

MTU= 52395

R 509

TG586a
1987 1000

UNIVERSIDAD DE VALPARAISO
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
ESCUELA DE ODONTOLOGIA
CATEDRA DE BIOLOGIA
VALPARAISO

"ANALISIS CUANTITATIVO DE LOS ESPESORES DE
PREDENTINA COMO UN INDICADOR DE LA ACTIVIDAD
FUNCIONAL DE ODONTOBLASTOS EN INCISIVOS DE RATA"



SEMINARIO DE TESIS PARA OPTAR AL TITULO DE
CIRUJANO - DENTISTA

PROFESOR GUIA: DR. EDUARDO COUVE MONTANE
Profesor Adjunto Cátedra de Biología
Depto. de Biología, Fac. de Medicina
Universidad de Valparaíso.

PROFESOR INFORMANTE: DR. PEDRO GORGOLLON C.
Profesor Adjunto Cátedra de Histología
Depto. de Anatomía, Facultad de Medicina
Universidad de Valparaíso.

COLABORADOR DOCENTE: DRA. ROSA GUERRA MUÑOZ
Profesor Auxiliar Cátedra de Biología
Depto. de Biología, Facultad de Medicina
Universidad de Valparaíso.

ALUMNOS: CARLOS GOMEZ VICENCIO
GONZALO MIRANDA DARRICARRERE

AGRADECIMIENTOS

Nuestro más sincero
agradecimiento a la
Comisión Nacional de
Investigaciones Científicas y
Tecnológicas (CONICET) por
haber otorgado el subsidio
que permitió la realización
de este trabajo. Asimismo,
agradecemos a los señores
doctores J. M. Martínez
y J. C. Rodríguez por
haber colaborado en la
redacción de este trabajo.

A nuestros PADRES .

AGRADECIMIENTOS

Nuestro más sincero reconocimiento al Dr. Eduardo Couve Montané, quien fue verdadero partícipe en el desarrollo de este trabajo. Su valiosa colaboración y apoyo constante nos hizo comprender la real importancia del conocimiento científico que es fundamental en el quehacer de nuestra profesión.

Del mismo modo, queremos agradecer la colaboración del Dr. Juan Eduardo Onetto C., docente de la Cátedra de Odontopediatría, quien voluntariamente ofreció sus servicios en el procesamiento computacional, y, también a la Dra. Rosa Guerra Muñoz, quien nos ayudó en la redacción de este Seminario de Tesis.

A la señorita María Estella Ruiz y al Sr. Fidel Vargas V., Técnicos Laborantes, por su valiosa y desinteresada colaboración en el procesamiento de los materiales histológico y fotográfico.

En forma especial también agradecemos eficiente labor efectuada por la Srta. Marina Muñoz S., Secretaria de la Dirección de Extensión y Comunicaciones de la Universidad de Valparaíso, en la escritura de este Seminario.

I N D I C E

	Pág.
RE SUMEN	1
INTRODUCC ION	4
OBJET IVOS	10
MATER IALES Y METODOS	11
RESULTADOS	19
D I S C U S I O N	31
CONCL US I O N E S	40
B I B L I O G R A F I A	41

RESUMEN

Los odontoblastos son células eminentemente secretoras, con una marcada polaridad estructural que asegura la secreción de su matriz extracelular que es la Predentina.

Diversos investigadores han intentado caracterizar citológica y estructuralmente al odontoblasto en diferentes etapas de su ciclo vital tanto en incisivos de rata (TAKUMA y NAGAI, 1971; RUCH, 1985) como en premolares humanos (COUVE, 1986). Según estos estudios hay diferencias graduales entre las diferentes etapas odontoblásticas en cuanto a forma, tamaño, polaridad celular y cambios en los organelos citoplasmáticos, factores que tienen incidencia en la actividad dentinogénica.

La Predentina, como matriz extracelular producida por el odontoblasto, tiene una estructura molecular compleja, compuesta principalmente por colágeno, proteoglucanos, fosfolípidos y numerosas proteínas interactuantes en el Frente de Mineralización (LINDE, 1985).

El presente trabajo emplea una metodología descriptiva cuyo objetivo fundamental es determinar los espesores de la capa de Predentina en incisivos de rata como indicadores indirectos de la actividad funcional de los odontoblastos.

Se pretende también relacionar las curvas de espesores de Predentina y Dentina para proyectar

los resultados obtenidos a trabajos posteriores y al campo clínico.

Se utilizaron diez incisivos inferiores de rata, realizando cortes a distintos niveles que corresponden a diferentes etapas de la diferenciación odontoblástica. Los cortes se realizaron equidistantes el uno del otro a 4.5 milímetros, partiendo por aquel punto ubicado a 4 milímetros de la zona germinal del incisivo (zona apical) el cual corresponde al inicio de la mineralización dentinaria (WEINREB y col., 1985). Se midieron los espesores de Predentina y Dentina en estos puntos y se relacionaron estas variables entre sí y con respecto a la evolución odontoblástica expresada en términos de tiempo (días) y de desplazamiento odontoblástico (milímetros).

Si bien los espesores de Predentina y Dentina siguen las tendencias obtenidas en trabajos efectuados anteriormente (WEINREB y col., 1985), con el Índice Diario de Aposición de Dentina no sucede lo mismo: se detectó que dicho índice no es un proceso cuantitativamente constante como pensaban los investigadores hasta hace unos pocos años, sino que en su curva se detecta un máximo aposicional a los veinte días de evolución odontoblástica aproximadamente, lo que podría llevar a pensar en una especie de mecanismo de retroinducción en que la matriz extracelular, en este caso la Predentina, controla la actividad funcional de la célula que la secreta.

Los trabajos más recientes postulan la existencia de una íntima relación entre las células y su matriz extracelular, lo cual también es el caso del odontoblasto, aunque aún no están claros los mecanismos precisos que hacen posible esta interacción. Respecto a este último punto, algunos componentes específicos de la matriz extracelular como el heparan sulfato y condroitin sulfato proteoglucano han sido sugeridos como fundamentales en la diferenciación y mantención de estados celulares (CAPLAN, 1987).

De este trabajo se concluye que los espesores de Predentina disminuyen cuantitativamente y los de Dentina aumentan a través del ciclo vital del odontoblasto de incisivo de rata.

Sin embargo, los cambios de espesor de Predentina muestran variaciones cualitativas en sus componentes que es necesario estudiar; posiblemente los cambios en la expresión morfológica de la Predentina pueden ser mejor relacionados con distintos estados morfológicos de los odontoblastos, más que con su actividad funcional.

Se concluye también que el Índice Diario de Aposición de Dentina no es un proceso constante a través del tiempo, sino que alcanza un máximo aposicional a los veinte días de evolución odontoblástica para luego descender.

INTRODUCCION

El proceso aposicional durante la Dentinogénesis se ha abordado desde varios puntos de vista por muchos autores (WEINSTOCK, WEINSTOCK y LEBLOND, 1971; WEINSTOCK y LEBLOND, 1974; PRZYBECK, MOLNAR y SUAREZ, 1979; MILLER, OMURA y SMITH, 1985; WEINREB y col, 1985; COUVE, 1987), en un principio basándose en descripciones morfológicas y actualmente incorporando la computación, dando una visión más amplia y exacta del proceso. Actualmente, al disponer de recursos de laboratorio más perfeccionados se han realizado estudios dinámicos sobre la actividad odontoblástica dando una visión más integral de ella y no parcial como en los estudios iniciales, lo cual tiene la ventaja de que se pueden construir modelos tridimensionales en los que se aprecia la variación de la actividad del odontoblasto a través de su ciclo vital, tomando como patrón de ello los niveles de formación de Dentina y Predentina y la velocidad de recambio odontoblástico (PRZYBECK, MOLNAR y SUAREZ, 1979; WEINREB y col, 1985).

Diversos investigadores han intentado establecer una caracterización citológica y ultraestructural del odontoblasto en diferentes etapas de su ciclo vital en incisivos de rata (TAKUMA y NAGAI, 1971; RUCH, 1985) y premolares humanos (COUVE, 1986). Según estos estudios, hay diferencias entre las etapas odontoblásticas en cuanto a forma, tamaño, polaridad

celular y cambios en los organelos citoplasmáticos. Estas diferencias, aunque ocurren gradualmente, tienen incidencia en la actividad dentinogénica; por ejemplo, se ha llegado a la conclusión de que al alcanzar su plena actividad, los odontoblastos poseen un aparato de golgi y un retículo endoplásmico rugoso (R.E.R.) muy desarrollados, lo que indica una función secretora intensa, con el consiguiente aumento de formación de matriz extracelular (M.E.C.).

El odontoblasto es una célula formadora de matriz extracelular por excelencia, presentando una marcada polarización en cuanto a la producción y movilización de materiales para la formación de Predentina y su posterior mineralización (WEINSTOCK y LEBLOND, 1973, 1974).

La matriz extracelular se compone de colágeno, proteoglucanos, fosfolípidos y numerosas proteínas interactuantes en el Frente de Mineralización (LINDE, 1985), todas ellas productos de secreción de la capa odontoblástica, dándose un activo intercambio de nutrientes y desechos metabólicos entre esta capa celular y el medio extracelular, lo que se presenta resumido en la Fig. 1.

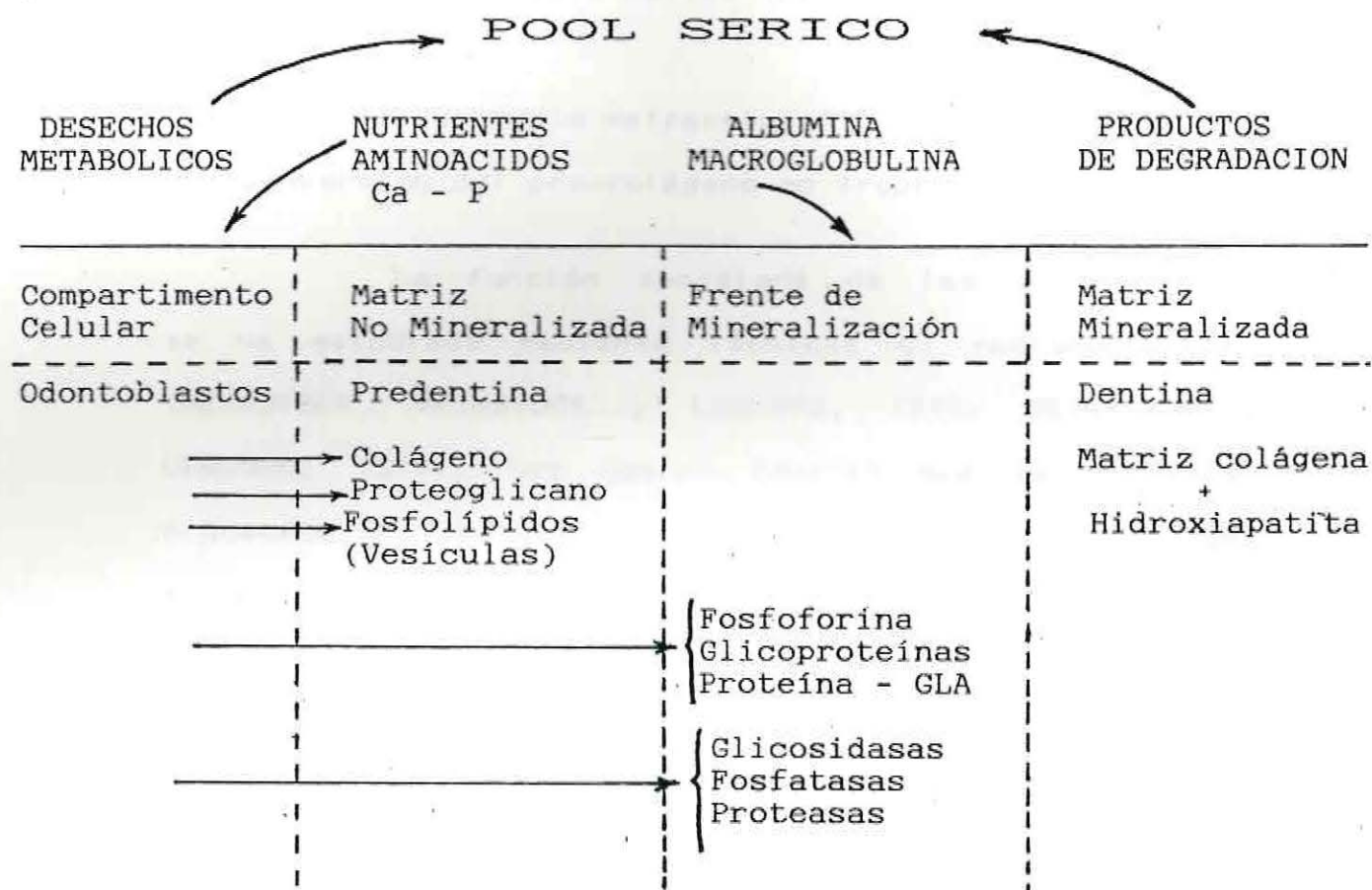


Fig. 1: Se aprecian los productos de secreción involucrados en las diferentes etapas de formación de la matriz extracelular. (Tomado de VEIS, 1985)

El odontoblasto, al ser una célula secretora, posee una estructura interna altamente organizada para la síntesis, transporte y secreción de los diferentes componentes de la matriz orgánica de la Dentina. Esta matriz está constituida en gran parte por colágeno, el cual llega a formarse según la siguiente secuencia propuesta por WEINSTOCK y LEBLOND, 1974 :

- Síntesis de cadenas polipeptídicas (Pro-cadenas alfa)
- Formación de triple hélice (Pro-colágeno)
- Glicosilación
- Secreción al medio extracelular
- Conversión del pro-colágeno en tropocolágeno

La función secretora de los odontoblastos se ha estudiado mediante técnicas de radioautografía (WEINSTOCK, WEINSTOCK y LEBLOND, 1972; WEINSTOCK y LEBLOND, 1973), las cuales revelan que la síntesis, migración y liberación de los precursores del colágeno sigue el clásico patrón intracelular para la secreción de proteínas extracelulares (WEINSTOCK y LEBLOND, 1974).

El procolágeno se organiza en el interior de la célula, en el R.E.R. y aparato de golgi y se transporta en gránulos de secreción hacia la zona proximal del proceso odontoblástico, donde se produce la exocitosis hacia la matriz extracelular. Una vez ocurrido esto se produce la transformación del procolágeno en tropocolágeno, el cual constituye un monómero que al polimerizar forma las fibras de colágeno de la Predentina (WEINSTOCK y LEBLOND, 1974).

Cerca del límite Predentina-Dentina, entre las mallas de fibras de colágeno se encuentran fosfoproteínas a las cuales se les ha asignado un papel importante en la mineralización de la matriz orgánica (WEINSTOCK y LEBLOND, 1973).

La Predentina se ubica siempre en relación a la zona de transición entre cuerpos y procesos odontoblásticos, los que se van alargando a medida que aumenta el grosor de Dentina mineralizada que forma alrededor de cada uno de estos procesos un Túbulo Dentinario.

Siendo la Predentina el componente fundamental del proceso de dentinogénesis, la información referente a su dinámica morfológica y funcional es escasa.

El crecimiento continuo de incisivos de rata ha demostrado ser un excelente modelo para el estudio de la actividad dentinogénica (WEINSTOCK y LEBLOND), 1974. La formación de Dentina comienza con la secreción de una matriz orgánica (Predentina) por los odontoblastos. La mineralización de esta matriz establece un Frente de Mineralización en donde es posible caracterizar los calcoferitos, que constituyen los primeros núcleos de mineralización (Fig. 2).

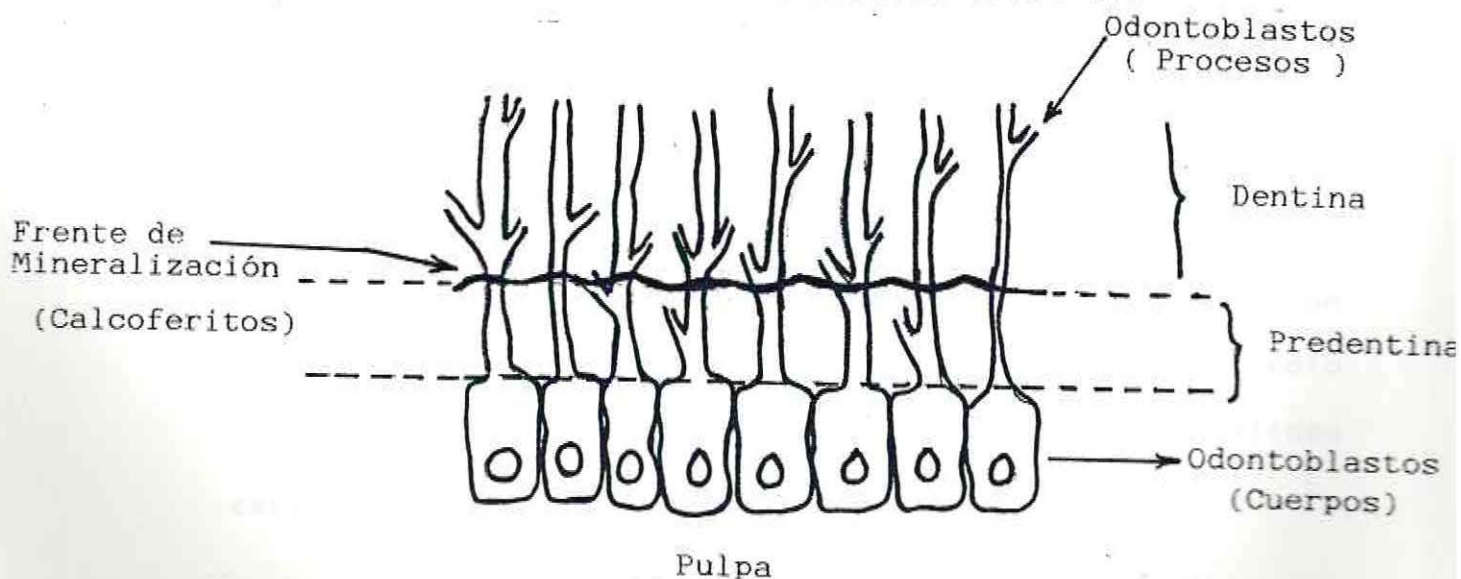


Fig. 2: La capa odontoblástica y su relación con la pulpa dentaria y su matriz extracelular

Dichos núcleos dan una configuración diferente al Frente de Mineralización dependiendo de la región del diente que se analice, según un estudio realizado en premolares humanos (COUVE, 1987). Este estudio indica que las zonas en que la dentinogénesis es más activa (zona apical) el Frente de Mineralización es más irregular morfológicamente debido al mayor tamaño de los calcoferitos, que tienden a coalescer. Esta situación va disminuyendo gradualmente hacia la región coronaria, donde los calcoferitos son más pequeños y la configuración del Frente de Mineralización es más regular.

En resumen, el grosor de la capa de Predentina y la configuración del Frente de Mineralización cambian en función a la actividad dentinogénica durante el desarrollo de premolares humanos (COUVE, 1987).

Dentro de los componentes no colágenos existentes en el Frente de Mineralización son destacables los proteoglucanos y glicosaminoglicanos (G.A.G.), a los cuales se les ha asignado roles muy importantes como agentes mediadores en el metabolismo y diferenciación celulares en estudios realizados en tejidos no dentarios, como por ejemplo una experiencia realizada por CAPLAN (1987) en que se induce la diferenciación de células mesenquimáticas, cultivadas en un medio rico en heparan sulfato y condroitin sulfato, en tejidos cartilaginoso y muscular.

De esta forma es posible determinar diversos

espesores de Predentina, los cuales son indicadores indirectos de la actividad metabólica de los odontoblastos.

El objetivo fundamental de este trabajo es determinar, mediante la aplicación de principios dinámicos a través de una metodología descriptiva, los espesores de la capa de Predentina en incisivos de rata como un indicador de la actividad funcional de los odontoblastos, considerando el antecedente de que son pocos los datos concretos que se poseen en cuanto a los procesos que rigen la dentinogénesis en un individuo vivo.

Se pretende establecer también cómo se relacionan los niveles de Predentina y Dentina, para así proyectarlos en trabajos posteriores a humanos y con esto obtener beneficios clínicos para el tratamiento y protección contra agentes que afecten la integridad del Complejo Pulpo-Dentinario.

MATERIALES Y METODOS

En el presente trabajo se utilizaron diez ratas macho Sprague-Dawley de aproximadamente cuarenta y cinco gramos de peso (treinta días de vida), seleccionadas de las camadas resultantes al cruzar un macho con tres hembras hermanas.

Los animales fueron procesados de acuerdo a los siguientes protocolos:

1) Marcaje y Cálculo del Índice de Erupción:

Al cumplir treinta días de vida, se anestesiaron las ratas con éter mediante inhalación. Inmediatamente se procedió a marcar los incisivos inferiores derechos con una fresa Carbide 00 Komet montada en pieza de mano convencional conectada, a su vez, a un torno dental (20.000 rpm). Se marcó la zona lateral externa de dichos dientes (Fig. 3) aproximadamente dos milímetros bajo el nivel del hueso marginal, comprometiendo el hueso y diente a la vez.

El Índice de Erupción Dentaria (I.D.E.) se obtuvo midiendo después de siete días la distancia entre la marca ósea y la marca desplazada en los incisivos, una vez extraídos éstos. El I.D.E. se calculó aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{I.D.E.} = \frac{\text{Distancia entre marcas (um)}}{\text{Tiempo transcurrido (días)}}$$

2) Fijación y Obtención de las muestras: A

los cuarenta y seis días de vida, una vez que las ratas alcanzaron aproximadamente cien gramos de peso, se anestesiaron mediante inyección intraperitoneal con Pentobarbital Sódico (60 mg/Kg peso).

Se procedió a abrir el tórax y luego se realizó la fijación mediante perfusión intracardíaca, utilizando el siguiente esquema de trabajo: se prepararon dos frascos (1 litro) uno con suero fisiológico y otro con solución fijadora de Karnovsky (Ver al final el detalle de su preparación).

Una vez abierto el tórax se inyecta el ventrículo izquierdo y se rompe la aurícula derecha. Se dejó perfundir con suero por diez segundos para limpiar los vasos sanguíneos y luego se reemplaza la perfusión por solución fijadora por diez minutos, con un volumen de 200 a 300 ml aproximadamente, con un flujo de 0.3 a 0.5 ml/seg.

Cumplida la fijación se disecaron las mandíbulas, se limpiaron y se partieron en la línea media, sumergiéndolas después por dos horas en la misma solución fijadora.

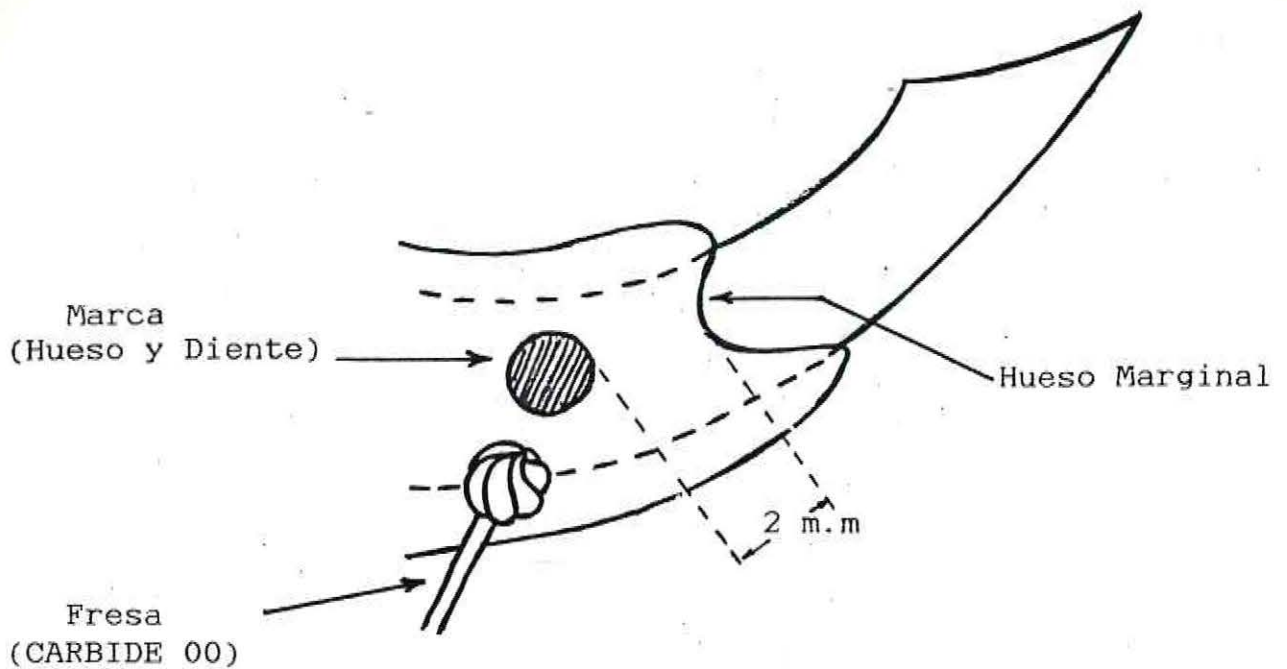


Fig. 3: Zona de marcaje del incisivo para el cálculo del I.D.E.

3) Descalcificación, Inclusión y Tinción:

Los veinte incisivos inferiores se descalcificaron, para lo cual se mantuvieron en una solución al 4.13% de Acido Etilén Diamín Tetraacético (EDTA) más 4.5 gramos de NaOH, ajustado a pH 7.2.

De los 20 incisivos inferiores extraídos, se realizaron cortes transversales en los diez incisivos izquierdos y cortes longitudinales en los diez derechos, de aproximadamente 1 y 10 μm respectivamente para microscopía óptica con el objeto de medir los espesores de las capas de Predentina y Dentina en diferentes etapas del desarrollo dentario.

Los cortes transversales se realizaron

tomando puntos arbitrarios trazados radialmente y equidistantes a 4.5 milímetros (Figs. 4 y 5), partiendo por aquel punto ubicado a 4 milímetros de la zona germinal del incisivo, en el cual comienza la mineralización dentinaria (WEINREB y col, 1985).

En los cortes longitudinales se tomaron estos mismos puntos de referencia y se compararon los resultados.

Las muestras para cortes transversales se incluyeron en Resina EPON 812 (hidrófoba y polimerizable) y fueron teñidas con Azul de Toluidina.

Las muestras para cortes longitudinales se incluyeron en parafina y se tiñeron con tinción convencional Hematoxilina-Eosina, según métodos estándar.

4) Medición de espesores de Predentina y Dentina: Las muestras procesadas se observaron en un microscopio óptico ORTHOMAT (LEITZ).

Las mediciones de espesores de Predentina y Dentina se efectuaron directamente sobre las preparaciones con un ocular micrométrico (LEITZ) estandarizado mediante una reglilla micrométrica.

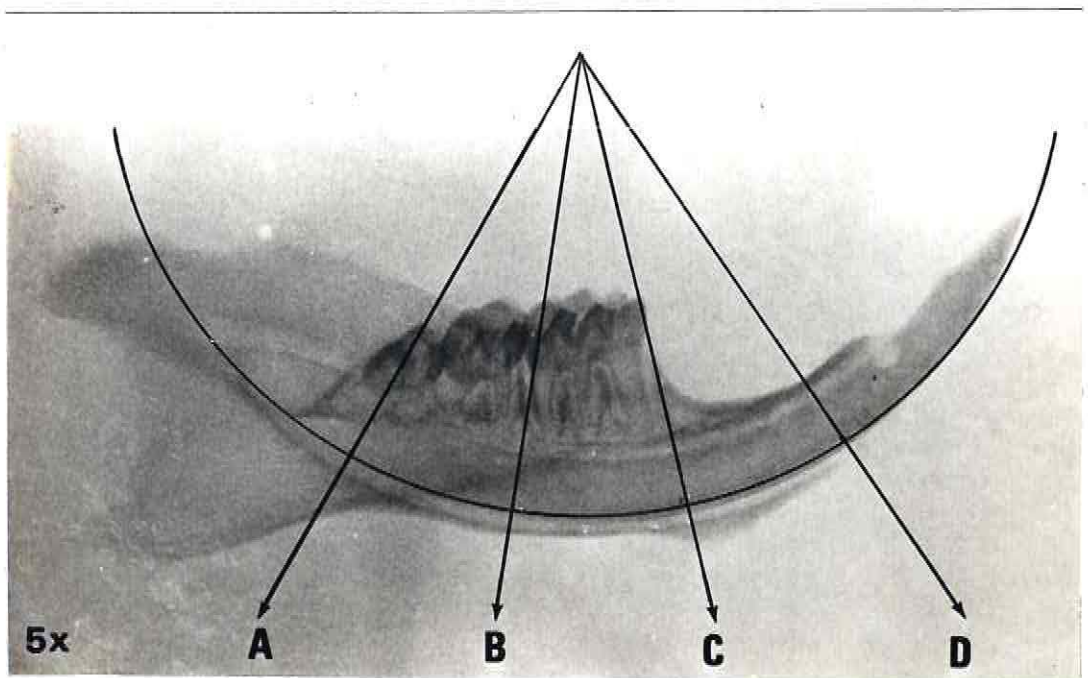
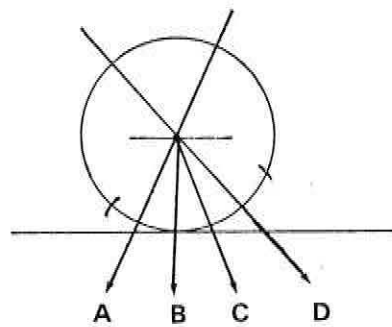


FIG. 4: Esquema de los cortes transversales realizados (A-D). Arriba, la plantilla tamaño natural utilizada para efectuar el marcaje de los puntos a seccionar sobre las preparaciones.

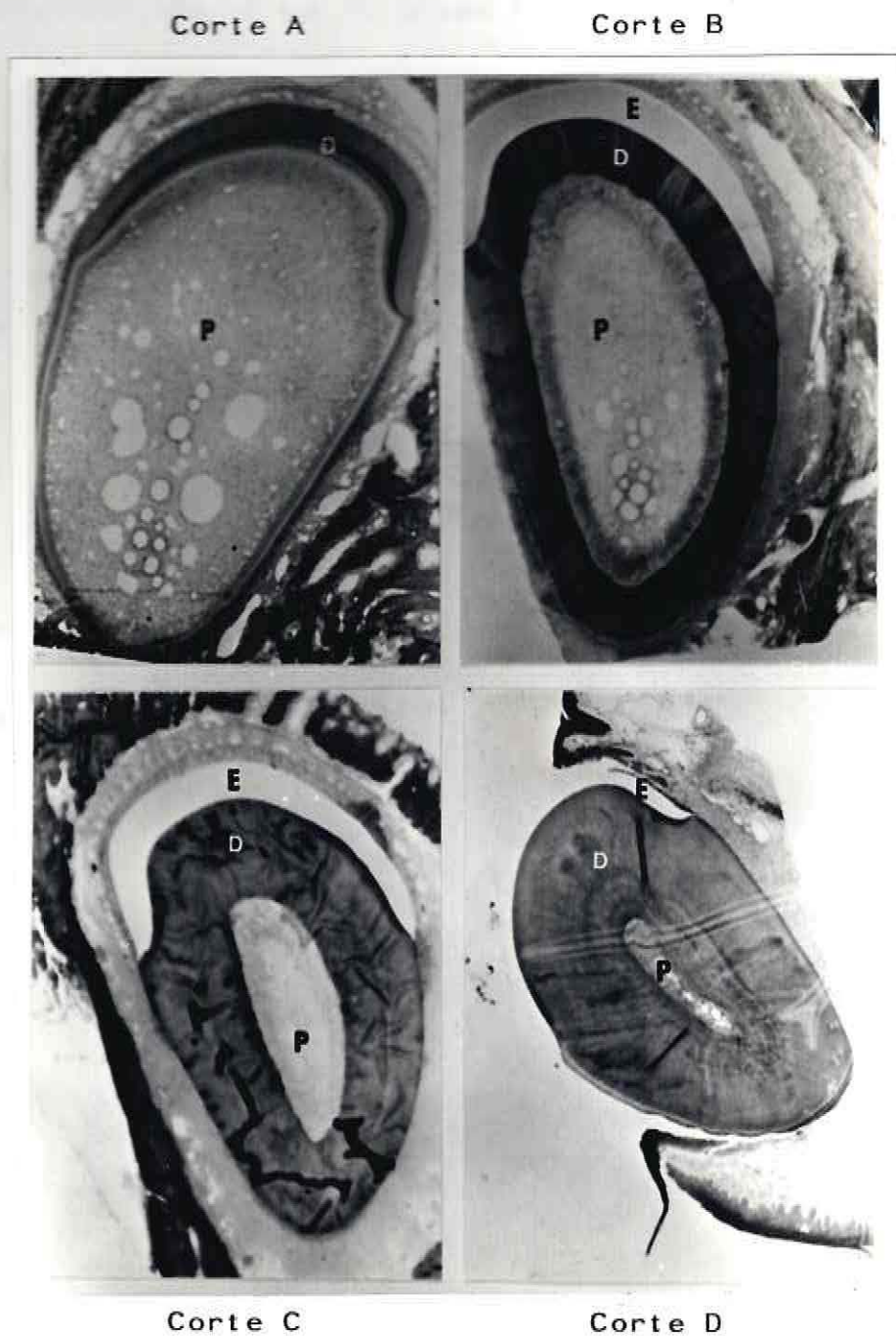


FIG. 5: Secciones de 1 μ m correspondientes a los 4 cortes (A-D) estudiados en el incisivo de rata (tinción Azul de Toluidina, Aumento 40x) E, esmalte; D, dentina; P, pulpa dentaria.

PREPARACION DE LA SOLUCION FIJADORA DE KARNOVSKY.

(KARNOVSKY, 1965)

Se preparan las siguientes soluciones de stock:

1) Solución de Cacodilato al 0,2 M:

21.4. g. de Cacodilato de Sodio. $3H_2O$ disueltos en 500 ml. de agua destilada.

Si se usan otras formas de cacodilato, la fórmula varía como sigue:

16.0 g. de Cacodilato de Sodio, anhidro

13.8 g. de Acido Cacodilato

2) Solución de $CaCl_2$ al 0,1 M:

1.1 g. de Cloruro de Calcio, anhidro disuelto en 100 ml. de agua destilada.

3) Solución buffer de Cacodilato para lavado:

250 ml. de solución de stock de Cacodilato al 0,2 M (1)

35 g. de Sacarosa.

Se disuelve la sacarosa hasta completar 500 ml., con un pH de 7.4.

Preparación de la Solución fijadora final:

Para 100 ml. de fijador:

Agregar 2 g. de paraformaldehído a 25 ml. de agua destilada en un frasco volumétrico. Calentar esta mezcla hasta llegar cerca del punto de ebullición

bajo una campana, pero poco antes de la ebullición, se agregan 2 ó 3 gotas de NaOH 0.1 N para aclarar el soluto.

Enfriar a temperatura ambiente.

A la solución de paraformaldehído enfriada se le agrega:

50 ml. de solución de stock de cacodilato al 0.2 M (1).

10 ml. de Glutaraldehído al 25%.

2 ml. de solución de CaCl_2 (2).

Después de mezclar los componentes mencionados se disuelven 0.05 g. de ácido pícrico, se ajusta a pH 7.3 y se completa hasta 100 ml.

RESULTADOS

1) Índice Diario de Erupción (I.D.E.):

El valor promedio del I.D.E. se obtuvo promediando las mediciones realizadas en diez incisivos marcados según la metodología propuesta. Los valores obtenidos se resumen en la Tabla I. Para fines de cálculo la siguiente fórmula fue aplicada:

$$\text{I.D.E.} = \frac{\text{Distancia promedio entre marcas (um)}}{\text{Tiempo transcurrido (días)}}$$

$$\text{I.D.E.} = \frac{3071,41 \text{ (um)}}{7 \text{ (días)}}$$

$$\text{I.D.E.} = 438,76 \pm 48,95 \text{ um/día}$$

T A B L A I

INDICE DIARIO DE ERUPCION (I.D.E)

Dte N°	Distancia entre marcas (um)	Tiempo transcurrido (días)	I.D.E. (um/día)
1	3285.71	7	469.38
2	3357.14	7	479.59
3	3214.85	7	459.26
4	3428.57	7	489.79
5	3000.00	7	428.57
6	3000.00	7	428.57
7	3500.00	7	500.00
8	2285.00	7	326.42
9	3142.85	7	448.97
10	2500.00	7	357.14
\bar{x}	3071.41		438.74
s_x	389.96		48.95
$cv_x(\%)$	0.126		0.11

2) Índice Diario de Aposición de Dentina (I.D.A.D.):

Se calculó en base a los espesores de Dentina determinados en los puntos A, B, C y D de los cortes transversales. Dichos puntos se encuentran equidistantes a 4500 micrones, lo que equivale a un desplazamiento odontoblástico aproximado de diez días (el I.D.E. se ha aproximado a 450 $\mu\text{m}/\text{día}$).

Utilizando los espesores promedio de Dentina (Tabla II), se obtuvieron los I.D.A.D. entre los puntos A y B (I.D.A.D._{A-B}), B y C (I.D.A.D._{B-C}) y C y D (I.D.A.D._{C-D}). (Fig. 6).

T A B L A II

ESPESORES DE DENTINA μm

Diente n°	Corte A	Corte B	Corte C	Corte D
1	32.0	160.0	294.4	409.6
2	32.0	144.0	292.8	416.0
3	36.0	146.5	320.0	409.6
4	34.0	160.0	273.6	425.6
5	24.0	160.0	300.8	393.6
6	35.2	160.0	275.2	422.4
7	28.0	163.2	320.0	288.0
8	24.0	148.8	320.0	396.8
9	26.4	137.6	294.4	448.0
10	24.0	152.0	275.2	422.4
\bar{x}	29.5	153.2	296.6	403.2
sx	4.41	8.67	17.05	41.1
cv _x (%)	16.2	5.67	6.27	10.73

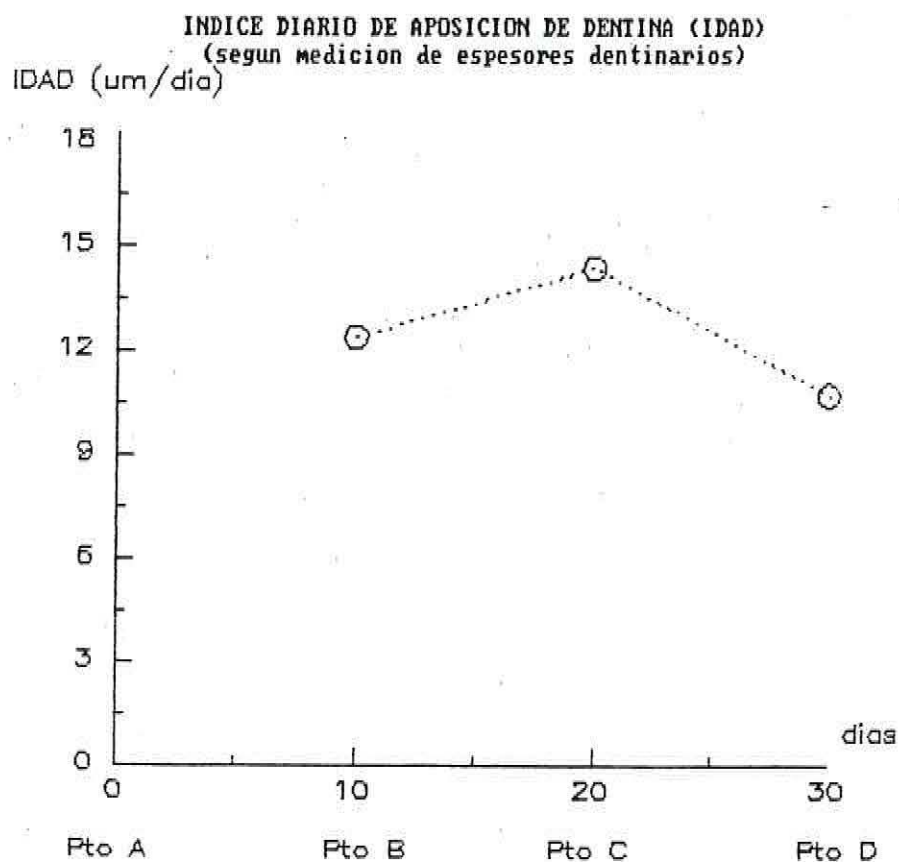


FIG. 6: Representación gráfica del I.D.A.D calculado según los espesores de Dentina obtenidos (Ver Tabla II).

$$\text{I.D.A.D.}_{A-B} = \frac{153,2 - 29,5}{10} \quad (\text{um}) = 12,37 \text{ um/día} \\ (\text{días})$$

$$\text{I.D.A.D.}_{B-C} = \frac{296,6 - 153,2}{10} \quad (\text{um}) = 14,34 \text{ um/día} \\ (\text{días})$$

$$\text{I.D.A.D.}_{C-D} = \frac{403,2 - 296,6}{10} \quad (\text{um}) = 10,66 \text{ um/día} \\ (\text{días})$$

Para dar más significancia a los resultados obtenidos, se utilizó otro método para calcular el I.D.A.D., mediante una fórmula citada por WEINREB y col. (1985), la cual se basa en polinomios de circunferencias y áreas pulpares. La fórmula es

la siguiente:

$$D = \left[\frac{A(x)}{C(x)} - \frac{A(x+h)}{C(x+h)} \right]$$

Donde: D = Espesor diario de Aposición de Dentina

A(x) = Area pulpar a una determinada edad odontoblástica.

C(x) = Circunferencia pulpar a una determinada edad odontoblástica

A(x+h) = Area pulpar al día siguiente

C(x+h) = Circunferencia pulpar al día siguiente

Como las mediciones de Area y Circunferencia Pulpa- res se efectuaron en los cuatro cortes con diez días de intervalo, la fórmula final se dividió por diez para obtener el I.D.A.D.

Los resultados fueron los siguientes (Fig.7):

$$I.D.A.D._{A-B} = 16,71 \text{ um/día}$$

$$I.D.A.D._{B-C} = 23,15 \text{ um/día}$$

$$I.D.A.D._{C-D} = 14,25 \text{ um/día}$$

Para el cálculo de áreas y circunferencias pulpares se procedió como sigue:

Se tomaron fotografías de los cortes en estudio. Luego se efectuaron calcos sobre papel diamante milimetrado de los contornos dentarios pulpares de las fotografías ya enunciadas.

Para cada una de las figuras obtenidas se procedió

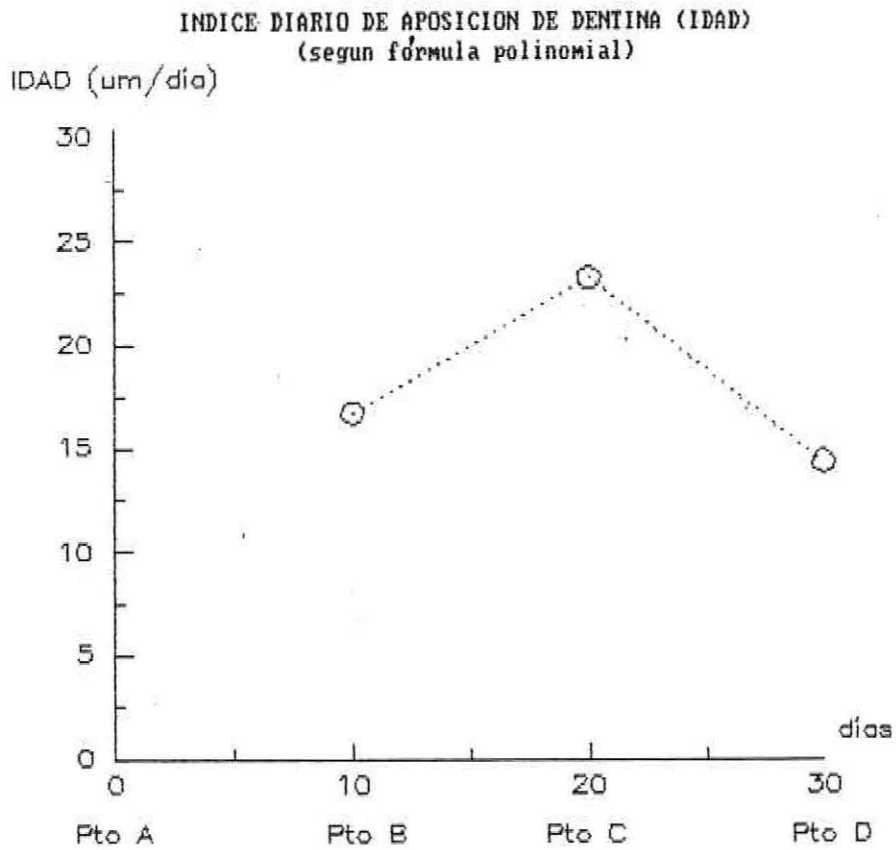


FIG. 7: Representación gráfica del I.D.A.D. calculada según fórmula polinomial. Tomada de WEINREB y col., 1985.

de igual modo: se trazó un eje de coordenadas y se calculó el área bajo la curva de los cuatro cuadrantes resultantes, usando los principios matemáticos básicos del Cálculo Integral, subdividiendo la superficie de cada uno de los cuadrantes en figuras geométricas (rectángulos) de modo que la sumatoria de las áreas de estos rectángulos corresponde aproximadamente al área pulpar total que se quiere obtener.

El perímetro pulpar aproximado se obtuvo de la sumatoria de las longitudes de los trazos resultantes al unir los puntos medios más próximos a la periferia pulpar de los rectángulos trazados (Fig. 8).

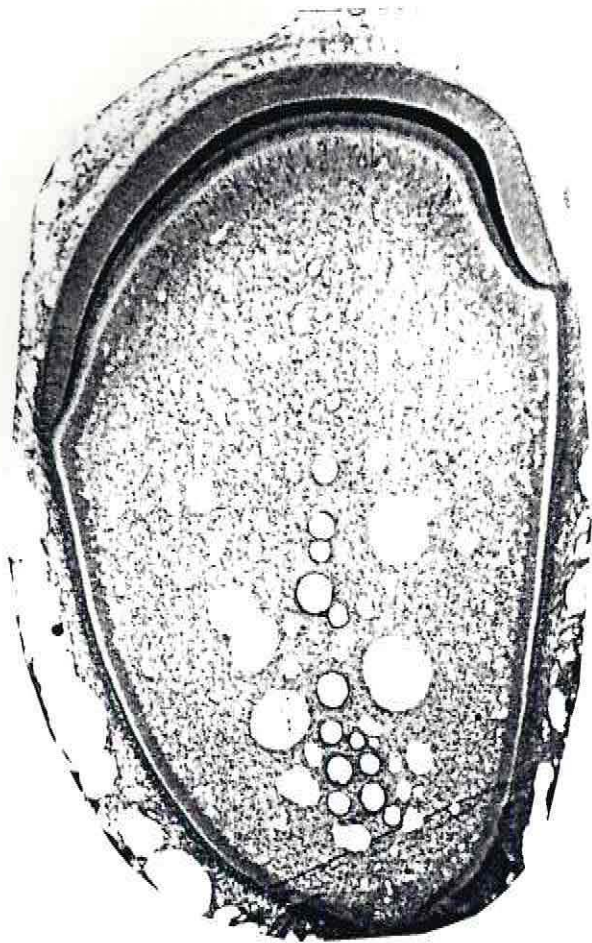
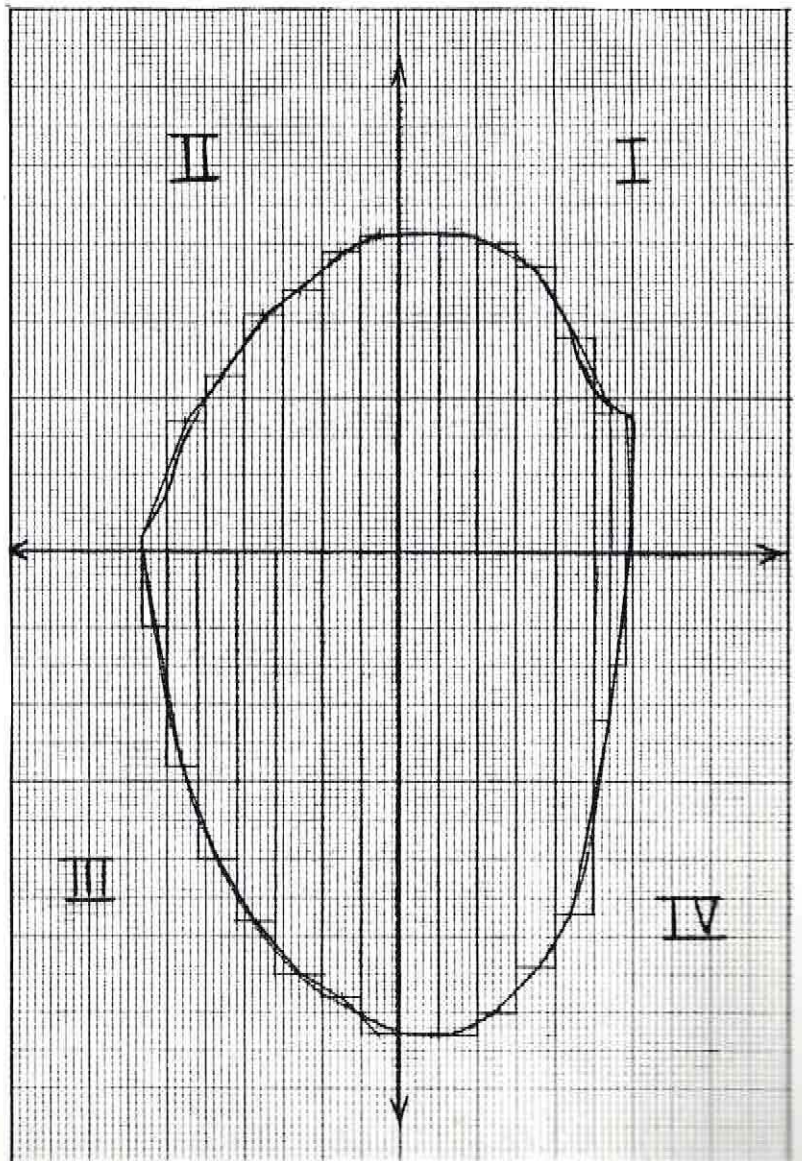


FIG. 8: Microfotografía y diagrama que ejemplifica el método utilizado para el cálculo de área y circunferencia pulpares de uno de los cortes. (Corte A, aumento 64 x).



3) Relación Espesor Predentina - Desplazamiento Odontoblástico (Fig. 9):

Los espesores de Predentina (Tabla III) se obtuvieron de las mediciones efectuadas con un ocular micrométrico directamente de las series de preparaciones de los cuatro cortes transversales para microscopía óptica. Dichos cortes representan estáticamente un proceso dinámico que es el desplazamiento de los odontoblastos, el cual es continuo en incisivos de rata.

Se observó una clara tendencia a una relación inversamente proporcional de los espesores de Predentina con respecto al Desplazamiento Odontoblástico, vale decir, la capa de Predentina disminuye su espesor a medida que los odontoblastos se desplazan desde el centro germinal (ápice) hasta el borde incisal. (figs. 9 y 10).

T A B L A III

ESPESORES DE PREDENTINA μm

Diente n°	Corte A	Corte B	Corte C	Corte D
1	26.60	13.30	6.60	3.30
2	23.30	6.60	3.30	2.64
3	23.10	13.20	9.90	3.30
4	23.10	13.20	9.90	3.30
5	24.75	14.85	9.90	4.95
6	23.10	13.20	11.55	3.30
7	24.75	13.20	9.90	6.60
8	24.75	10.56	—	3.30
9	20.46	13.20	10.89	3.30
10	23.10	13.20	9.90	3.30
\bar{x}	23.70	12.45	8.18	3.73
sx	1.62	2.30	2.73	1.16
cv _x (%)	6.80	18.47	33.37	31.09

RELACION ESPESOR PREDENTINA v/s DESPLAZAMIENTO

ODONTOBLASTICO

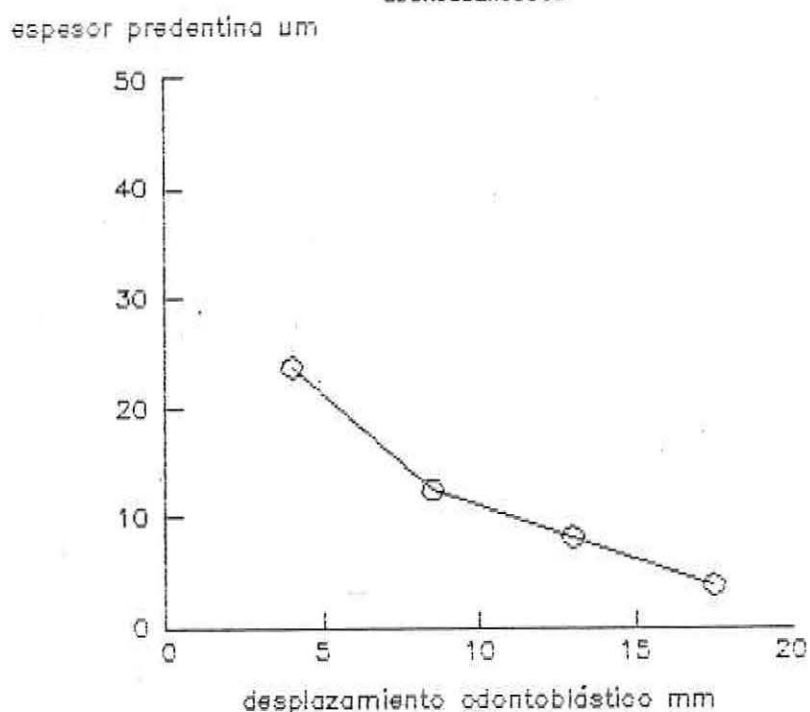


FIG. 9: Representación gráfica que muestra las variaciones de espesores de Predentina en función del Desplazamiento Odontoblástico.

4) Relación Espesores de Predentina-Espesores de Dentina
(En función al Desplazamiento Odontoblástico)

Los espesores de Dentina (Tabla II) se obtuvieron en forma similar a los de Predentina, método ya enunciado.

La Fig. 11 evidencia una relación inversamente proporcional entre los espesores de Predentina y Dentina, en que la Predentina disminuye su espesor y la Dentina lo aumenta con respecto al Desplazamiento Odontoblástico, como fenómeno acumulativo.

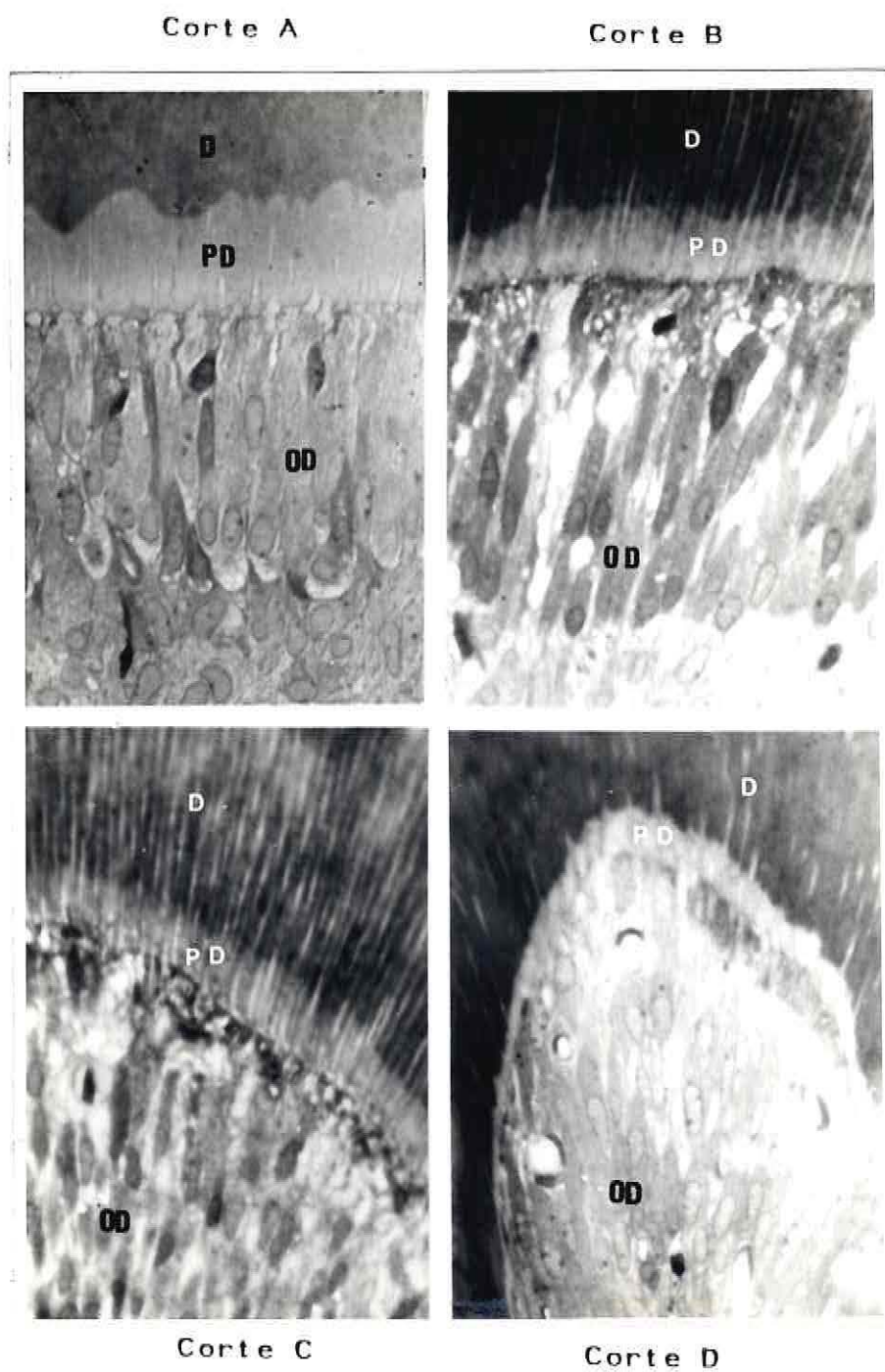


FIG. 10: Microfotografías ópticas de los cuatro cortes (A-D) mostrando variaciones en el espesor de Predentina (P.D), ilustrados en la Fig. 9; D, Dentina; OD. Odontoblastos (aumento 560 x).

RELACION ESPESOR PREDENTINA v/s ESPESOR DENTINA
(En función a desplazamiento odontoblástico)

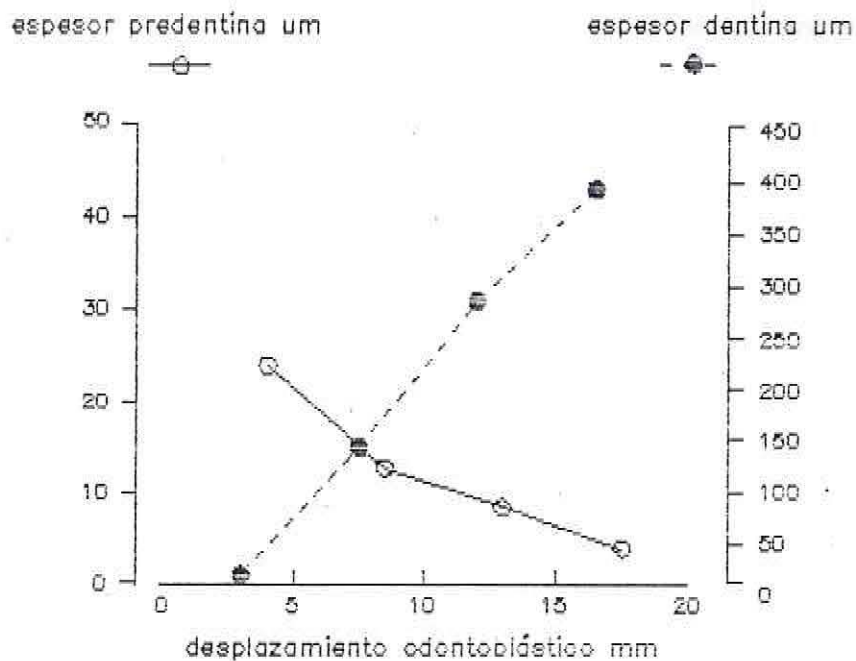


FIG. 11: Representación gráfica de la relación entre los espesores de Predentina y los de Dentina con respecto al Desplazamiento Odontoblástico.

5) Relación Índice Diario de Aposición de Dentina-
Espesores de Dentina (Figs. 12 y 13).

Ambas variables se analizaron en función al tiempo transcurrido, teniendo en cuenta que los I.D.A.D. se calcularon con intervalos de diez días, al igual que los cuatro cortes transversales.

Se apreció en un principio un incremento de las variables con respecto al tiempo, pero luego se detectó un descenso en el I.D.A.D., mientras que el espesor de Dentina siguió su tendencia.

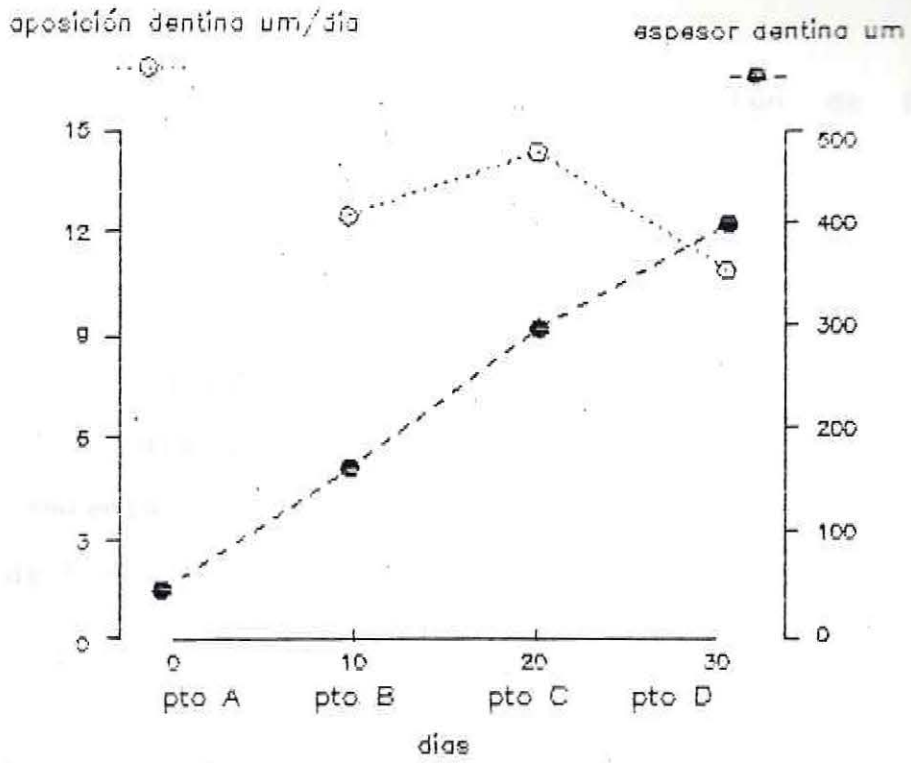


FIG. 12: Representación gráfica de la relación entre el Índice Diario de Aposición de Dentina y los Espesores de Dentina con respecto al tiempo.

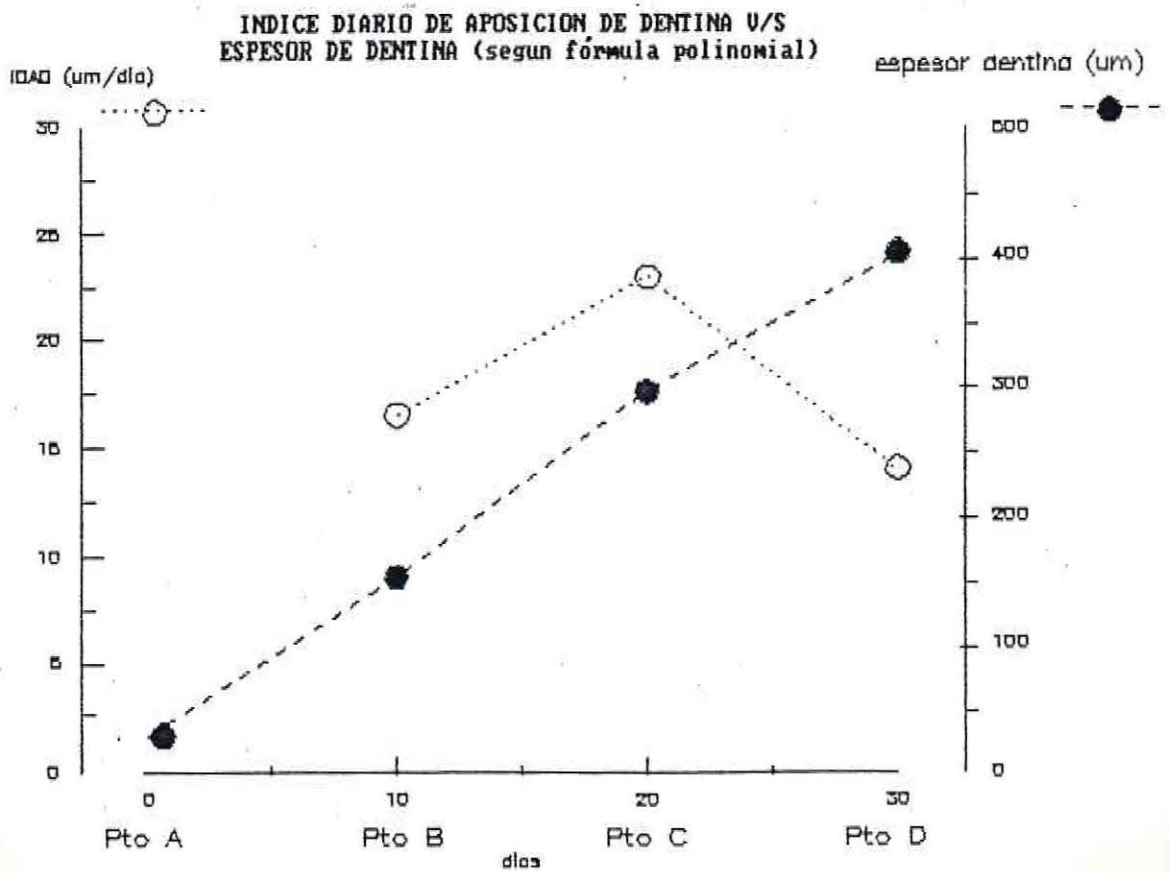


FIG. 13: Representación gráfica de la relación entre el Índice Diario de Aposición de Dentina y Espesores de Dentina según la fórmula polinomial.

6) Relación Índice Diario de Aposición de Dentina-
Espesores de Predentina:

Los espesores de la capa de Predentina (Tabla III) tuvieron en un comienzo una relación inversamente proporcional al I.D.A.D. (Fig. 14), pero en el día 20 el I.D.A.D. alcanza un máximo y luego comienza a descender, mientras que el espesor de Predentina siguió su tendencia inicial.

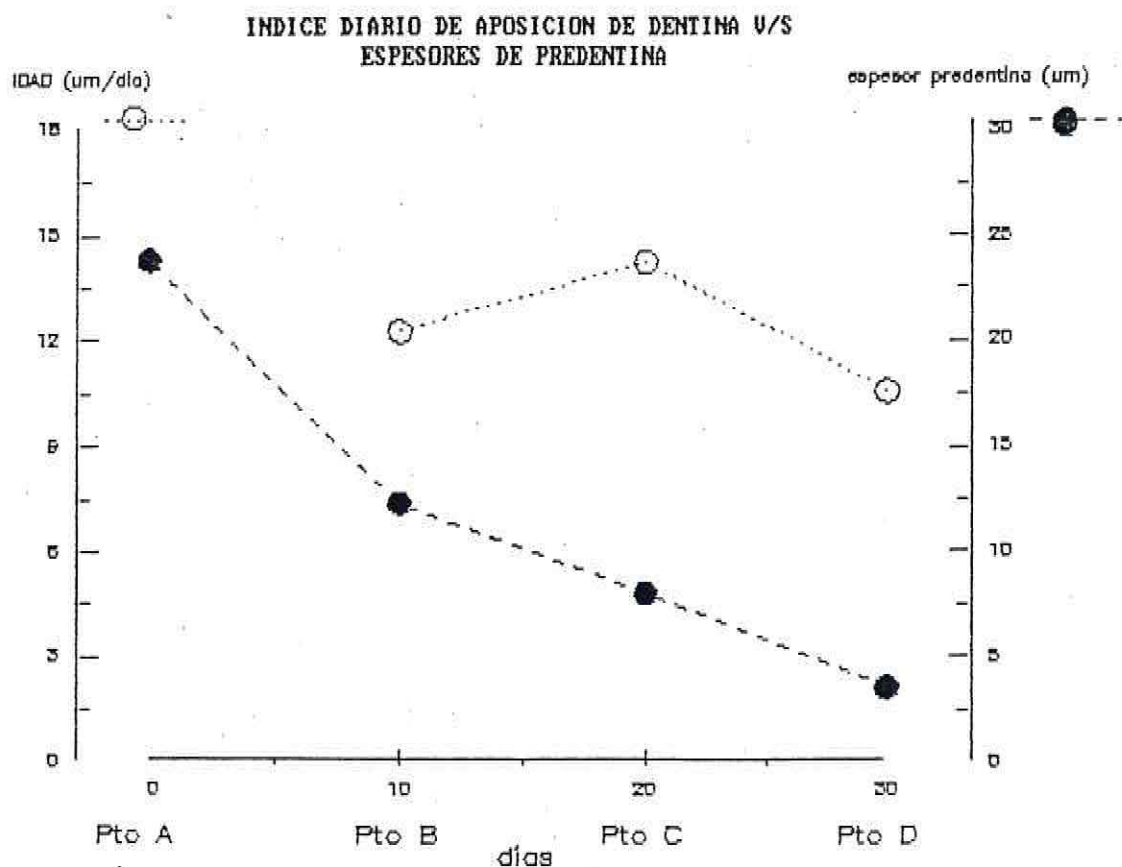


FIG. 14: Representación gráfica de la relación entre el Índice Diario de Aposición de Dentina y los espesores de Predentina.

DISCUSION

La matriz extracelular (M.E.C.) está constituida por una intrincada gama de macromoléculas extracelulares.

Estas moléculas de proteínas y polisacáridos se secretan en forma local y se ensamblan formando una trama organizada en el espacio extracelular de la mayoría de los tejidos (ALBERTS y col. 1984).

Además de actuar como una interfase intercelular estas moléculas también forman estructuras altamente especializadas como cartílago, hueso y dientes. Inicialmente, las células de la Papila Dental, actúan como células secretoras formando su propia matriz extracelular, la cual está constituida fundamentalmente por: Colágeno tipo I, tipo I trímero y tipo III; Glicosaminoglicanos (GAG), Glicoproteínas como por ejemplo, fibronectina (RUCH, 1985).

Las células de la Papila Dental de rata sintetizan Acido Hialurónico, siendo el GAG más preponderante, como también Heparan sulfato, Condroitin 4 y 6 sulfatos. En humanos el GAG más frecuente es el Dermatan sulfato y también se ha detectado Keratan sulfato (RUCH, 1985).

Los GAG forman cadenas que ocupan grandes espacios y forman geles hidratados, los cuales permiten la rápida difusión de moléculas hidrosolubles, la migración de células y el desarrollo de procesos

celulares, aunque la cantidad de GAG en el tejido conjuntivo es inferior al 10% en peso de la cantidad de proteínas fibrosas como colágeno y elastina.

El colágeno es una proteína de mucha rigidez, cuyas fibras forman una complicada red que confiere a la matriz extracelular su resistencia mecánica, especialmente a la tracción, siendo el colágeno insoluble en el medio extracelular.

La fibronectina es una glicoproteína formadora de fibras que se presenta en el espacio extracelular en forma de grandes agregados y tiene la propiedad de favorecer la adherencia celular (ALBERTS y col., 1984; RUCH, 1985; LINDE, 1985). La fibronectina no se encuentra en Dentina (LINDE, 1985).

La diferenciación funcional de los odontoblastos de rata se caracteriza por el aumento en la síntesis de colágenos tipos I y I trímico, así como una supresión de la síntesis de colágeno tipo III. También se detecta un aumento de síntesis de fosfoproteínas y proteínas que contienen γ - carboxiglutamato (LINDE, 1985).

De esta breve reseña de la matriz extracelular y de sus componentes principales se puede concluir que ésta no es una simple mezcla de macromoléculas y agua, sino que estas macromoléculas, aunque en volumen absoluto no son tan importantes tienen un papel preponderante en la dinámica tisular (CAPLAN, 1987).



En los últimos años se ha estudiado con bastante detención la influencia que ejerce la matriz extracelular en los procesos de diferenciación y metabolismo de los tejidos.

En el caso de los odontoblastos, la MEC tiene un rol importante antes y después de la diferenciación de éstos, desempeñando un papel mucho más activo y complejo en la regulación del comportamiento de las células que se hallan en contacto con ella; influye sobre su desarrollo, migración, proliferación, forma y funciones metabólicas. (ALBERTS y col., 1984; CAPLAN, 1987).

En la actualidad se ha dado gran importancia a la membrana basal que separa los compartimientos mesenquimático y epitelial como zona de control de la diferenciación odontoblástica, como también a las células del Epitelio Interno del Organo del Esmalte. (RUCH, 1985). También algunos componentes específicos de la matriz extracelular, como el Heparan sulfato y Condroitin sulfato Proteoglucano, han sido sugerido como fundamentales en la diferenciación y mantención de estados celulares (CAPLAN, 1987).

Dentro de los resultados obtenidos en este trabajo, la mayoría confirma lo hallado en trabajos anteriores y en especial los efectuados más recientemente en cuanto al IDE y variaciones de espesores de Dentina y Predentina en función al tiempo (PRZYBECK, MOLNAR y SUAREZ, 1979; WEINREB y col., 1985).

Se ha identificado como una característica de la diferenciación de los odontoblastos de rata un aumento en la síntesis de colágeno, en especial los del tipo I y I trímico, como también una tendencia a la disminución de síntesis del III.

La Fig. 15 confirma esta tendencia, mostrando un aumento en la densidad de fibras colágenas por micrón cuadrado próximo a la zona de origen de los procesos odontoblásticos en función a la edad odontoblástica. (Figs. 15 y 16).

Hay un aspecto dentro de los resultados obtenidos que no sigue las tendencias claras que se habían pesquisado en las variables analizadas en los puntos anteriores y se refiere a la discrepancia detectada entre la curva de espesores de Dentina y el I.D.A.D. Lo lógico sería esperar una curva ascendente continua en el I.D.A.D., tal como la curva de espesores dentinarios, pero en vez de eso se da un máximo aposicional a los 20 días de actividad secretora de los Odontoblastos y luego un descenso en la aposición. Algo similar sucede al analizar las curvas del I.D.A.D. y de Predentina ilustrada en la Fig. 14. Tampoco se aprecia como es de esperar, un aumento progresivo del I.D.A.D. a medida que van disminuyendo los espesores de Predentina, sino que también se detecta un máximo aposicional que comienza a disminuir después de los 20 días.

Si bien el incremento en el I.D.A.D. en

el día 20 no es cuantitativamente significativo, se detectó su presencia mediante dos diferentes métodos de medición. Se pueden especular explicaciones diferentes para este fenómeno, pero lo que parece más acertado es pensar en que refleja un tipo de interacción entre la matriz extracelular, en este caso la Predentina y los odontoblastos; una especie de mecanismo de retroinducción en que la MEC controla la actividad funcional de la célula que la secreta.

Se ha dicho que la Predentina conserva un espesor absoluto relativamente constante gracias a que se le atribuye un "estado dinámico" (WEINSTOCK y LEBLOND, 1972) en el cual hay un constante intercambio de sustancias entre la Predentina, Dentina y Odontoblastos.

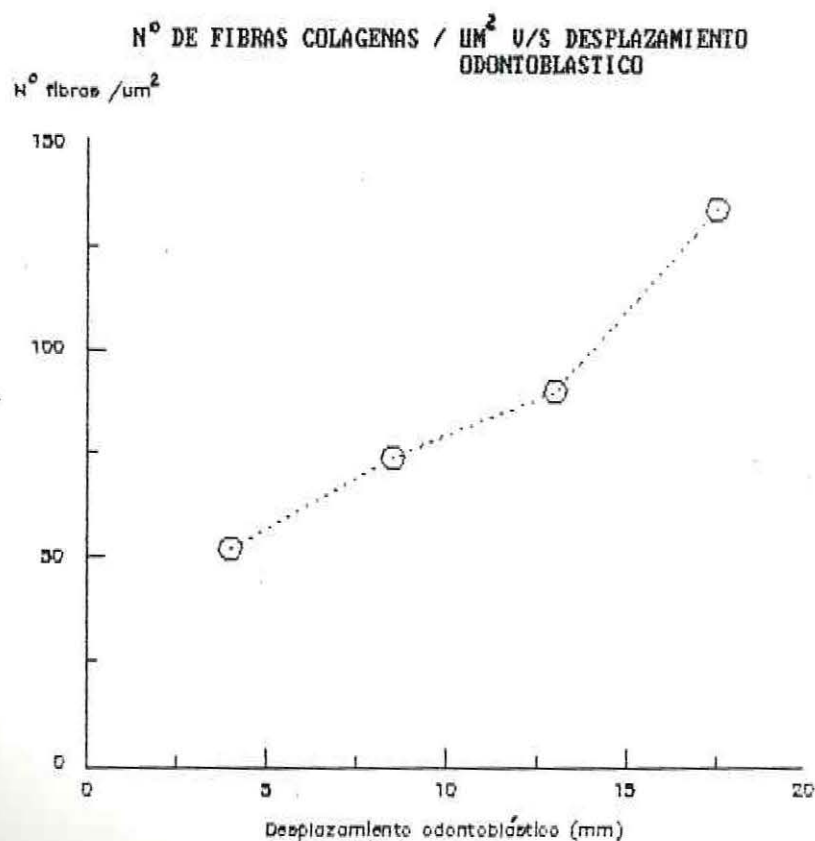


FIG. 15: Gráfico que representa el aumento de densidad de fibras colágenas por μm^2 de la matriz de Predentina, en los diferentes cortes estudiados. (A-D).

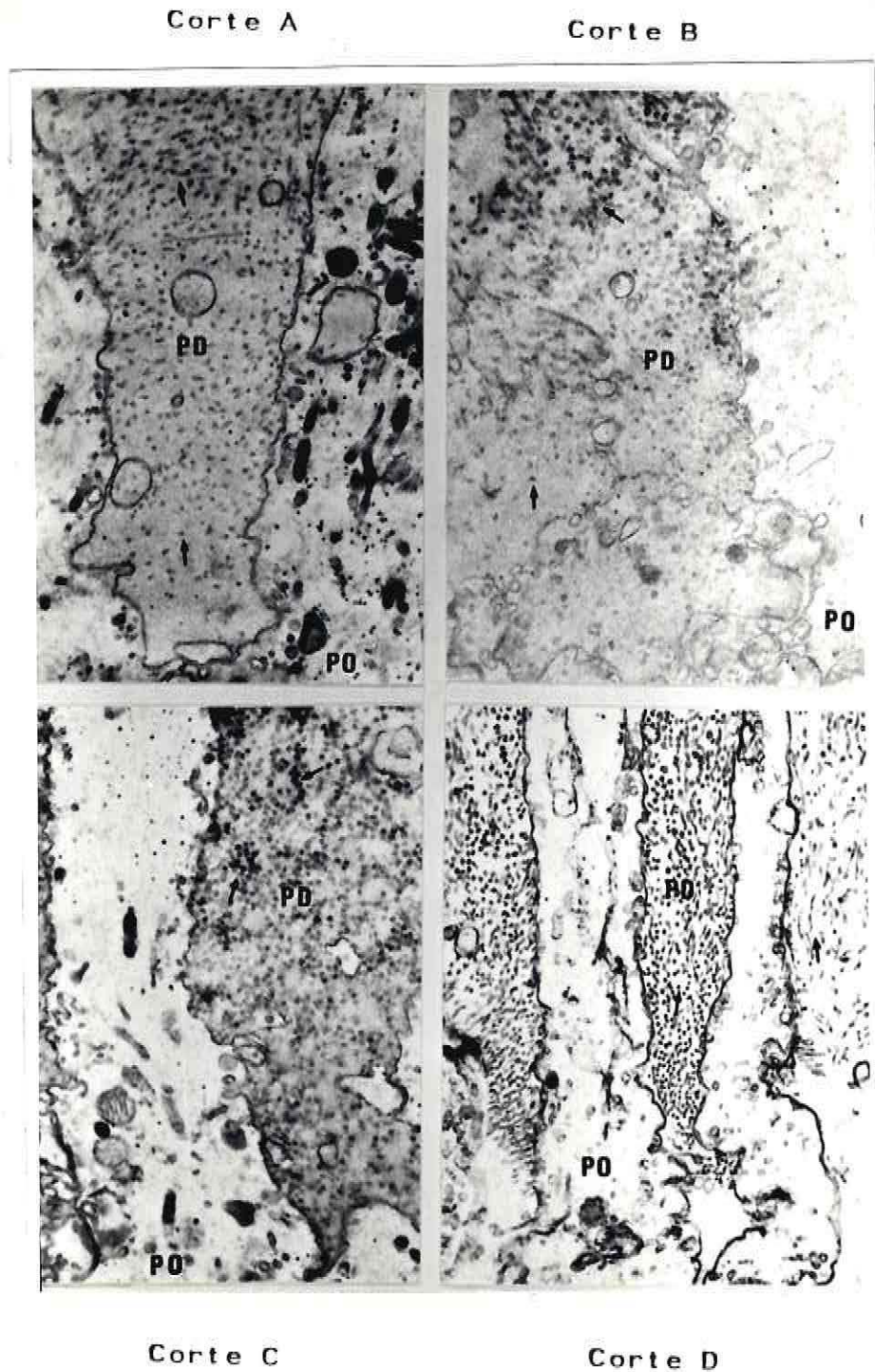


FIG. 16: Microfotografías electrónicas que muestran la matriz de Predentina correspondiente a los 4 cortes en estudio (A-D), PO, proceso odontoblástico; PD, matriz de Predentina; fibras colágenas son señaladas mediante flechas. Se observan las diferencias en densidad de colágeno. (Aumento 14.000 x).

Es poco lo que se sabe en cuanto a los mecanismos ultraestructurales por los cuales se producen estas interacciones célula-matriz, pero hay muchas evidencias que confirman su existencia.

Si el máximo aposicional del I.D.A.D. es un fenómeno único dentro del ciclo odontoblástico se podría interpretar como un mecanismo de retroinducción que lleva al máximo potencial secretor de los odontoblastos, mediado por la matriz extracelular, probablemente en base a moléculas como son los Proteoglicanos, los cuales se desplazan con relativa facilidad. El Odontoblasto, durante su proceso de diferenciación modifica, entre otras estructuras, los receptores de superficie de membrana, en especial en la zona apical, donde se han encontrado, por ejemplo, receptores del tipo Adenil ciclasa (RUCH, 1985), en molares de rata.

Hay receptores de membrana para proteoglicanos como Acido Hialurónico y Condroitin sulfato, los cuales cumplen una importante función en la diferenciación de células mesenquimáticas en condrocitos y células musculares (CAPLAN, 1987).

En el caso de los odontoblastos, puede ser que los proteoglicanos actúen como un sistema capaz de regular la aposición diaria de Dentina cuyo aumento constante ya no sería tan necesario en un odontoblasto ya diferenciado, el cual estabiliza su actividad, para luego disminuirla al seguir envejecien-

do, según un patrón morfogénico previamente establecido.

De cualquier modo, existen aún muchas interrogantes referentes al papel funcional de la MEC y su relación con las células vecinas, aunque está claro que en muchos casos es vital su presencia para la diferenciación celular.

Todos estos aspectos mencionados pueden extrapolarse de alguna manera al campo clínico. En lo que respecta a la matriz extracelular propia de los dientes, que es una de las más especializadas del organismo humano, se puede esperar un nivel de interacción célula-matriz muy compleja y organizada.

Sería interesante estudiar más profundamente, por ejemplo, los mecanismos que controlan los procesos reparativos del complejo Pulpo-Dentinario ante cualquier agente que atente contra su integridad.

Se ha demostrado que los proteoglucanos de la matriz extracelular ejercen un rol inductor claro sobre los procesos de diferenciación de células mesenquimáticas en tejidos vivos. Los proteoglucanos involucrados son el Ac. hialurónico y el condroitin sulfato proteoglucano, los cuales inducen a la célula mesenquimática a diferenciarse en cartílago y tejido muscular (CAPLAN, 1987).

Así como el cartílago es una matriz extracelular altamente diferenciada, también lo son la Predentina y la Dentina, de modo que sería posible

experimentar aprovechando las propiedades inductoras de estos proteoglucanos para diferenciar células mesenquimáticas de la pulpa dentaria en odontoblastos secretores de Predentina en la o las zonas afectadas del complejo Pulpo-Dentinario.

Esto se podría conseguir a través de una substancia de acción biológica similar a las medicaciones que se utilizan en clínica en las terapias de recubrimientos pulpaes. Esta posible substancia medicamentosa podría contener y liberar estos proteoglucanos citados en la zona de aplicación o bien poseer algún compuesto dentro de su estructura que induzca la síntesis de estas macromoléculas de modo que se permita que las células mesenquimáticas pulpaes subyacentes a la zona afectada se diferencien en odontoblastos secretores de Predentina, consiguiéndose así el esperado proceso de reparación tisular.

CONCLUSIONES

- Los espesores de Predentina en incisivos de rata disminuyen con respecto al Desplazamiento Odontoblástico como fenómeno acumulativo, lo que indica una menor actividad funcional del odontoblasto a través de su ciclo vital, siendo necesario un estudio cualitativo de los componentes matriciales de la Predentina.

- Existe una relación inversamente proporcional entre los espesores de Predentina y Dentina, en que la Predentina disminuye su espesor y la Dentina lo aumenta con respecto al Desplazamiento Odontoblástico.

- El Índice Diario de Aposición de Dentina no es un proceso constante con respecto al tiempo; inicialmente sigue una curva ascendente hasta alcanzar un máximo aposicional aproximadamente a los 20 días de evolución, para luego descender.

BIBLIOGRAFIA

A) REFERENCIAS

- CAPLAN, A.I. (1987)
The extracellular matrix is instructive.
Bio essays 5 (3): 129-132

- COUVE, E. (1986)
Ultrastructural changes during the life cycle of human odontoblasts.
Archs oral Biol. 31:643-651

- COUVE, E. (1987)
Changes in the predentin thickness and mineralization front configuration in developing human premolars.
Acta Anat. 130: 324-328

- KARNOVSKY, M.J. (1965)
A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy.
J. Cell Biol. 27: 137A

- LINDE, A. (1985)
The extracellular matrix of the dental pulp and dentin.
J. Dent. Res. 64 (Spec Iss): 523-529

- RUCH, J.V. (1985)
Odontoblast differentiation and the formation of the odontoblast layer.
J. Dent. Res. 64 (Spec Iss): 489-498

- TAKUMA, S. y NAGAI, N. (1971)
Ultrastructure of rat odontoblasts in various stages of their development and maturation.
Archs oral Biol. 11: 993-1011

- THOMAS, R. PRZYBECK, STEPHEN MOLNAR y BRIAN K. SUAREZ (1979)
A three-dimensional model of dentin apposition.
J. Dent. Res. 58 (7): 1735-1739

- WEINREB, M.; STEIGMAN, S.; ZAJICEK, G. y MICHAELI, Y. (1985)
Odontoblast turnover in the impeded and unimpeded rat incisor derived from computerized histomorphometry.
Anat. Rec. 211: 218-225

- WEINSTOCK, M. y LEBLOND, C.P. (1974)
Synthesis, migration and release of precursor collagen by odontoblasts as visualized by radioautography after [^3H] proline administration.
J. Cell Biol. 60: 92-127

- WEINSTOCK, M. y LEBLOND, C.P. (1973)
Radioautographic visualization of the deposition of a phosphoprotein at the mineralization front in the dentin of the rat incisor.
J. Cell Biol. 56: 838-845

- WEINSTOCK, A.; WEINSTOCK, M. and LEBLOND, C.P. (1972)
Autoradiographic detection of ^3H fucose incorporation into glycoprotein by odontoblasts and its deposition at the site of the calcification front in dentin.
Calc. Tiss. Res. 8: 181-189

- WEIS, A. (1985)
The role of dental pulp-thoughts on the session on pulp repair processes.
J. Dent. Res. 64 (Spec Iss): 552-554

- * ALBERTS y col. (1984)
La Célula: 742-764. Editorial Omega

B) LECTURA ADICIONAL

- HAYASHI, Y. (1984)
Crystal growth in calcifying fronte during dentinogenesis.
Acta Anat. 118: 13-17

- MILLER, S.C.; OMURA, T.H. y SMITH, L.J. (1985)
Changes in dentin appositional rates during pregnancy and lactation in rats.
J. Dent. Res. 64 (8): 1062-1064

- MJOR, F.A. (1985)
Dentin - predentin complex and its permeability: pathology and treatment overview.
J. Dent. Res. 64 (Spec Iss): 621-627

* Libro.

- SJOGAARD-PEDERSEN, B. (1985)

Visualization of human predentin and hypomineralized areas of dentin by silver methenamine staining.

Scand. J. Dent. Res. 93: 139-44

- TEN CATE, A.R. (1985)

Reaction paper: session I. odontoblasts.

J. Dent. Res. 64 (Spec Iss): 549-551

