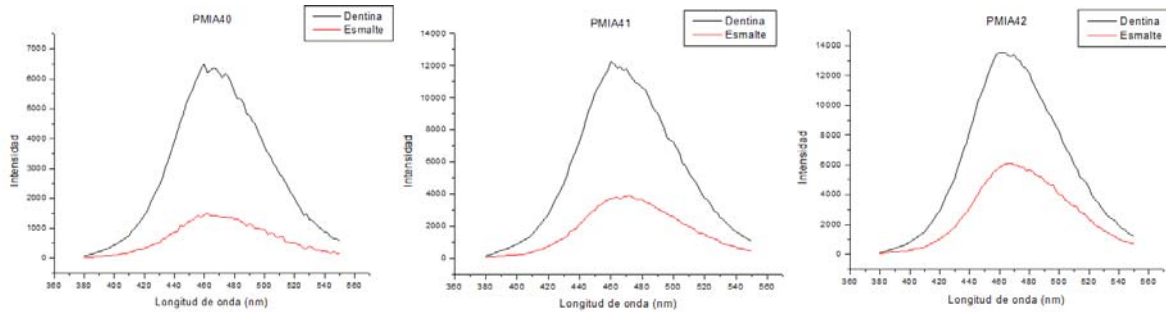
- Gráficos Segundos Molares Inferiores de 11 – 20 años

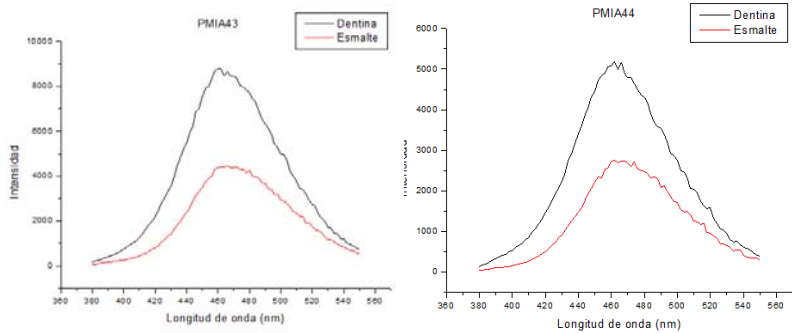


- Gráfico Primer Molar Superior 21 – 30 años

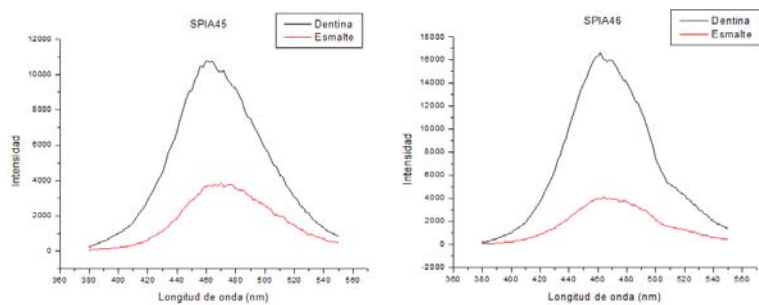


- Gráficos Primeros Molares Inferiores de 11 – 20 años

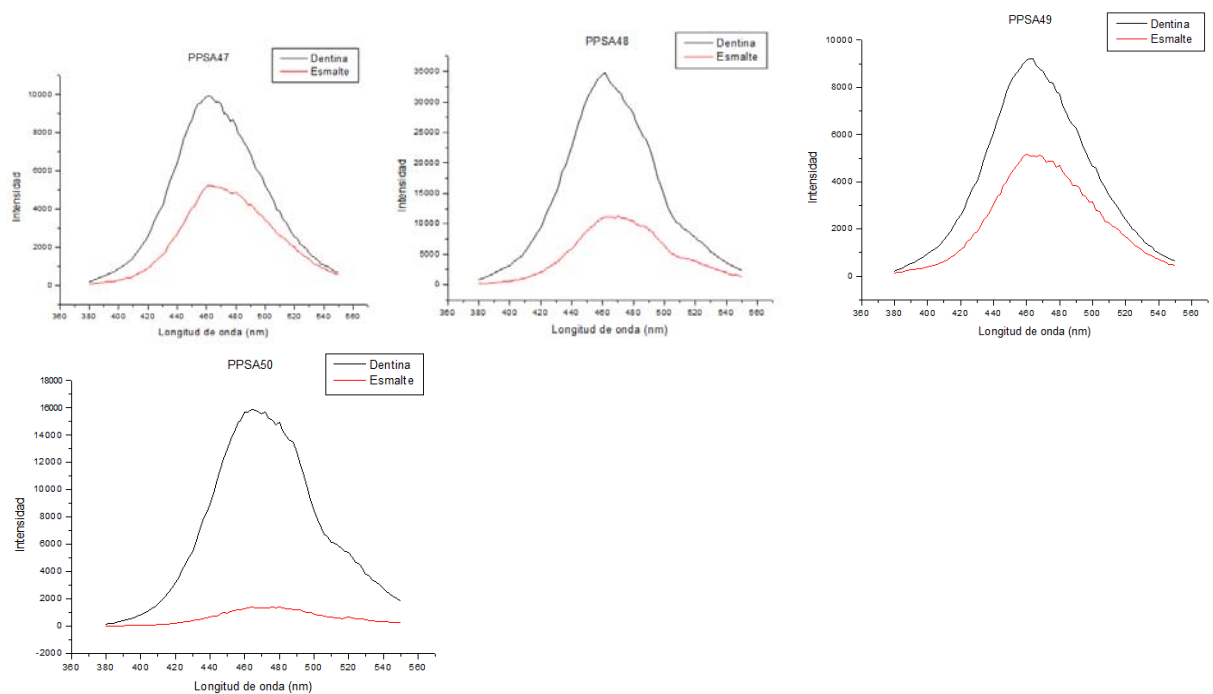




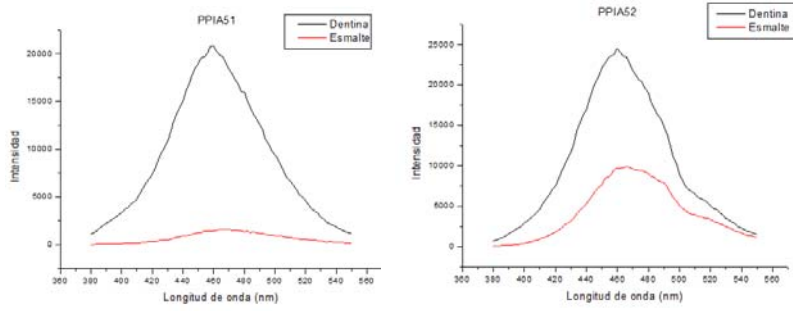
- Gráficos Segundos Premolares inferiores de 11 – 20 años



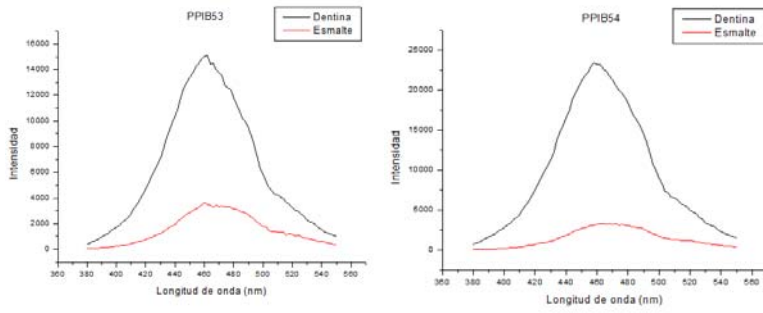
- Gráficos Primeros Premolares Superiores de 11 – 20 años



- Gráficos Primeros Premolares Inferiores de 11 – 20 años



- Gráficos Primeros Premolares Inferiores de 21 – 30 años





**Prueba t-student para peak dentina y esmalte No factorizada por la curva de sensibilidad del ojo humano**

Paired t test

Variable	Obs	Mean	Std. Err.	Std. Dev.	[95% Conf. Interval]	
pea~d_sf	54	429.4815	.8818144	6.479986	427.7128	431.2502
pea~e_sf	54	444.963	.6661229	4.894984	443.6269	446.299
diff	54	-15.48148	.8990797	6.60686	-17.28481	-13.67816

mean(diff) = mean(peak\_d\_sf - peak\_e\_sf)                      t = -17.2193  
 Ho: mean(diff) = 0    degrees of freedom = 53  
 Ha: mean(diff) < 0                      Ha: mean(diff) != 0                      Ha: mean(diff) > 0  
 Pr(T < t) = 0.0000                      Pr(|T| > |t|) = 0.0000                      Pr(T > t) = 1.0000

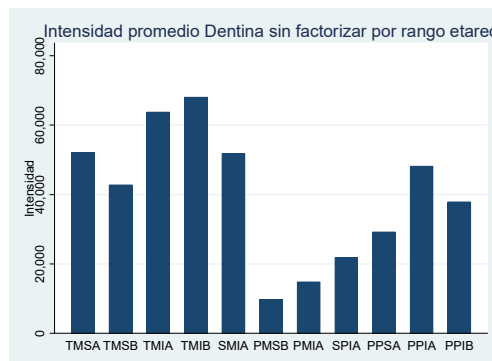
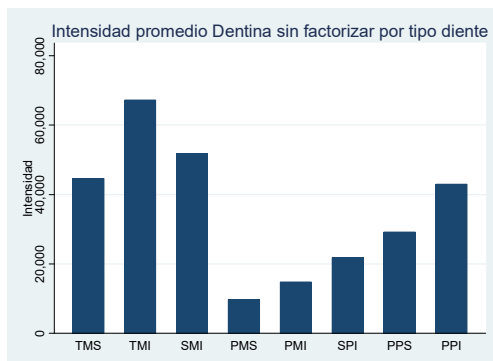
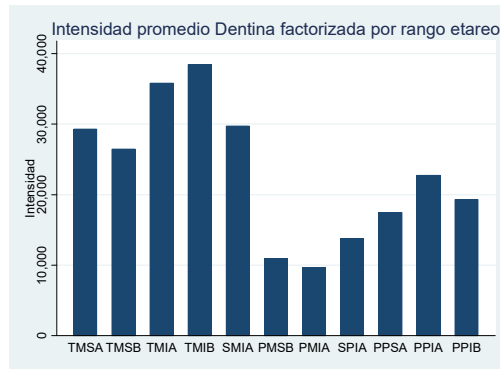
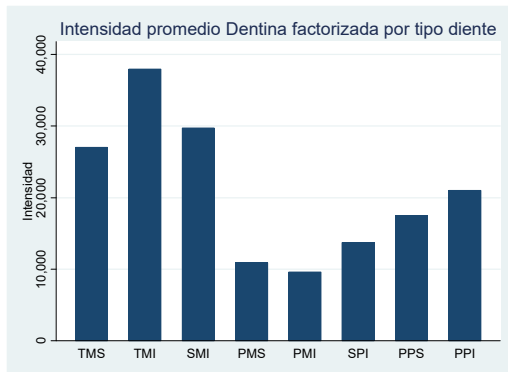
**Interpretación:** dado el valor de la prueba T = -17.21 y el valor-p = 0.00 altamente significativo. Se rechaza Ho, es decir las medias son estadísticamente diferentes.

**Resúmenes de dientes**

Tipo diente	Frecuencia	Porcentaje
TMS	25	46.30
TMI	11	20.37
SMI	2	3.70
PMS	1	1.85
PMI	5	9.26
SPI	2	3.70
PPS	4	7.41
PPI	4	7.41
Total	54	100.00

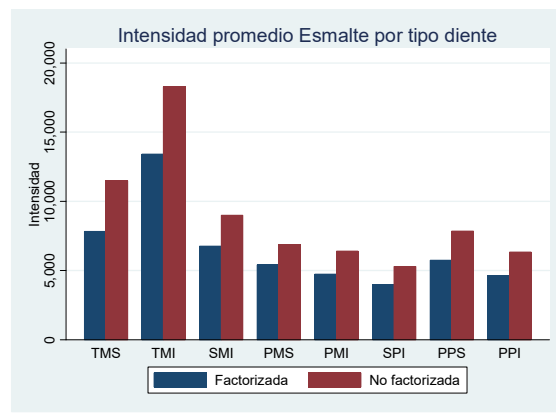
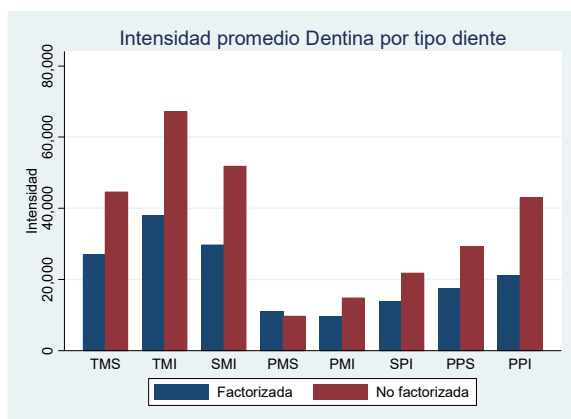
Rango etareo	Frecuencia	Porcentaje
TMSA	5	9.26
TMSB	20	37.04
TMIA	2	3.70
TMIB	9	16.67
SMIA	2	3.70
PMSB	1	1.85
PMIA	5	9.26
SPIA	2	3.70
PPSA	4	7.41
PPIA	2	3.70
PPIB	2	3.70
Total	54	100.00

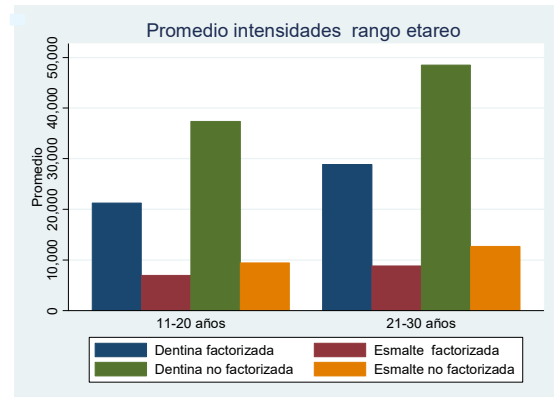
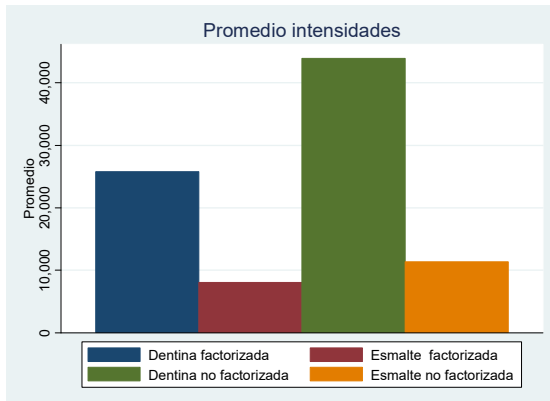
**Intensidad promedio por tipo de diente y rango etareo para factorizado y sin factorizar por la curva de sensibilidad del ojo humano.**



**Combinación intensidades dentina factorizado y sin factorizar y esmalte factorizado y sin factorizar por la curva de sensibilidad del ojo humano**

**OBS:** esta es una combinación de intensidades de la dentina tanto para factorizar y sin factorizar, es decir el grafico contiene los valores promedios de dentina factorizada por tipo de diente y dentina no factorizada. La idea es ver diferencias entre factorizada sin factorizar al momento de medir la misma variable. Lo mismo se hizo para esmalte y longitud de onda. Tanto por tipo de diente como por rango etáreo.





## Análisis grosor versus intensidad

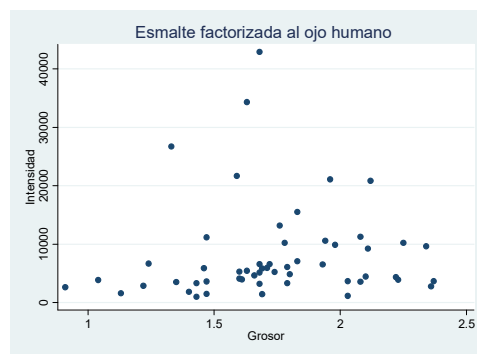
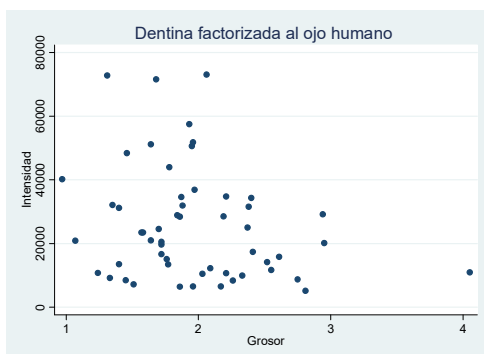
### Prueba de normalidad

Shapiro-Wilk W test for normal data

Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
intens_d_f	54	0.88361	5.817	3.772	0.00008
intens_e_f	54	0.70305	14.841	5.779	0.00000
intens_d_sf	54	0.89543	5.226	3.543	0.00020
intens_e_sf	54	0.71641	14.173	5.680	0.00000
gros_d_f	54	0.94176	2.911	2.289	0.01104
gros_e_f	54	0.98399	0.800	-0.478	0.68376
gros_d_sf	54	0.94176	2.911	2.289	0.01104
gros_e_sf	54	0.98399	0.800	-0.478	0.68376

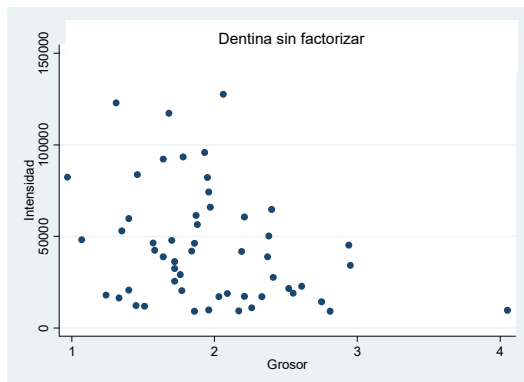
**Interpretación:** Dado los valores-p para las variables solo el grosor del esmalte factorizado y sin factorizar provienen de un distribución normal.

Por lo tanto, para calcular la correlación entre las variables se utilizara el coeficiente de correlación Pearson (cuando al menos una de las variables tenga una distribución normal) y el de Spearman (distribuciones no normales).

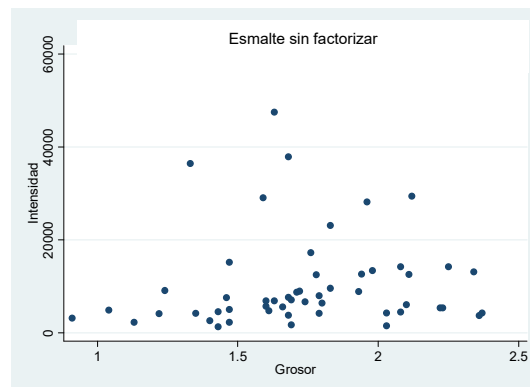


Coefficiente de correlación de Spearman  $\rho = -0.2024$   
 Test of  $H_0$ : intensidad y grosor son independientes  
 Prob > |t| = 0.1422

Coefficiente de correlación de Pearson  $\rho = 0.0666$



Coefficiente de correlación de Spearman  $\rho = -0.2790$   
 Test of  $H_0$ : intensidad y grosor son independientes  
 Prob  $> |t| = 0.0411$



Coefficiente de correlación de Pearson  $\rho = 0.0526$

**Interpretaciones:** La Correlación entre dos variables es una medida de asociación, que mide el grado asociación de lineal entre dos variables.

El coeficiente de correlación puede tomar valores entre -1 y 1.

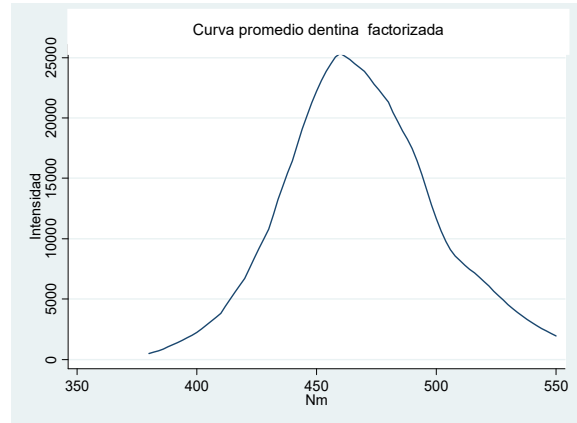
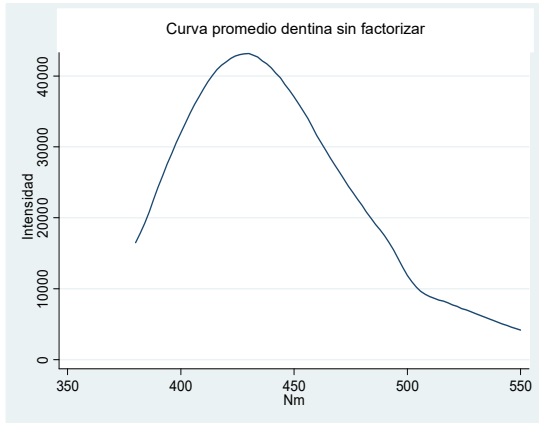
Si es igual a cero, no existe correlación, es decir no hay relación lineal entre las variables. Si es igual a 1, hay una alta correlación positiva entre las variables, es decir están relacionadas entre sí, existe una dependencia, si aumenta una la otra también aumenta o si una disminuye la otra también disminuye. Si es igual a -1, hay una alta correlación negativa entre las variables. Si una decrece o disminuye la otra también disminuye.

Como se planteaba “a mayor grosor mayor intensidad” se esperaría una correlación cercana a 1, pero gráficamente se puede observar que no existe esa asociación y para corroborar nos apoyamos en los coeficientes de correlación. No hay una tendencia lineal clara entre las variables.

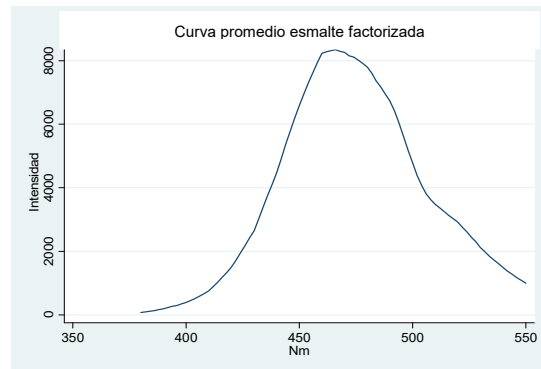
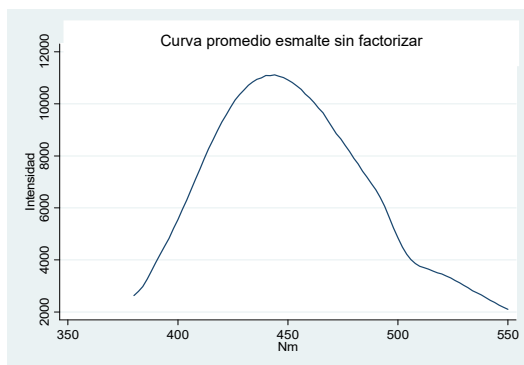
Observando los valores-p para las correlaciones de Spearman no damos cuenta que para la dentina factorizada al ojo humano No se rechaza la hipótesis nula es decir las variables son independientes no existe relación entre ellas en cambio para la dentina sin factorizar Se rechaza la hipótesis nula de independencia, es decir, existiría alguna relación entre las variables, aunque observando el grado de asociación (coeficiente de correlación) es negativo y muy pequeño y aun mas si nos apoyamos en la grafica podemos decir que no existe una tendencia lineal entre las variables.

Ahora si miramos las correlaciones de Pearson tampoco observamos correlaciones muy altas que nos den muestra de algún grado de asociación.

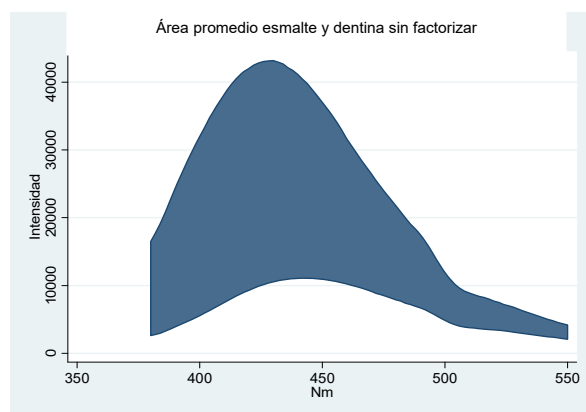
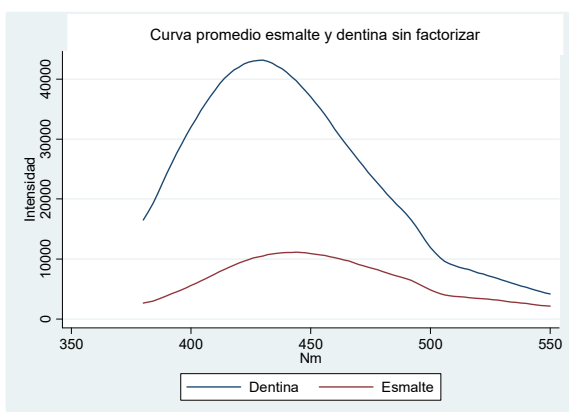
### Curva promedio dentina sin y con factorizar por la curva de sensibilidad del ojo humano



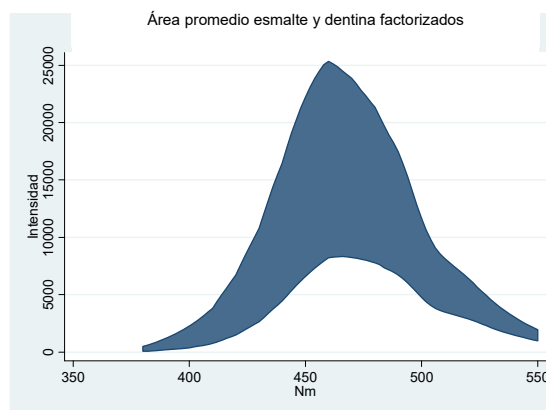
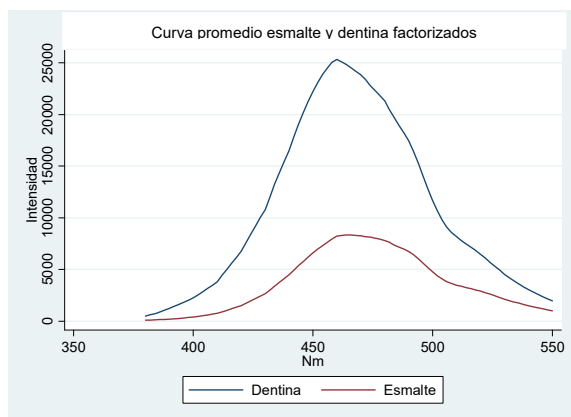
### Curva promedio esmalte sin y con factorizada por la curva de sensibilidad del ojo humano



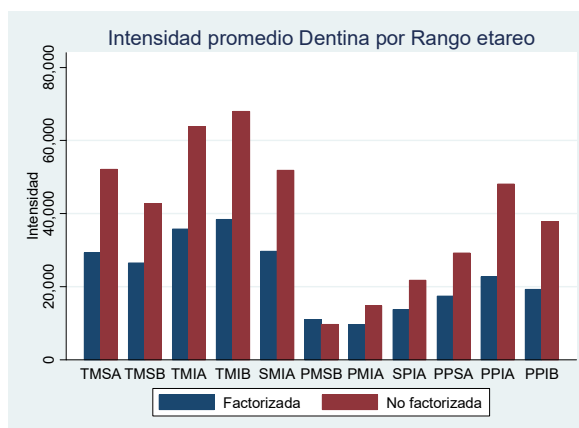
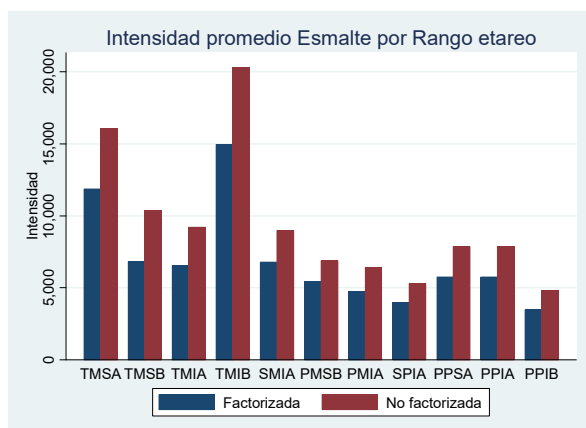
### Curva promedio dentina y esmalte sin factorizar por la curva de sensibilidad del ojo humano



## Curva promedio dentina y esmalte sin factorizar por la curva de sensibilidad del ojo humano



## Combinación intensidad dentina y esmalte factorizado y sin factorizar con la edad



## Comparación Dentina y esmalte respecto a las áreas

Para las áreas se creó una nueva variable que es la proporción entre dentina y esmalte para las áreas factorizadas y no factorizadas.

Variables	Obs	Mean
Proporción factorizado	54	4.474273
Proporción no factorizado	54	5.346839

**Interpretación:** se puede observar que para las áreas factorizadas. El área de la Dentina es en promedio 4.47 veces mayor que el área del Esmalte. Para el caso de las áreas no factorizadas se mantiene esta relación. El área de la dentina es en promedio 5.34 veces mayor que el área del esmalte.

