

**UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**COMPARACIÓN DE LA CANTIDAD DE FOSFATOS EN ESMALTE DENTAL
HIPOMINERALIZADO Y NO HIPOMINERALIZADO CON ESPECTROSCOPIA
RAMAN**

**Trabajo de investigación aplicada sometido a la consideración de la
Comisión del Programa de Posgrado en Odontología para optar al grado y
título de Maestría Profesional en Odontología: Odontopediatría**

DRA. YESENIA S. MARCIAGA CAMARGO

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2023

DEDICATORIA

A mis padres

AGRADECIMIENTO

A Dios, solo Él me mantuvo firme, sostuvo mi corazón, fortaleció mi fe, nunca me dejó desfallecer, y me mostró que, a pesar de los obstáculos de la vida, nada puede impedir nuestros sueños.

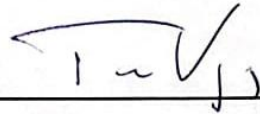
A mis padres, por todo su apoyo, me enseñaron que, a pesar de las dificultades, el éxito se obtiene con esfuerzo, determinación, constancia y trabajo.

A mis compañeros, especialmente a Karen Brenes V.

Dra. Rita Meoño por todo su apoyo.

A mis profesores de posgrado especialmente al Dr. Joseph Ulate, Dr. Adrián Gómez, Dra. Katherine Molina, Dra. Silvia Gudiño, quienes me educaron a ser la excelente profesional que soy hoy día y me inspiraron amar la Odontopediatría, así también, por su apoyo en todo el proceso para lograr este objetivo.

“Este trabajo final de investigación aplicada fue aceptado la Comisión del Programa de Posgrado en Odontología de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado y título de Maestría Profesional en Odontología: Odontopediatría”



**MSc. Tatiana Vargas Koudriavtsev,
Representante de la Decana
Sistema de Estudios de Posgrado**



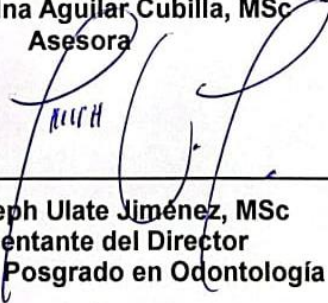
**MEd. Adrián Gómez Fernández
Director**



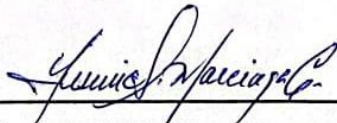
**MEd. Katherine Molina Chávez, MSc
Asesora**



**MSc. Ariadna Aguilar Cubilla, MSc
Asesora**



**MSc. Joseph Ulate Jiménez, MSc
Representante del Director
Programa de Posgrado en Odontología**



**Yesenia S. Marciaga Camargo
Sustentante**

TABLA DE CONTENIDO

Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento	iii
Hoja de aprobación	iv
Tabla de contenido.....	v
Resumen.....	vi
Abstract.....	vii
Contenido	viii
Índice de cuadros.....	x
Lista de imágenes.....	xi
Lista de gráficas	xii

RESUMEN

Comparación de fosfatos en esmalte dental hipomineralizado y no hipomineralizado con espectroscopía Raman

Introducción: El esmalte dental puede mostrar cambios en su composición química, en el cual el fosfato es el mineral representativo del componente hidroxiapatita, y durante la etapa de mineralización puede verse interrumpida su formación, afectando la calidad del esmalte, causando defectos cualitativos como es la hipomineralización molar (HM). En esta investigación se utiliza la espectroscopia Raman para analizar y comparar las cantidades de fosfato en el esmalte dental sano y en el esmalte dental hipomineralizado. La desorganización de los cristales de hidroxiapatita con la reducción de la cantidad de fosfatos en este esmalte, puede llevar a una deficiencia en la adhesión de cualquier material restaurador, y conocer la cantidad de fosfatos según el color del esmalte hipomineralizado, puede determinar la elección más adecuada del tratamiento y el éxito del mismo. Por lo tanto, es de nuestro interés conocer la presencia de fosfatos en el esmalte dental sano e hipomineralizado a través de las diversas manifestaciones clínicas: blanco-crema, amarillo, marrón y con ruptura del esmalte. El presente estudio tiene como objetivo comparar la cantidad de fosfatos del esmalte dental sano y en esmalte con hipomineralización molar, mediante el uso de la espectroscopía Raman. **Materiales y métodos:** Estudio experimental, fueron preseleccionados 22 dientes extraídos, asociados como esmalte dental HM, con manifestaciones clínicas de color: blanco-crema, amarillo, marrón y con fractura del esmalte dental. Se eligen 16 muestras de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión. Se limpian las muestras y luego almacenadas en agua destilada hasta su análisis con la espectroscopía Raman. Luego de analizadas mediante espectroscopía Raman, cada espectro obtenido de una muestra, fue importado al software Spectragriph® v1.2.16 (Dr. Fiedrich Menges), el cual permite graficar el espectro Raman de cada muestra y extraer los valores de cada pico espectral de fosfatos, que refleja de una manera objetiva la intensidad de la señal de la molécula analizada. Aprobado por el Comité de ética en investigación de la Institución. **Resultados:** Se comparan los promedios de cada población estudiada (esmalte sano no HM vs esmalte HM). Se utiliza la prueba T de Students para la comparación de todas las muestras, el cual mostró un valor de significancia bilateral de 0.10, mayor a 0.05, con un 95% de confianza, y luego se aplicó el análisis de varianza ANOVA para la comparación en grupos según el color; demostrando una diferencia significativa ($p < 0,05$) entre el esmalte sano no HM y el esmalte HM. **Conclusiones:** Se determina la presencia del fosfato mediante la espectroscopía Raman en el esmalte dental HM y sano, con una reducción del 55% de fosfatos en el esmalte HM. En los grupos por colores hubo pérdida de fosfatos: el 85% en el esmalte HM marrón con fractura del esmalte, 81% el amarillo y 66% el esmalte con HM blanco crema. **Palabras claves:** hipomineralización molar incisivo, hipomineralización molar, espectroscopía Raman, hidroxiapatita, fosfatos del esmalte, minerales del esmalte dental.

ABSTRACT

Comparison of phosphates in hypomineralized and non-hypomineralized tooth enamel with Raman spectroscopy

Introduction: Dental enamel can show changes in its chemical composition, in which phosphate is the representative mineral of the hydroxyapatite component, and due to certain events that occur during the mineralization stage, its formation can be interrupted, affecting the quality of enamel, causing qualitative defects such as molar hypomineralization (HM). In this investigation, Raman spectroscopy is used to analyze and compare the amounts of phosphate in healthy dental enamel and in hypomineralized dental enamel. The disorganization of the hydroxyapatite crystals with the reduction in the amount of phosphates in this enamel can lead to a deficiency in the adhesion of any restorative material, and knowing the amount of phosphates according to the color of the hypomineralized enamel can be important for the most appropriate choice of treatment and determine its success. Therefore, it is of our interest to know the presence of phosphates in healthy and hypomineralized dental enamel through the various clinical manifestations: white-cream, yellow, brown, and enamel breakdown. The present study aims to compare the amount of phosphates in healthy dental enamel and in enamel with molar hypomineralization, through the use of Raman spectroscopy. **Materials and methods:** Experimental study, 22 extracted teeth were pre-selected, associated with HM dental enamel, with clinical manifestations of color: white-cream, yellow, brown and with dental enamel fracture. 16 samples are chosen according to the inclusion and exclusion criteria. Samples are cleaned and then stored in distilled water until analysis with Raman spectroscopy. After being analyzed by Raman spectroscopy, each spectrum obtained from a sample was imported into the Spectragraph® v1.2.16 software (Dr. Fiedrich Menges), which allows the Raman spectrum of each sample to be plotted and the values of each phosphate spectral peak to be extracted. , which objectively reflects the signal intensity of the analyzed molecule. Approved by the Research Ethics Committee of the Institution. **Results:** The averages of each studied population (healthy non-HM enamel vs HM enamel) are compared. The Students' T test was used to compare all the samples, which showed a bilateral significance value of 0.10, greater than 0.05, with 95% confidence, and then the ANOVA analysis of variance was applied for the comparison in groups according to color; demonstrating a significant difference ($p < 0.05$) between healthy non-HM enamel and HM enamel. **Conclusions:** The presence of phosphate is determined by Raman spectroscopy in HM and healthy dental enamel, with a 55% reduction of phosphates in HM enamel. In the color groups there was loss of phosphates: 85% in brown HM enamel with enamel fracture, 81% in yellow and 66% in enamel with cream white HM.

Keywords: incisor molar hypomineralization, molar hypomineralization, Raman spectroscopy, hydroxyapatite, enamel phosphates, dental enamel minerals.

CONTENIDO

Capítulo 1. Introducción	
1.1 Antecedentes.....	1
Capítulo 2. Marco teórico	9
2.1 Embriogénesis y Odontogénesis.....	9
2.1.1 Formación del esmalte.....	9
2.1.2 Amelogénesis: Características del esmalte dental.....	12
2.1.2.1 Composición química del esmalte dental.....	16
a. Matriz orgánica.....	17
b. Matriz inorgánica.....	19
c. Agua.....	20
2.1.3 Defectos del desarrollo del esmalte	20
a. Factores ambientales /locales.....	22
b. Factores sistémicos	22
c. Factores genéticos.....	23
2.2 Esmalte dental hipomineralizado.....	23
2.2.1 Historia	23
2.2.2 Etiología.....	23
2.2.3 Características clínicas del esmalte hipomineralizado.....	25
2.2.4 Características estructurales del esmalte hipomineralizado.....	27
2.2.5 Características histológicas	28
2.2.6 Criterios Diagnósticos.....	29
2.2.7 Diagnóstico diferencial.....	32
2.2.8 Tratamiento.....	36
2.3 Microscopía Raman.....	39
2.3.1 Historia del efecto Raman.....	39
2.3.2 Descripción de la microscopía Raman.....	40
2.3.3 Ventajas del uso de la espectroscopía Raman.....	44
2.3.4 Características, beneficios y aplicaciones.....	45
Capítulo 3. Planteamiento del problema y Justificación.....	49
4. Pregunta de investigación.....	50

5. Objetivos.....	50
5.1 Objetivo general.....	50
5.2 Objetivos específicos.....	50
6. Hipótesis.....	50
6.1 Hipótesis nula	50
6.2 Hipótesis de investigación	50
Capítulo 4. Marco Metodológico.....	51
7. Marco metodológico.....	51
7.1 Diseño del estudio.....	51
7.2 Lugar de realización del estudio.....	51
7.3 Determinación del tamaño de la muestra.....	51
7.4 Criterios de selección (inclusión - exclusión - eliminación).....	51
7.5 Operacionalización de las variables.....	52
7.5.1 Definición conceptual y operacional de las variables.....	52
7.5.2 Variables dependientes y variables independientes.....	52
7.6 Consideraciones Éticas.....	53
8. Marco Experimental.....	53
8.1 Metodología - descrito por etapas y en orden cronológico.....	53
8.1.1 Etapa 1. Selección de las muestras.....	53
8.1.2 Etapa 2. Evaluación y preparación de las muestras.....	56
8.1.3 Etapa 3. Evaluación con la espectroscopía Raman ...	58
8.1.3.1 Escala de medición.....	59
8.1.3.2 Mapeo Raman.....	59
8.1.3.3 Preprocesamiento de datos.....	61
8.1.3.4 Análisis de bandas e integrales de banda.....	62
8.2 Análisis estadístico.....	63
9. Resultados.....	64
10. Discusión.....	91
Capítulo 4. Conclusiones y recomendaciones.....	97
11. Conclusiones.....	97

12. Recomendaciones.....	99
13. Reconocimientos.....	99
14. Referencia Bibliográfica.....	100
15. Anexos	112

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación y características clínicas según los grados de severidad.....	38
Cuadro 2. Lesiones de HM según su color y severidad, según Biondi et al. en el 2010.....	38
Cuadro 3. Clasificación según la extensión de los tejidos afectados por HM, según Biondi y cols, 2010.....	39
Cuadro 4. Características clínicas para la determinación del diagnóstico diferencial de la HMI.....	40
Cuadro 5. Características clínicas para la determinación del diagnóstico diferencial de la HMI.....	41
Cuadro 6. Especificaciones del ProRaman-L High Performance Raman Analyzer.....	53
Cuadro 7. Cuadro comparativo de valores para la pieza 1.....	67
Cuadro 8. Cuadro comparativo de valores para la pieza 2.....	68
Cuadro 9. Cuadro comparativo de valores para la pieza 3.....	69
Cuadro 10. Cuadro comparativo de valores para la muestra 4.....	70
Cuadro 11. Cuadro comparativo de valores para la muestra 5.....	71
Cuadro 12. Cuadro comparativo de valores para la muestra 6.....	72
Cuadro 13. Cuadro comparativo de valores para la muestra 7.....	73
Cuadro 14. Cuadro comparativo de valores para la muestra 8.....	74
Cuadro 15. Cuadro comparativo de valores para la muestra 9.....	75
Cuadro 16. Cuadro comparativo de valores para la pieza 10.....	76
Cuadro 17. Cuadro comparativo de valores para la muestra 11.....	77
Cuadro 18. Cuadro comparativo de valores para la muestra 12.....	78
Cuadro 19. Cuadro comparativo de valores para la muestra 13.....	79

Cuadro 20. Cuadro comparativo de valores para la pieza 14.....	80
Cuadro 21. Cuadro comparativo de valores para la muestra 15.....	81
Cuadro 22. Cuadro comparativo de valores para la muestra 16.....	85
Cuadro 23. Cuadro resumen comparativo de los valores promedio de las muestras.....	83

LISTA DE IMÁGENES

Figura 1. Imágenes SEM. Esmalte normal con prismas distintos bien organizados (aumento original 2000).....	22
Figura 2. Las etapas o períodos que constituyen el ciclo vital del ameloblasto.....	25
Figura 3. Estadio terminal o de folículo dentario (apositional).....	26
Figura 4. Esmalte hipomineralizado con áreas interprismáticas amplias.....	27
Figura G5. Diagrama como ilustración para validar los diferentes parámetros de tratamientos posibles en caso de HIM severa.....	38
Figura 6. C. V. Raman.....	39
Figura 7. Diagrama energético en el que se muestran las transiciones entre estados energéticos para diferentes interacciones luz-materia.....	41
Figura 8. Bandas Rayleigh, Raman Stokes y Raman anti-Stokes.....	43
Figura 9. Espectro Raman habitual, compuesto por las bandas Raman Stokes.....	43
Figura 10. ProRaman L.....	46
Figura 11. Flujograma de selección de la muestra.....	56
Figura 12 Flujograma de preparación de la muestra.....	58
Figura 13. Pulido del esmalte con cepillo para profilaxis.....	58
Figura 14. Remoción de cálculo con cavitron.....	59
Figura 15. Análisis de la muestra con el láser del espectrómetro Raman.....	59
Figura 16. Datos de cada muestra son importados y procesados en el equipo del espectro Raman.....	60

Figura 17. ProRaman L (marca: WiTec, modelo: Alpha 300 RA) equipado con un láser cuya longitud de onda fue de 785 nm, modelo PRO-L7A2S-10.....	61
Figura 18. Muestra dental colocada sobre un portamuestras del microscopio con ayuda de cera.....	62
Figura 19. Anexos: Fotos de muestras de estudio.....	112

LISTAS DE GRÁFICAS

Gráfico 1. Comparación de valores para la muestra 1.....	66
Gráfico 2. Comparación de valores para la muestra 2.....	67
Gráfico 3. Comparación de valores para la muestra 4.....	68
Gráfico 4. Comparación de valores para la muestra 5.....	69
Gráfico 5. Comparación de valores para la muestra 6.....	70
Gráfico 6. Comparación de valores para la muestra 7.....	71
Gráfico 7. Comparación de valores para la muestra 8.....	72
Gráfico 8. Comparación de valores para la muestra 9.....	73
Gráfico 9. Comparación de valores para la muestra 11.....	74
Gráfico 10. Comparación de valores para la muestra 12.....	75
Gráfico 11. Comparación de valores para la muestra 13.....	76
Gráfico 12. Comparación de valores para la muestra 15.....	77
Gráfico 13. Comparación de valores para la muestra 16.....	78
Gráfico 14. Comparación de valores para la muestra 20.....	79
Gráfico 15. Comparación de valores para la muestra 21.....	80
Gráfico 16. Comparación de valores para la muestra 22.....	81
Gráfico 17. Resumen comparativo de los valores promedio de las muestras.....	82
Gráfico 18. Resumen comparativo según el color del esmalte HM.....	83

CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN

Desde décadas anteriores la hipomineralización incisivo molar o hipomineralización molar (conocidas como HIM y HM respectivamente por sus siglas en español, y Molar Incisor Hypomineralization MIH por sus siglas en inglés), es reconocida como una entidad clínica en algunos sitios del mundo; sin embargo, en muchos países su prevalencia es aún desconocida.³

Koch et al, en 1987 utilizaron el término Hipomineralización Idiopática del Esmalte, luego que, en la década de 1970, estudios de Escandinavia, Suecia, describieran por primera vez un patrón de hipomineralización con una prevalencia del 15.4% que afectaba principalmente a los primeros molares e incisivos permanentes.^{3, 1, 10, 87}

Weerheijm y Mejàre, presentaron una propuesta, en el 6° Congreso de la Academia Europea de Odontología Pediátrica (EAPD) en Atenas 2003, en el cual sugieren la terminología de HIM para describir el cuadro clínico de hipomineralización de uno o cuatro molares permanentes y en ocasiones se puede asociar con la presencia de opacidades o defectos en cualquier incisivo permanente afectado, definiendo así, una patología de etiología desconocida, término que fue aceptada y estandarizada, utilizándose desde entonces para describir una condición caracterizada por la hipomineralización de origen sistémico del esmalte.^{3,6,78} La afectación simultánea de molares e incisivos se considera la forma más severa de hipomineralización, sin embargo si solo presenta las opacidades demarcadas en los incisivos, sin involucrar a uno o más de los cuatro molares, no deberá ser considerado como HM/HIM.^{3, 78}

Nuevas actualizaciones en la EAPD en el 2000, mediante cuatro presentaciones dadas por diferentes autores como Jälevik et al., Leppäniemi et al., Weerheijm et al., Beentjes et al., proponen diferentes términos al defecto: 'primeros molares permanentes hipomineralizados', 'hipomineralización del esmalte idiopático en los primeros molares permanentes', 'hipomineralización no fluorada en los primeros molares permanentes y molares de queso; y posteriormente en la propuesta del

2001 realizada por Weerheijm B., Jälevik y S. Alaluusua sugieren el término de hipomineralización molar-incisivo (HIM).⁸⁸

Crombie et al. (2009) en Nueva Zelanda y Australia evalúan el conocimiento y la percepción de los odontopediatras acerca de la condición, mediante cuestionarios,¹⁷ así mismo, en Latinoamérica, Biondi y Cortese (2009) informaron que la HMI es ampliamente reconocida en diferentes universidades latinoamericanas y que, dada la actual carencia de información, a nivel regional existe interés por realizar más estudios epidemiológicos.³

Posteriormente, se realizan nuevas actualizaciones por Mittal N., en el 2016, el cual detecta cinco fenotipos diferentes de hipomineralización, y Kevrekidou A., et al, en el 2020 mencionan un nuevo término de hipomineralización de otros dientes (HOPT), el cual se presentan en segundas molares y premolares, perteneciendo posiblemente al mismo tipo de hipomineralización del esmalte de primeras molares e incisivos (HIM).^{89, 90}

Luego de 20 años de investigaciones acerca de la etiología de la HIM, Bussaneli D.G., et al, resaltan que este es un problema potencialmente de salud pública y no es de un origen puramente sistémico, sino con una etiología compleja y que puede ser el resultado de la interacción gen/ambiente, por lo que el tema requiere de constantes actualizaciones en la investigación, búsqueda de factores de riesgo asociados, así como el impacto que tiene en la calidad de vida del paciente y las diferentes opciones terapéuticas.⁸⁰

Actualmente existen diversas revisiones bibliográficas sobre la hipomineralización molar, y la condición de HIM es reconocida en aproximadamente 31 países (97%), con una alta prevalencia de 2.4 - 40.2% de este defecto del esmalte dental tanto en dentición permanente como en la decidua. Aunque la prevalencia es variable, se estima que hay un 18% en América del Sur (mayor prevalencia en este continente), y en Europa un 3,6% - 25% desde 1987.⁴² No existe un consenso claro acerca de la prevalencia de la HMI, varía en gran manera entre los diferentes estudios y/o revisiones de literaturas, esto se debe a que no existe una estandarización en los diferentes criterios clínicos utilizados.¹⁰ En las

universidades latinoamericanas mencionan que existe el 87.1% de prevalencia de HM, y el 80,6% de dichas universidades consideran que es de importancia hacer más investigaciones y estudios de prevalencia de este tipo de defectos del esmalte.^{41, 42}

En Hong Kong, existen encuestas que demuestran que el 74.1% de los odontopediatras, atienden pacientes con HMI en sus prácticas clínicas y que atenderlos, lo realizan con la mayor confianza, ya que llegan a un correcto diagnóstico y plan de tratamiento, a diferencia del manejo que realiza un odontólogo general que carece de dicha información.⁴²

Podemos decir entonces que, la hipomineralización molar-incisiva (HIM) o hipomineralización molar (HM),⁶ se define actualmente como un defecto cualitativo, afectando la calidad del esmalte dental, de origen sistémico, multifactorial, que afecta de uno a cuatro de los primeros molares permanentes, y que puede o no presentarse en los incisivos permanentes,¹⁰ causado por una reducción en la mineralización de los componentes inorgánicos del esmalte,⁷⁻⁶ resultando un esmalte dental opaco, con manifestaciones clínicas características presentando un color blanco, crema, amarillo, marrón, e incluso la ruptura o fractura del esmalte de la pieza dental. Este tipo de defecto es cada vez más frecuente en la práctica odontológica y representa un gran desafío para el clínico dental, especialmente el odontopediatra.¹⁰

Estos defectos del desarrollo del esmalte se han registrado en diversos estudios, como Jälevik, et al., (2001) quienes observaron que existen concentraciones más bajas de calcio y fósforo en el esmalte afectado con HMI en comparación con el esmalte normal.⁸⁸ Mencionan que dichos defectos del esmalte, afectan el grupo de molares e incisivos permanentes, sin embargo, investigaciones realizadas por Elfrink et al. en 2015,¹⁰⁻¹¹ observaron defectos similares en segundos molares y ocasionalmente en caninos deciduos, siendo en estos casos, un fuerte predictor para la aparición de hipomineralizaciones en la dentición permanente.¹⁰ Estos defectos cualitativos llamados hipomineralización del segundo molar deciduo

(HSMD), se pueden encontrar en cualquier diente temporal y se caracteriza por afectar de 1 a 4 de los segundos molares deciduos. ^{7,13, 75, 91}

El esmalte dental que es afectado por la hipomineralización, presenta diversas manifestaciones clínicas, en el que incluyen un aspecto descolorido, bien definido, una radiodensidad similar a la dentina, restauraciones atípicas, pérdida de estructura, una textura blanda y una alta vulnerabilidad a la caries dental.⁴

La HMI se presenta clínicamente con gran variabilidad, en grado leve, moderado y en casos más severos se muestran fracturas posteruptivas, restauraciones atípicas, que con el tiempo determinan gran compromiso del remanente coronario, llegando incluso a la necesidad de extraer los dientes afectados debido a la elevada hipersensibilidad de estas piezas dentales. ⁶

La espectroscopia Raman se ha utilizado en la investigación de tejidos biológicos, como el esmalte dental, y ha sido beneficioso en diversos estudios acerca de los defectos dentales, como es el caso de la hipomineralización molar-incisiva en sus diversos grados de severidad, mediante el análisis de su contenido mineral.⁸

Fraser et al. (2015) realizan un análisis de molares con HM y escogen diferentes características de color: opacidad blanca, amarillo y marrón, y lo comparan con el esmalte normal. Evalúan las diferencias en las lesiones en función de los diferentes colores utilizando la espectroscopía Raman, microscopía de barrido (SEM) y espectroscopía de rayos X.⁸ Este estudio concluye que la hidroxiapatita es el componente mineral con menor concentración en el esmalte HM en comparación con el esmalte sano, y que existe un aumento en los niveles de proteína en el esmalte HM que inhibe el crecimiento normal de los cristales de hidroxiapatita.⁸ La microscopía electrónica y la espectroscopia de rayos X se utilizaron para respaldar los resultados de la espectroscopia Raman. Sugieren que la espectroscopia Raman es una herramienta muy útil para estudiar los cambios en el esmalte dental.⁸

Así también, queda demostrado la gran utilidad de la espectroscopía Raman en investigaciones realizadas en la Universidad de Costa Rica (UCR) como el estudio de Vargas-Koudriavtsev, T, et al. en 2015, en el que analizan la concentración de

la molécula fosfato v_1 en el esmalte dental luego de aplicar blanqueamiento dental en diversas concentraciones, concluyendo que el agente blanqueador causa pérdida de la concentración del mineral fosfato v_1 .⁹

El uso de la espectroscopia Raman para analizar la estructura dental está descrito por Ramakrishnaiah R., et al. en 2015, en el cual discuten los picos espectrales asociados con los tejidos duros y blandos que brindan información vital para comprender las propiedades estructurales químicas del esmalte y la dentina, al mismo tiempo que confirma la presencia de minerales como los fosfatos. Mencionan los inconvenientes de la espectroscopia Raman, como la fluorescencia de los tejidos biológicos con la ventaja de que, estos tejidos se pueden estudiar sin ninguna o muy poca preparación de muestras. En este estudio, los autores revisan las aplicaciones de la espectroscopia Raman y sus diversos usos en odontología, para el diagnóstico de enfermedades de tejidos duros y blandos afectados periodontalmente, incluyendo la caries dental y varios defectos del esmalte dental. Sirve de guía para los numerosos estudios que se han realizado para investigar el contenido mineral del esmalte dental, así como para el diagnóstico de tejidos duros y blandos mediante espectroscopia Raman, que proporciona datos completos sobre el mapa mineral, y los datos obtenidos a través del análisis de defectos del esmalte, como la hipomineralización, y se comparan con los datos de referencia de dientes sanos.²²

Fagrell T, et al., en el 2010, estudiaron la microestructura del esmalte dental hipomineralizado en los dientes permanentes, con el objetivo de analizar el esmalte dental sano e hipomineralizado mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) y mediante microanálisis de rayos X (XRMA), encontrando que los dientes diagnosticados con HMI tienen valores de dureza más bajos en comparación del esmalte normal. Esto nos indica el por qué sucede la ruptura post eruptiva del esmalte dental con HIM. También demuestran la presencia de bacterias en los conductos más profundos de esmalte, adyacente a la unión dentino esmalte (EDJ), lo que prueba la causa de la hipersensibilidad observada

en los dientes con HIM ya que las bacterias llegan a penetrar en áreas profundas del esmalte dental.⁹²

En un estudio realizado en la Universidad de Wuhan en China en 2017, Sa Y Feng X, et al., investigaron la eficacia de la espectroscopia Raman en la detección de cambios en el contenido mineral del esmalte dental humano in vitro durante los ciclos de desmineralización y remineralización; indicando que la espectroscopia Raman es eficaz para detectar cambios en el contenido mineral durante ambos métodos, siendo una técnica confiable, precisa y cuantitativa para determinar el contenido mineral del esmalte dental porque ofrece beneficios que no son invasivos para la muestra estudiada. Mencionan la importancia de que las muestras deben medirse en un ambiente libre de humedad para evitar la fluorescencia que puedan generar las moléculas del agua al interactuar con la radiación láser.²¹

Además, Bērziņš K, et al., en el 2019 afirman que la espectroscopía Raman presenta una ventaja en la detección de los distintos grados de mineralización en esmalte dental sano y con lesiones del esmalte provocadas por hipomineralización, caries y amelogénesis imperfecta.⁴¹

Crombie, N.J., et al., en el 2013 evaluaron si el esmalte hipomineralizado es capaz de mejorar y aumentar su contenido mineral, mediante el uso de agentes remineralizantes del esmalte dental. Pre-trataron las muestras con solución de hipoclorito de sodio (NaOCl) al 0,95 % para luego suspender en 2ml de solución remineralizante de fosfato de fluoruro de calcio amorfo y de fosfopéptido de caseína al 1 % p/v (CPPA/CFP) a pH 5,5 a una temperatura de 37°C durante 14 días, con cambio diario de la solución remineralizante. El tratamiento con la solución remineralizante aumentó el contenido mineral y la porosidad disminuyó, lo que demuestran que se puede mejorar la calidad mineral del esmalte dental con HM.¹⁵

Los autores del artículo de 2020, Valencia R., Espinosa R., " Análisis de las características microestructurales del esmalte en la hipomineralización molar incisivo", realizan estudios con el objetivo de comparar los componentes orgánicos

de un esmalte dental sano y con hipomineralización. Utilizaron microscopio electrónico de barrido (MEB) para medir la profundidad de la lesión con espectroscopía de rayos x, para obtener el contenido químico de las estructuras analizadas, y concluyen que el esmalte hipomineralizado presenta mayor contenido proteico que el esmalte sano. Sugieren que, para mejorar el resultado clínico, se depende del tratamiento previo de estas proteínas con grabado ácido, como parte de las estrategias adhesivas.²³

Guentsch A., Fahmy M. et al., 2019, investigan el impacto de un kit experimental para la mineralización biomimética en la composición química y la cristalinidad del esmalte dental sano en su estudio in vitro. Utilizan la espectroscopia Raman para medir la profundidad de mineralización, demostrando que el uso del kit aumenta la mineralización del esmalte dental mediante la formación de una capa de fluorapatita similar al esmalte, y la espectroscopía Raman demostró tal aumento en la mineralización.²⁰

Guzmán y Cortés et al., reportan en el 2020, que mediante la espectroscopía Raman se puede caracterizar la estructura química del esmalte en un diente sano, diente hipomineralizado y con amelogénesis imperfecta tipo hipocalcificado, con el objetivo de estudiar y conocer mejor las características de estos defectos dentales y así poder planificar mejor las opciones preventivas y terapéuticas. Reiteran la importancia de que, la espectroscopía Raman posee una gran ventaja de ser una técnica no invasiva a diferencia de otras técnicas que requieren alterar la muestra en estudio. Determinaron que el contenido inorgánico de fosfatos en los dientes con defectos en el esmalte es menor que el de los dientes sanos, y concluyen que el efecto del grabado ácido sobre un esmalte con defectos en la mineralización es menos predecible ya que actuará sobre un tejido con mayor contenido orgánico (proteínas) y con un patrón poroso y desorganizado, en lugar de actuar sobre un esmalte bien mineralizado en el que habitualmente produce un patrón de grabado estándar y, por tanto, la adhesión de los materiales es peor.²⁴

Con el propósito de determinar y comparar la cantidad de minerales presentes en el esmalte dental normal y el esmalte con lesiones hipomineralizadas en sus

diferentes manifestaciones clínicas de color blanco, crema, amarillo y marrón, puede ser posible obtener dicha información a través del estudio en muestras dentales, mediante el uso de la espectroscopía Raman.

El objetivo de esta investigación es comparar la cantidad del mineral fosfato en el esmalte dental en superficies hipomineralizadas y no hipomineralizadas, con el uso de la espectroscopía Raman, para determinar la presencia de fosfatos en dichas superficies del esmalte dental, y también comparar los diferentes grupos según color y severidad de esmalte dental hipomineralizado.

CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO

2.1 Embriogénesis y Odontogénesis

2.1.1 Formación del esmalte

Las primeras 12 semanas de vida intrauterina corresponden a la etapa embrionaria, caracterizada por un intenso periodo de división y diferenciación celular con la consecuente formación de los diferentes órganos.²⁸

Después de los 21 días de la concepción, la cabeza empieza a formarse (primordios faciales) y entre la 3ª y 8ª semana de vida intrauterina (VIU) empieza a formarse la cara, siendo que en la 6ª semana de VIU ocurre proliferación del epitelio oral del maxilar y de la mandíbula, formando las láminas dentarias, a partir de las cuales los botones dentarios darán origen a los dientes.²⁸

En la embriología dentaria pueden ocurrir alteraciones o perturbaciones en las distintas etapas del desarrollo que pueden afectar a los órganos dentarios, en cuanto al número, forma o estructura. Surgen así las diferentes anomalías dentarias.¹

La Odontogénesis es el proceso que comprende la formación de los dientes deciduos y permanentes, por lo que es importante, entre otras, el conocimiento de sus etapas, para diagnosticar el periodo donde pueden ocurrir algunas alteraciones estructurales.²⁸

En el proceso de la odontogénesis, los ameloblastos en el germen dental en desarrollo son extremadamente sensibles a los estímulos externos, y muchos factores pueden resultar en anomalías del esmalte. Las anomalías en la formación del esmalte quedan grabadas permanentemente en la superficie del diente, debido a que el mismo no tiene la capacidad de remodelarse luego de su formación inicial.¹

En el curso del desarrollo de los órganos dentarios humanos aparecen sucesivamente dos clases de dientes: los dientes primarios (deciduos o de leche) y los permanentes o definitivos. Ambos se originan de la misma manera y presentan una estructura histológica similar.²⁵

Los dientes se desarrollan a partir de brotes epiteliales y poseen una forma de acuerdo con el diente al que darán origen y tienen una ubicación precisa en los maxilares. Participan en su formación dos capas germinativas:

- *Epitelio ectodérmico*: origina el esmalte.
- *Ectomesénquima*: que forma los tejidos restantes (dentina, pulpa, cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar). ^{2, 25}

En la odontogénesis, el papel inductor desencadenante es ejercido por el ectomesénquima o mesénquima cefálica, denominado así porque son células derivadas de la cresta neural que han migrado hacia la región cefálica. Este ectomesénquima ejerce su acción inductora sobre el epitelio bucal de (origen ectodérmico) que reviste al estomodeo o cavidad bucal primitiva. ²

El fenómeno inductor es esencial para el inicio de la organogénesis dentaria, es decir el desarrollo dental. Inicia mediante la interacción epitelio-mesénquima, mecanismo que constituye la base del proceso de formación de los dientes.

En dicho proceso de inducción, vamos a distinguir dos grandes fases:

- 1) ***morfogénesis o morfodiferenciación***: consisten en la formación de la corona y raíz. ^{2, 26}
- 2) ***Histogénesis o citodiferenciación*** que conlleva la formación de los distintos tipos de tejidos dentarios: el esmalte, dentina y pulpa. ^{2, 25}

Las alteraciones genéticas que provocan anomalías estructurales provocadas por una dentinogénesis o amelogénesis imperfecta o por interferencias ambientales, como los cambios en el esmalte dental causados por la ingesta de flúor en altas concentraciones que son característicos de la fluorosis, son cambios que suceden en la etapa de histodiferenciación y aposición. ²⁸

El proceso de la formación del esmalte dental es un complejo proceso de biomineralización mediado por proteínas durante el cual células epiteliales especializadas llamadas ameloblastos que secretan flujos controlados de iones formadores de minerales y proteínas de matriz no colágenas en el espacio extracelular.¹³ Suceden en dos etapas: la elaboración de una matriz extracelular seguida de la mineralización.

Es entonces que, el esmalte dental es secretado por el ameloblasto y diferenciado de la zona del epitelio interno del órgano del esmalte. La amelogénesis se inicia una vez formadas las primeras capas de la dentina, cuando hay secreción de la matriz del esmalte y después aparecen dentro de esa matriz los cristales de hidroxiapatita.³

El esmalte dental maduro generalmente se considera un material compuesto por aproximadamente un 86% de minerales, un 12 % de agua y un 2% de matriz orgánica en volumen, y es el tejido biológico más altamente mineralizado y más duro del cuerpo humano.¹³

La matriz orgánica en el esmalte dental consiste en proteínas, péptidos y ácido cítrico, mientras que la fase mineral es hidroxiapatita (HAp) impura no estequiométrica que incorpora sodio, magnesio, fluoruro, fosfato de hidrógeno y carbonato en su red, siendo la principal impureza 2–5% en peso de carbonato.¹³

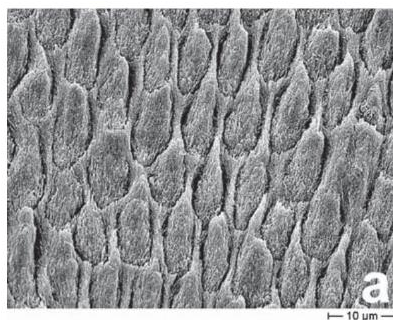


Figura 1. *Imágenes SEM. Esmalte normal con prismas distintos bien organizados (aumento original 2000).*⁸⁶

En el desarrollo del esmalte, los cristalitos aparecen como placas largas o cintas, donde se sugiere que los primeros cristalitos tienen un grosor de 1,5 nm y un ancho de 15 nm.¹³ En el esmalte maduro, los cristalitos de hidroxiapatita carbonatada (c-HAp) asumen perfiles más irregulares, donde la mayoría tiene una apariencia hexagonal más o menos aplanada y miden aproximadamente 26 nm de espesor, 68 nm de ancho y con longitudes que, en algunos casos, se extienden por todo el espesor del esmalte.¹³

Los cristalitas de c-HAp están estrechamente empaquetados en un patrón organizado en haces, llamados prismas (figura 1), de aproximadamente 2 a 8 μm de diámetro, que comprenden aproximadamente de mil a varios miles de cristalitas de c-HAp dispuestos en arreglos paralelos con sus ejes c cristalográficos orientado predominantemente paralelo al eje longitudinal del prisma.¹³

El gen de la amelogenina, es la principal proteína involucrada en la formación del esmalte dental y se correlaciona su expresión con la etiología de anomalías como es el caso de la amelogénesis imperfecta.³

La estructura y ultraestructura del ameloblasto maduro presenta una prolongación cónica llamada proceso de Tomes, que desempeña una función esencial en la síntesis y secreción del esmalte prismático.²

2.1.2 Amelogénesis: Características del esmalte dental sano

El esmalte dental, también llamado tejido adamantino, cubre a la dentina ofreciendo protección al tejido conectivo integrado por el complejo dentino-pulpar. Es el tejido más duro del organismo ya que está constituido por millones de prismas altamente mineralizados.²⁵

Se ha sugerido que existen vías submicroscópicas de transporte molecular, y el agua actuaría como agente transportador de iones en la matriz adamantina. Se aprovecha estos sistemas submicroscópicos de poros para llevar a cabo el primer nivel de prevención, con el aporte de flúor tópico, geles o pastas fluoradas. Los iones flúor sustituyen los grupos hidroxilos del cristal de apatita y lo tornan menos soluble a los ácidos, lo que hace más resistente la superficie externa del esmalte al ataque de la caries.²⁵

El mecanismo de formación del esmalte se llama amelogénesis, y este mecanismo se desarrolla en tres etapas:

1. Formación de matriz o secreción

Se trata de una matriz orgánica extracelular. En esta etapa secretora, se produce la matriz del esmalte, en el que se depositan las proteínas del esmalte.

2. **Mineralización o transición**

Al migrar, los ameloblastos van depositando enamelinas y amelogeninas (en una proporción de 1:19); inmediatamente se originan cristales, pero en una cantidad entre 25-30% de mineral.

Involucra:

- a. Formación, nucleación y elongación de los cristales y
- b. Remoción de la matriz orgánica.²⁵

En la etapa de transición existe una transformación de los ameloblastos secretores en el cual se depositan minerales de manera masiva y se elimina la mayoría de las proteínas originales.^{2,10} La mineralización del esmalte comienza justo antes del nacimiento, incluso los primeros molares permanentes comienzan a desarrollarse durante el cuarto mes de gestación. La formación del esmalte en su conjunto, lleva aproximadamente mil días. Aunque la amelogénesis está controlada estrictamente por la genética esta es sensible a las perturbaciones ambientales, lo que resalta en diferentes tipos de defectos.¹⁰

3. **Maduración del cristal**

Los ameloblastos maduros al final del periodo de maduración, regulan la mineralización final del esmalte, y es durante este tiempo que se elimina cualquier resto proteico original.^{2,10}

Cuando el ameloblasto llega al final, se reduce a una célula cúbica, se adhiere a las otras capas y se reabsorben todas las amelogeninas siendo reemplazadas por mineral, produciendo así la mineralización completa. Por eso al intervenir a un niño con dentición mixta, no se debe tocar el epitelio reducido del esmalte.²⁵

Las etapas o períodos que constituyen el ciclo vital del ameloblasto (figura 2), son las siguientes:

1. **Etapa morfogénica (preameloblasto):** las células del epitelio interno del órgano del esmalte interactúan con las células ectomesenquimáticas de la papila determinando la forma de la CAD y de la corona.

2. **Etapas de organización o diferenciación (ameloblasto joven):** los ameloblastos cambian de aspecto, las células se alargan y cambian de polaridad, coincide con el periodo de campana. Cambia su fuente de nutrición, de la papila dentaria al saco dentario que rodea el órgano del esmalte.²⁵
3. **Etapas formativa o de secreción (ameloblasto activo, secretor o maduro):** ya el ameloblasto ha perdido su capacidad de dividirse y es una célula diferenciada.
4. **Etapas de maduración:** se produce después de haberse formado la mayor parte del espesor de la matriz del esmalte en el área oclusal o incisal. La eliminación del componente orgánico facilita espacio para que se incremente el porcentaje de componente inorgánico y se vaya configurando el esmalte maduro.²⁵
5. **Etapas de protección:** cuando el esmalte depositado se ha mineralizado en su totalidad, el ameloblasto entra en estado de regresión.
6. **Etapas desmolítica:** el epitelio reducido del esmalte prolifera e induce la atrofia del tejido conectivo que lo separa del epitelio bucal. Si se produce una degeneración prematura del epitelio reducido, puede no haber erupción.²⁵

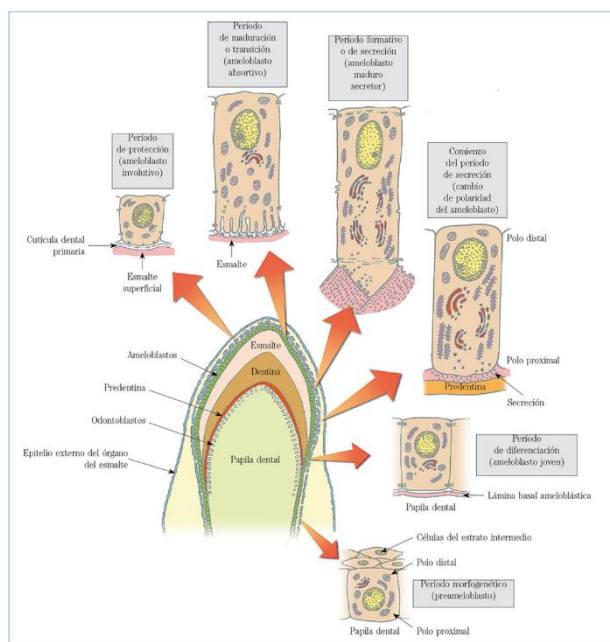


Figura 2. Las etapas o períodos que constituyen el ciclo vital del ameloblasto: etapa morfogénica (preameloblasto), etapa de organización o diferenciación (ameloblasto joven), etapa formativa o de secreción (ameloblasto activo, secretor o maduro), etapa de maduración, etapa de protección, etapa desmolítica.²⁵

La formación de la corona se da en el *estadio terminal o de folículo dentario (apositional) (figura 3)*, en el que comienza la formación de la zona de futuras cúspides o borde incisal, y la presencia de depósito de la matriz del esmalte sobre las capas de la dentina en desarrollo. ²

El desarrollo de los ameloblastos progresa desde los bordes incisales o cuspídeos hacia el asa cervical, por lo cual, en un solo corte histológico de la etapa apositional pueden observarse la mayoría de las características histológicas del ciclo vital de los ameloblastos. ²⁵

La elaboración de la matriz orgánica, a cargo de los odontoblastos para la dentina y de los ameloblastos para el esmalte, es inmediatamente seguida por las fases iniciales de su mineralización. El mecanismo de formación de la corona se realiza de la siguiente manera: primero se depositan unas laminillas de dentina y luego se forma una de esmalte.² El proceso se inicia en las cúspides o borde incisal y paulatinamente se extiende hacia cervical. Una vez formado el patrón coronario comienza el desarrollo y la formación del patrón radicular.²

La mineralización de los dientes primarios se inicia entre el quinto y el sexto mes de vida intrauterina; por eso, al nacer existen tejidos dentarios calcificados en todos los dientes primarios y en los primeros molares permanentes.²

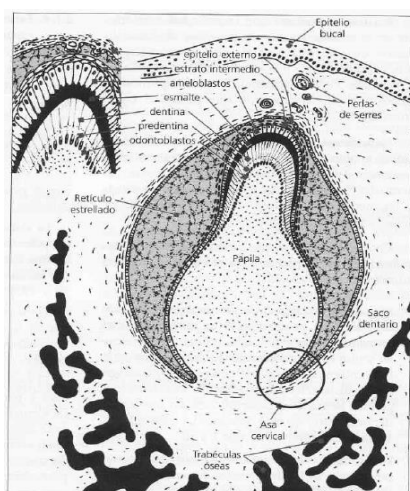


Figura 3. *Estadio terminal o de folículo dentario (apositional), en el que comienza la formación de la zona de futuras cúspides o borde incisal, y la presencia de depósito de la matriz del esmalte sobre las capas de la dentina en desarrollo.* ²

A veces las células odontogénicas principales pierden temporalmente su función normal, por una enfermedad general que afecta al embrión o feto; esto ocasiona hipoplasia de esmalte. La hipoplasia, es una formación defectuosa que produce surcos, fisuras (cavitaciones) en la superficie del esmalte. Diversos factores pueden también lesionar temporalmente a los ameloblastos, por ejemplo, deficiencia nutricional (raquitismos, déficit de vitamina D) o enfermedades como el sarampión.¹

Puede ocurrir que toda la dentición se desarrolle con esmalte o dentina defectuosa, como sucede cuando los trastornos genéticos afectan la función de los ameloblastos y/o los odontoblastos, dando origen a alteraciones generalizadas como la amelogénesis y/o la dentinogénesis imperfecta.¹

En otros casos, los dientes tienen una condición conocida como hipomineralización que, típicamente tienen una apariencia opaca en contraste con la translucidez normal del esmalte.¹ Otros defectos de los dientes en desarrollo puede darse la pigmentación debido a trastornos endógenos o medicamentos, lo que se conoce como diente moteado, y en el caso de las tetraciclinas que le confieren color grisáceo.¹

La incorporación por ingesta de flúor en forma excesiva (aproximado más de 1ppm o una parte por millón), produce la patología conocida como fluorosis dental. Estas alteraciones estructurales se producen en el periodo crítico de maduración del esmalte.¹

El esmalte humano prismático se parece principalmente a un "patrón de ojo de cerradura" con un componente de cabeza y cola, lo que permite un empaquetamiento muy compacto.

Primero se forma toda la dentina coronaria y todo el esmalte que la cubre; y solo cuando ha terminado la formación de la corona se pasa a la segunda etapa iniciándose la formación de la raíz.¹

2.1.2.1 Composición química del esmalte dental

El esmalte dental está constituido químicamente por una matriz orgánica (1-2%) Su dureza comprende un 95% de matriz inorgánica y 0.36% - 2% de matriz orgánica y 3-5% de agua.

Los cristales de hidroxapatita constituidos por fosfato de calcio representan el componente inorgánico del esmalte. ²⁵

a. **Matriz orgánica**

Componente orgánico más importante de naturaleza proteica. Entre las principales proteínas involucradas en la matriz orgánica del esmalte, en las distintas fases de su formación, destacan:

- **Amelogeninas:** son las más abundantes, con un 90 % de concentración de proteínas del esmalte. Moléculas hidrófobas, fosforiladas y glicosiladas de 25kDa, ricas en prolina, glutamina, histidina y leucina, que son las más abundantes (90% al comenzar la amelogénesis) 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. ^{23, 25}
- **Las enamelinas:** moléculas hidrofílicas, ricas en serina, aspártico y glicina, que se localizan en la periferia de los cristales formando las proteínas; representa el 2-3% de la matriz orgánica del esmalte. No son secretadas por los ameloblastos y pueden resultar de la degradación de las amelogeninas. ^{23, 25}
- **Las ameloblastinas o amelinas** que inmunohistoquímicamente se localizan en las capas más superficiales del esmalte y en la periferia de los cristales. Representan el 5-10% del componente orgánico de la matriz del esmalte, y se cree que promueve la mineralización y alargamiento de los cristales. ^{23, 25}
- **La tuftelina** (proteína de los flecos) se localiza en la zona de unión amelodendinaria al comienzo del proceso de formación del esmalte. Representa el 1-2% del componente orgánico. ²⁵
- **La 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. ²⁵

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.

Durante la mineralización de la matriz orgánica, el depósito inicial del mineral se produce en la unión amelodentinaria y los cristales crecen más tarde, siguiendo su eje longitudinal, por la progresiva adición de iones a su extremo terminal. A este nivel se localizan la **sialofosfoproteína dentinaria (DSP)** y la **tuftelina** que tienen la misión de iniciar el proceso de mineralización debido a su capacidad de unirse con el componente mineral. Las **amelogeninas** inducen la formación del cristal de apatita, controlando su forma y crecimiento; protege al cristal y al ameloblasto controlando los cambios de pH. Los cristales próximos al ameloblasto, van sucesivamente creciendo gracias al aporte de calcio (Ca^{2+}) y de fosfato (PO_4^{3-}) que le van suministrando los ameloblastos. Las **enamelinas** pueden también participar en esta malla reticular de materia orgánica que de forma progresiva va configurando el soporte del cristal.

La disposición descrita de estas proteínas permite regular la morfología y el tamaño del cristal, modulando e inhibiendo un crecimiento anómalo del mismo o el contacto de su superficie con otras sustancias como la **albúmina**, también presente en la matriz, y que es un conocido inhibidor de la hidroxiapatita y del crecimiento del cristal.²⁵

Esta fase es la más importante ya que las alteraciones del esmalte están vinculadas directamente a los cambios que ocurren en la etapa post secretora o de maduración denominada por algunos autores como el período crítico de paso entre el esmalte inmaduro y el esmalte maduro.²⁵

La enamelisina (Mmp20), es una metaloproteinasa de matriz, junto con la serina proteasa kallikreina 4 (Klk4); siendo estas dos moléculas las principales involucradas en el proceso de degradación de proteínas.²³

La actividad enzimática, primero de las metaloproteasas y luego de las proteasas de serina, van remodelando la matriz, degradando y eliminando el componente orgánico. Ello, hace posible el crecimiento controlado de los cristales iniciales y

trae como consecuencia que se establezcan puentes o bandas entre los mismos, para más tarde y por coalescencia configurar los cristales definitivos.²⁵

El proceso de mineralización avanza con la sustitución progresiva de agua y materia orgánica hasta que el esmalte alcanza un contenido en materia inorgánica del 95%.

En la última fase del proceso de mineralización intervendría la *ameloblastina* que sería segregada por la vertiente lisa de los ameloblastos y que tendría un papel fundamental en la configuración de los límites de los prismas y en la constitución de la vaina del prisma. El aporte de calcio y fosfato para la formación y el crecimiento de los cristales proviene de los ameloblastos.

El último aporte de sales minerales proviene de los capilares del saco invaginados en el órgano del esmalte. El estrato intermedio selecciona el paso de iones hacia el ameloblasto, fenómeno que estaba regulado por hormonas y vitaminas (deficiencias vitamínicas o endocrinopatías producen perturbaciones que se traducen en anomalías estructurales del esmalte).²⁵

El esmalte dental ya erupcionado continúa incorporando iones minerales en su superficie, mecanismo conocido como remineralización, que está en relación directa con el grado de permeabilidad del esmalte.²⁵

b. Matriz inorgánica

Está constituida por sales minerales de fosfato y calcio. Dichas sales, de acuerdo con estudios realizados con difracción de rayos X, muestran una organización de apatita que responde, al igual que ocurre en hueso, dentina y cemento, a la fórmula general $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.

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.²⁵

Los iones flúor pueden sustituir a los grupos hidroxilo en el cristal de hidroxiapatita y convertirlo en un cristal de fluorhidroxiapatita ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$) que lo vuelve resistente (menos soluble) a la acción de los ácidos y, por ende, más resistente a

la caries. Las concentraciones más altas de flúor están en las 50 μm más superficiales del esmalte. En las regiones más profundas la concentración disminuye hasta 20 veces. El contenido de flúor en el esmalte va dependiendo de distintos factores:

a) Biológicos: como es el contenido de flúor incorporado en el agua o en los alimentos.

b) Clínicos: aplicación de geles tópicos y pastas dentales fluoradas.²⁵

En el esmalte superficial existen dos componentes: el flúor y los carbonatos, que desde el punto de vista clínico son muy importantes debido a que desempeñan un papel antagónico. El flúor incorporado a los cristales incrementa su resistencia al ataque de caries, mientras que un mayor porcentaje de carbonatos lo hace más susceptible al inicio de la misma.⁹

La sustitución de otras especies puede ocurrir en múltiples sitios en la hidroxiapatita, por ejemplo: los iones de carbonato pueden sustituirse en el sitio de hidroxilo o en el sitio de fosfato, llamadas sustitución de **tipo a** y **tipo b**, respectivamente, afectando la naturaleza de la apatita.⁹

c. Agua

Es el tercer componente de la composición química del esmalte. Se localiza en la periferia del cristal constituyendo la denominada capa de hidratación, o capa de agua absorbida. 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 Ca^{2+} puede ser sustituido por Na^+ , Mg^{2+} , e $\text{H}^3 \text{O}^+$, y el anión OH^- por F^- , Cl^- . etc. El porcentaje de agua en el esmalte disminuye progresivamente con la edad.

2.1.3 Defectos del desarrollo del esmalte

El esmalte dental es un tejido único, altamente mineralizado y de origen ectodérmico, que una vez formado, se caracteriza por la ausencia de actividad metabólica. Ello determina que, sí se presentan disturbios durante su desarrollo,

se pueden manifestar como defectos permanentes en los dientes cuando estos erupcionan.¹⁰

Alteraciones producidas en la amelogénesis durante la fase inicial de secreción de la matriz, pueden provocar en las piezas dentarias, defectos estructurales cuantitativos o hipoplasias, mientras que las que afectan los procesos de maduración o mineralización son llamados hipomineralizaciones que, es un defecto cualitativo del esmalte dental debido a la falta de mineralización del esmalte en desarrollo, que se identifica visualmente como una opacidad de color blanco cremoso/amarillento/marrón con/sin ruptura poseruptiva.¹⁰

Las alteraciones que afectan a la formación del esmalte pueden ser de origen genético o de origen medioambiental dado que el ameloblasto es una célula muy sensible a los cambios de su entorno. Los defectos pueden afectar sólo a una pequeña área de la superficie del esmalte o, por el contrario, a todo el espesor del mismo. De forma similar la alteración puede ser localizada afectando a uno o dos dientes o generalizada afectando a muchas piezas dentarias o incluso a toda la dentición. Los defectos pueden ser, además, simétricos o asimétricos respecto de la línea media de dentición.^{10, 32}

Las dos alteraciones más características a la que conducen los defectos de la amelogénesis son: la hipoplasia y la hipomineralización. La primera, es el resultado de una amelogénesis defectuosa, como consecuencia de la alteración del depósito de matriz orgánica y que se manifiesta por la formación de fositas, surcos o por la ausencia parcial o total de matriz adamantina. La segunda, surge por una deficiencia en el mecanismo de mineralización y su expresión clínica fundamental consiste en la presencia de manchas opacas en la superficie del esmalte. Entre las causas que dan origen a estas alteraciones se destacan:

- Los trastornos sistémicos (nutricionales, endocrinos, úrosis, etc.), las afecciones locales (traumas, infecciones del diente primario, etc.).
- Los trastornos de origen genético están representados fundamentalmente por la amelogénesis imperfecta.²⁵

Las anomalías de los dientes se pueden dividir en aquellas que están influenciadas por fuerzas ambientales y aquellas que son idiopáticas y parecen de naturaleza hereditaria.¹

a. Factores Ambientales/ locales

- Trauma mecánico agudo local: caídas, disparos, ventilación mecánica neonatal, mutilación, cirugía, accidentes vehiculares.
- Quemadura eléctrica
- Irradiación
- Infección local: maxilitis neonatal aguda, enfermedad inflamatoria periapical. ¹

b. Factores Sistémicos

- *Trauma relacionado con el parto*: hipoxia, partos múltiples, parto prematuro, trabajo de parto prolongado.
- *Químicos*: Amoxicilina, quimioterapia antineoplásica, humo de cigarro, fluoruro, plomo, tetraciclina, talidomida, vitamina D.
- *Anomalías cromosómicas*: Trisomía 21.
- *Infecciones*: varicela, citomegalovirus (CMV), infecciones gastrointestinales, sarampión, neumonía, otitis media, infecciones respiratorias, rubéola, sífilis, tétanos, infecciones del tracto urinario.
- *Enfermedades hereditarias*: síndrome amelo-cerebro-hipohidrótico, síndrome amelo-onico-hipohidrótico, epidermólisis ampullosa, galactosemia, mucopolisacaridosis IV, síndrome de Nance-Horan, displasia oculo-dento-ósea, fenilcetonuria, pseudohipoparatiroidismo, síndrome trico-dento-óseo, tuberosa esclerosis, raquitismo dependiente de vitamina D.¹
- *Desnutrición*: Desnutrición generalizada, deficiencia de vitamina D, deficiencia de vitamina A.¹
- *Condiciones médicas*: asma, enfermedad cardíaca, enfermedad celíaca, malabsorción gastrointestinal, linfangiectasia gastrointestinal, enfermedad hepatobiliar, hiperbilirrubinemia, hipocalcemia, hipotiroidismo, hipoparatiroidismo, diabetes materna, enfermedad renal, toxemia del embarazo.

- *Trastornos neurológicos*: parálisis cerebral, discapacidad intelectual, defectos auditivos y neurosensoriales.¹

c. Factores genéticos

En el caso de HIM, éste no es un defecto de origen puramente sistémico, puede ser una condición de etiología compleja que, puede resultar de las interacciones genético-ambientales.⁸⁰

Entre los defectos del esmalte, la amelogenesis imperfecta (AI) y la hipomineralización incisivo-molar (HIM) causan gran preocupación a los clínicos de todo el mundo, ya que el manejo de este tipo de defectos puede ser complicada.²⁴

Los trastornos de origen genético son representados fundamentalmente por la amelogenesis imperfecta (AI), el cual es un conjunto de defectos del desarrollo de origen genético que interfieren en la estructura y apariencia clínica del esmalte de todos o casi todos los dientes.²

2.2 Esmalte dental hipomineralizado

2.2.1 Historia

Koch et al. (1987) utilizaron el término Hipomineralización Idiopática del Esmalte en Suecia a fines de la década de los años 70 para describir la condición, mientras que la “Hipomineralización Incisivo Molar” (Molar Incisor Hypomineralization MIH por sus siglas en inglés, HIM en español), fue propuesta por Weerheijm y Mejàre en el año 2001 y aceptado en 2003 por la Academia Europea de Odontopediatría en Atenas, Grecia, para definir una patología de etiología desconocida, que afecta exclusivamente a los primeros molares permanentes y en ocasiones a los incisivos y que se puede asociar con la presencia de opacidades o defectos en los incisivos permanentes. La afectación simultánea de molares e incisivos se considera la forma más severa de hipomineralización.³

Weerheijm y Mejàre indagaron en Europa (2003) acerca del reconocimiento de la condición en 31 países, obteniendo una abrumadora respuesta positiva (97%). Posteriormente, Crombie et al. (2009) en Nueva Zelandia y Australia utilizaron un cuestionario para valorar el conocimiento y la percepción de los odontopediatras acerca de la condición.³

En Latinoamérica, Biondi y Cortese (2009) informaron que la HIM es ampliamente reconocida como entidad clínica en las diferentes universidades latinoamericanas y que, dada la actual carencia de información, a nivel regional hay interés de realizar estudios epidemiológicos.³

2.2.2 Etiología HIM

Etiología idiopática, de origen sistémico, asociado a alteraciones sistémicas o agresiones ambientales que ocurren durante etapas prenatal, perinatal y posnatal y que afectan el desarrollo del esmalte dental.³¹

Es identificada como entidad clínica por odontopediatras latinoamericanos que, si bien la consideran un problema en su zona de residencia, reconocen la ausencia de información en la actualidad. Si bien numerosos estudios revelan una amplia variedad de factores potencialmente involucrados en la etiología de la HIM, la fuerza de la evidencia de los trabajos no es fuerte.²

El período crítico para la aparición de HIM son los tres primeros años de vida, ya que es durante esta etapa que ocurre la mineralización de la corona de las primeras molares, incisivos superiores e inferiores y caninos permanentes.³

Para explicar el porqué de las alteraciones de la mineralización del esmalte, es necesario saber las causas de estas. Para ello hay que remontarse a las etapas en las cuales los dientes se estaban formando, ya que en ese momento en el que ciertos factores dejan su huella en los dientes.³⁰

El cuadro clínico es de origen sistémico, y se asocia con alteraciones sistémicas o agresiones ambientales que ocurren durante los primeros años de vida.

Se combinan varios factores de riesgo que predisponen o agravan la patología:

- **Factores prenatales:** fiebre materna, infecciones virales del último mes de embarazo, nacimiento pretérmino/semanas de gestación. ³
- **Factores perinatales:** prematuridad, bajo peso al nacer, partos prolongados y complicados, escasez de oxígeno en el momento del parto. ^{3, 30}
- **Factores postnatales:** Desórdenes o alteraciones respiratorias ocurridos durante los primeros 3 años de vida ³: problemas respiratorios, otitis media, alteraciones del metabolismo calcio-fósforo, alteraciones gastrointestinales, uso prolongado de medicación (amoxicilina), varicela, deficiencia de vitamina D y problemas cardiacos. ³⁰
- Ingesta de leches especiales. ³
- Administración de antiinflamatorios AINES no esteroideos, habitualmente ibuprofeno y paracetamol.
- Predisposición genética.
- Procesos que conllevan alta fiebre, especialmente durante el primer año de vida. ³
- Exposición a dioxinas y a policlorobifenilos (PCB), compuestos presentes en las mamaderas y envases plásticos, que quedan incorporados en los alimentos luego de ser expuestos al calor, congelados o utilizados en el microondas.
- Se asocian con lactancia materna prolongada en niños cuyas madres tuvieron alta exposición a los elementos antes descritos ³.
- Enfermedad celiaca, asma, neumonía.³

2.2.3 Características clínicas del esmalte hipomineralizado

Durante la exploración de un diente con hipomineralización, podemos apreciar opacidades que varían de color blanco tizoso, crema, amarillo, marrón, y los límites del esmalte normal son lisos y regulares. Por lo general, las zonas afectadas suelen ser cúspides de los molares y los bordes incisales.

La porosidad es variable según la magnitud del defecto: las opacidades amarillo-marrón son más porosas y ocupan todo el espesor del esmalte (mayor gravedad).

Las blancas son menos porosas y se localizan en el interior del órgano del esmalte.³⁰

El esmalte hipomineralizado puede fracturarse con facilidad, debido a su fragilidad y poco espesor, lo que puede dejar desprotegida a la dentina y favorecer el desarrollo precoz de caries y de erosión. Los dientes afectados con esta patología son más sensibles al frío y al calor y, por tanto, difíciles de anestesiar. Estos dientes pueden presentar, también, molestias al niño durante el cepillado dental o en la aplicación de flúor.³⁰

La HM es un defecto cualitativo del esmalte en el que la mineralización y maduración del esmalte se presentan de manera incompleta bajo una superficie intacta al momento de la erupción.³

Los cristales de hidroxapatita parecen estar desorganizados y menos compactados con áreas porosas, lo que sugiere una alteración en la fase de maduración.³

La HM se presenta como una anomalía en la translucidez de los tejidos, con zonas delimitadas de color blanco/amarillo/marrón, sin alteración del espesor del esmalte, que en ocasiones puede tener pérdida de su estructura y desgastarse, dando lugar rápidamente a caries. A diferencia de la amelogenénesis imperfecta y la fluorosis, que se consideran defectos de hipomaduración debido al alto nivel de amelogeninas residuales, la HM se tipifica como hipomineralización con un nivel normal de amelogeninas residuales.^{7, 29}

Aunque la HM es un defecto cronológico, clínicamente las lesiones de HM no se distribuyen de forma simétrica. Dentro del mismo tipo de diente en un mismo paciente, las lesiones pueden no aparecer o pueden presentar diferentes grados de severidad, que van desde opacidades leves hasta rupturas posteruptivas.²⁹

Por razones no del todo esclarecidas, se produce una alteración que causa la retención de proteínas, lo que interfiere con la formación de los cristales, al faltar el espacio necesario para la deposición de los minerales. Inicialmente, se produce entonces un defecto en la composición, pero no en el espesor del tejido, viéndose

así negativamente alteradas las propiedades mecánicas del esmalte de dureza y módulo de elasticidad.³

Las opacidades son asimétricas, bien delimitadas, no afectan la zona gingival, presentan alta porosidad y varían en coloración: las de la gama de colores del amarillento al amarillo-marrón, se deben a un daño irreversible del ameloblasto, mientras que las opacidades con variaciones de color del blanco al amarillo-crema corresponden más bien a un ameloblasto que logró recuperarse de la alteración.³

2.2.4 Características estructurales del esmalte hipomineralizado

Las propiedades mecánicas reducidas de este tipo de defecto del esmalte dental con HM, exponen a los pacientes a un mayor dolor, rápido desarrollo de caries y fractura post-eruptiva. Presentan una reducción en la dureza y elasticidad, aproximadamente un 60 a 80% menor, comparándolo con el esmalte normal del mismo diente, y estos valores de dureza están correlacionados según su color en el cual la superficie de lesiones de color amarilla-marrón son más blandas que las superficies de lesiones HM blancas.⁹⁵

En este tipo de esmalte HM se detectan diferentes cambios en la microestructura de las áreas afectadas: prismas menos densos y desorganizados, áreas porosas y menos compactos, con regiones interprismáticas amplias, observándose en los casos más graves la presencia de bacterias en los espacios intercrystalinos (figura.4) principalmente cerca de la unión amelodentinaria.^{23, 86, 95}

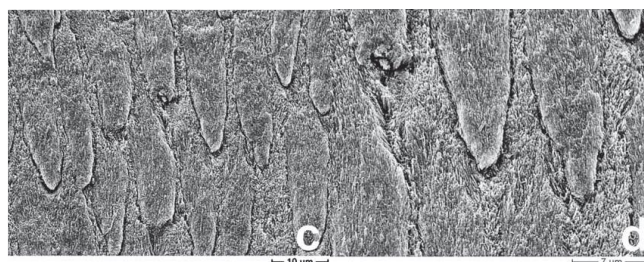


Figura 4. Esmalte hipomineralizado con áreas interprismáticas amplias⁸⁶

El esmalte dental afectado con HIM muestra una baja composición mineral, una densidad de hasta un 19% más baja que el esmalte normal, proporción de Calcio (Ca) y fósforo (P) más bajo, con un contenido de proteínas del esmalte de hasta 21 veces más alto de lo normal, mostrando un aumento del componente de Carbonato (C) ²³ y así también la presencia de albúmina que debido a su abundancia interfiere con el proceso de mineralización, manteniendo un bajo contenido mineral. A diferencia de los defectos de hipomaduración como la amelogénesis imperfecta y la fluorosis que tienen un alto contenido residual de amelogeninas, la HM mantiene bajas cantidades de amelogeninas residuales o casi ausente. ^{23, 95}

Una manera de reconocer el grado de severidad del esmalte HM es el contenido orgánico del esmalte, y así se detecta que el esmalte marrón es la manifestación más grave de la lesión con HM, ya que el mismo contiene de 15-21 veces más contenido de proteínas; mientras que el esmalte HM blanco contiene hasta solo 8 veces más proteínas que en el esmalte sano. ²³

2.2.5 Características Histológicas: Estructura histológica del esmalte dental sano e hipomineralizado

El conjunto de prismas del esmalte forma el esmalte prismático que constituye la mayor parte de esta matriz extracelular mineralizada. En la periferia de la corona y en la conexión amelodentinaria (CAD) existe el esmalte aprismático en el que la sustancia adamantina mineralizada no constituye ni configura prismas. ²⁵

El conocimiento de la histología del esmalte y de su histogénesis (amelogénesis) resulta imprescindible para interpretar la patología que afecta a esta estructura dentaria y a su desarrollo y comprender las bases científicas en las que asienta la prevención y la terapéutica que el profesional de la odontología utiliza.

En término histológico, el HIM resulta de una alteración en la acción de los ameloblastos durante la fase de maduración que persiste aproximadamente hasta los 3 años para los primeros molares e incisivos permanentes.

Los diferentes factores sistémicos que perturban los ameloblastos durante la etapa secretora causan restricción del alargamiento de los cristales y resultan en un esmalte patológicamente delgado o hipoplásico; durante la etapa de transición y maduración se da como resultado un esmalte patológicamente blando (hipomaduro, hipomineralizado) de espesor normal.¹⁰

Histológicamente la microestructura está conservada, lo que indica el normal funcionamiento de los ameloblastos durante la fase de secreción. Sin embargo, los cristales parecieran menos compactados y organizados en las áreas porosas lo que revelaría una alteración en la fase de maduración, infiriéndose que el problema sucedería durante los primeros años de vida.⁴

Estudios histológicos de molares con HIM sin caries indican que la pulpa de las piezas dentales con la condición presenta cierto grado de inflamación, la que puede ocasionar hipersensibilidad, aparentemente provocada por la penetración de las bacterias en los túbulos dentinarios a través del esmalte hipomineralizado aún intacto, que produce reacciones inflamatorias pulpares.^{3, 86}

2.2.6 Criterios Diagnósticos

En 2003, luego de una reunión de consenso de la Academia Europea de Odontología Pediátrica (EAPD), se desarrollaron criterios para los estudios epidemiológicos de MIH, incluido el reconocimiento del potencial de defectos de hipomineralización.

En 2009 en Helsinki, la EAPD actualizó estos criterios de modo que actualmente los criterios para HIM incluyen opacidades demarcadas, rotura posteruptiva y tanto restauraciones atípicas como extracciones de los molares y/o incisivos permanentes.³²

Se utilizan criterios incluyendo "caries atípicas" además de "restauraciones atípicas". Para llegar a un diagnóstico de HIM, es importante identificar opacidades demarcadas de color blanco, amarillo o marrón en al menos un primer molar

permanente. Cuanto mayor sea el número de molares afectados en un paciente individual, mayor será el riesgo de que los incisivos también se vean afectados.

La presencia de opacidades en los incisivos permanentes no es obligatoria para el diagnóstico de HIM. Sin embargo, las opacidades que solo ocurren en los incisivos permanentes no conducen a un diagnóstico de HIM. Esto se debe a que es probable que la etiología de las opacidades confinadas a los incisivos permanentes sea diferente a la de la HIM más generalizada. Las lesiones traumáticas (particularmente las intrusivas) en los incisivos primarios impactan en los gérmenes dentales en desarrollo y comúnmente conducen a anomalías localizadas de los sucesores permanentes.³²

El clínico debe tener presentes varias características asociadas con la alteración para estar en condiciones de brindar a los pacientes un manejo óptimo e integral.³ Según la propuesta de Mathu-Muju y Wright (2006), se diferencian tres grados de hipomineralización: leve, moderada y severa (cuadro 1), y Biondi et al. en el 2010 clasifican las lesiones de HM según su color y severidad (cuadro 2)

Clasificación	Características
Grado 1: Leve	Opacidades aisladas bien delimitadas en áreas sin carga o estrés masticatorio. Ausencia de pérdida de los tejidos duros. No hay caries asociada con el defecto de esmalte. No hay hipersensibilidad. Cuando se presenta en los incisivos, la alteración es leve.
Grado 2: Moderada	Opacidades bien delimitadas en incisivos y molares en el tercio oclusal y/o incisal que afecta una o dos superficies, sin involucrar las cúspides y sin fractura del esmalte al erupcionar, aunque puede ocurrir post-eruptivo debido a la función. Presencia de restauraciones atípicas intactas. Hay compromiso estético y la sensibilidad es normal.

Grado Severa	3:	Pérdida post-eruptiva del esmalte y fracturas. Presencia de caries extensas asociadas al esmalte defectuoso y/o presencia de restauraciones atípicas defectuosas, con compromiso de la estética e hipersensibilidad.
---------------------	-----------	--

Cuadro 1: Clasificación y características clínicas según los grados de severidad Mathu-Muju y Wright 2006. ³

Aspecto	Características	Código
Normal		0
Blanco crema: Leve	Menos porosas. Se localizan en el interior del esmalte.	1
Amarillo-marrón: Moderado	Son más porosas y ocupan todo el espesor del esmalte.	2
Pérdida del esmalte: Severo	El esmalte hipomineralizado se fractura debido a su fragilidad y escaso espesor, desprotegiendo la dentina.	3

Cuadro 2: Lesiones de HM según su color y severidad, según Biondi et al, 2010. ³

Es importante determinar en cada superficie dental, la extensión de los tejidos afectados por HM. Para ello, en el 2010 Biondi y cols., utilizan la siguiente clasificación:

Extensión	Código
No afectada	0

Menos de 1/3 de la superficie dental	1
Más de 1/3 pero menos de 2/3 de la superficie dental	2
Más de 2/3 de la superficie dental	3

Cuadro 3. Clasificación según extensión de los tejidos afectados por HM, Biondi et al, 2010.³

2.2.7 Diagnóstico diferencial

Es común que el odontólogo confunda la pérdida de la estructura dental post-eruptiva, con lesiones cariosas, abordando la condición de manera inadecuada, y es por esto que el diagnóstico diferencial es de suma importancia. Presencia de restauraciones con localización y extensión atípicas, bajo índice de caries en el paciente, ausencia de uno o varios primeros molares permanentes por extracción, son otros elementos que pueden ayudar en el correcto diagnóstico de la condición.³

Las hipoplasias se producen en la fase de oposición de la odontogénesis, dejando una capa de esmalte patológicamente fina o hipoplásica. Durante la maduración, si la matriz del esmalte no está degradada ni reabsorbida, produce una capa de esmalte de grosor normal, pero patológicamente blanda.

El diagnóstico diferencial debe tomar en cuenta las diferencias entre las opacidades y las siguientes condiciones como se muestra en el cuadro No.4 y 5:

- La caries dental
- Fluorosis
- Amelogénesis imperfecta: suele afectar ambas denticiones. Patrón hereditario correlacionado.
- Hipoplasias: pérdida cuantitativa de la estructura dental.³

- Hipomineralización Inciso Molar (HIM): defecto cualitativo del esmalte dental, y puede ocurrir pérdida de la estructura adamantina al entrar las piezas dentales en función.
- Hipomineralización de otros dientes permanentes (HOPT)
- Hipomineralización en dientes deciduos (HMD). ^{74, 75, 76, 77}

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS PARA LA DETERMINACIÓN DEL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE LA HMI										
TIPO	DIENTE	DISTRIBUCIÓN	LOCALIZACIÓN	ÁREA AFECTADA	FORMA	LIMITES	COLOR	BRILLO	INTEGRIDAD ESTRUCTURAL	HISTÓRICO
Hipoplasia	Toda la dentición temporal y/o permanente	Bilateral	Más común en la superficie bucal	Depende de la etapa de formación del diente en el momento de la lesión	Simétricos, surcos o fosas con márgenes redondeados	Bien delimitado, fácil de diferenciar con el tejido vecino	Tonos entre blanco, amarillo y marrón	Opaco o translúcido	Pérdida parcial	Indefinido
	Dientes individuales (causa local)	Unilateral	Superficie vestibular y/o oclusal							Trauma, infección, enfermedad, medicación e intubación en recién nacido.
	Todos los dientes		Todas las	Más acentuado	Simétr	Difus	Blanco y en casos	Opac	Preserv	Ingestión de altas

Fluorosis		s permanentes, raramente afecta a los dientes primarios.	Bilateral	superficies	en cúspides y bordes incisales	línea lineal, como líneas dibujadas a lápiz o copos de nieve	o y con intensidad variable	severos puede presentar pigmentación marrón.	o	ado o con pérdida parcial	concentraciones de fluoruro en periodo prolongado de tiempo durante mineralización del esmalte
Amelogenesis imperfecta	Hipoplasico	Todos los dientes de la dentición temporal y/o permanente	Bilateral	Todas las superficies	Casi toda la superficie	Simétrica, esmalte fino	Indefinido	De amarillento a marrón	Opaco	Ausencia parcial o total	Hereditaria
	Hipocalcificado				Depende de la etapa de formación del esmalte en el momento de la lesión	Esmalte todo rugoso	Indefinido	Blanco y en casos severos puede ser marrón		Preservada o con fracturas	Enfermedad o medicación
	Hipomaturada					Tinción simétrica	Definido	De marrón a marrón rojizo		Preservada o pérdida de astilla	
HMI (Hipomineralización de molares e incisivos)		Primeros molares permanentes	Unilateral	Superficies vestibulares, oclusales y linguales	Molares: tercios oclusal de la superficie	Asimétrico, con clara delimitación con	Bien delimitado, con una línea que	Blanco, crema, amarillo, marrón.	Opaco, o brillante	Preservada o con pérdida estructurales	Relación causa/efecto no definido

	incisivos		Superficies proximales raras vez afectadas	ficie bucal y puntas de las cúspides. Incisivos: tercio incisal de la superficie bucal. Rara vez afecta el área cervical.	esmalte sano	indica los límites con el tejido vecino sano.				
HOPT (Hypomineralization in other permanent teeth)	Cualquier otro diente permanente (segundos y terceros molares, canino y premolares)			Dientes posteriores: superficie oclusal y tercio oclusal de la superficie bucal. Caninos – punta de la cúspide. Rara						

				vez afecta el área cervic al						
HMD (Hipomineralización en dientes deciduos)	Molares y caninos deciduos			Molares: superficie oclusal y tercio oclusal de la superficie bucal. Caninos – punta de la cúspide. Rara vez afecta el área cervical.						

Cuadro 4. Características clínicas para determinación del diagnóstico diferencial de la HMI. ^{74, 75, 76, 77}

2.2.8 Tratamiento

El tratamiento de las piezas dentales por HIM debe ir dirigido, en primer lugar, al diagnóstico de las lesiones y al establecimiento del riesgo de caries. Cuando se presenten dientes con pérdida del esmalte y dentina, se debe emplear un manejo integral del control de la conducta y la ansiedad, con el objetivo de

ofrecer a los pacientes un tratamiento sin dolor que permita restauraciones con larga vida útil y el mantenimiento de una buena salud bucal adecuada, por lo que es importante establecer medidas de control de la caries.

Dentro de los retos a que nos enfrentamos al tratar este tipo de pacientes están un adecuado nivel de anestesia, un buen diseño de la cavidad y selección adecuada de materiales de restauración.³⁰

Dentro de los tratamientos efectivos para dientes con HM, fue posible identificar algunos como: pastas de arginina, barnices de flúor para tratar la hipersensibilidad.³³

Una gama de tratamientos no invasivos, microinvasivos e invasivos, son opciones disponibles. La realización de estos tratamientos, sin embargo, difiere según la gravedad (leve a grave) y los síntomas (con o sin hipersensibilidad asociada) de HIM, así también evaluar el costo-beneficio para el paciente.³⁴

Se sugiere el uso de los sistemas autoadhesivos y de grabado total en piezas dentales con HIM, sin embargo, es importante reconocer que cuando la restauración es realizada en una preparación cavitaria conservadora, el margen cavosuperficial del esmalte dental con hipomineralización tiene menor capacidad adhesiva por lo que la supervivencia clínica puede ser mucho menor.⁹³

Existen tratamientos que eventualmente pueden ser buenas opciones en HIM:

1. Restaurar los defectos directamente usando resina compuesta, resina infiltrante (ICON), ionómeros de vidrio (GIC), ionómeros de vidrio modificados de resina (RMGIC).^{71, 93}
2. Restaurar usando coronas preformadas de metal, tienen una tasa de supervivencia de más de 24 meses en comparación con la resina, por lo que en casos severos de HIM es una mejor recomendación.^{34,94}
3. Sellantes de fisuras.
4. Extraer el diente, seguido de alineación ortodóncica o alineación espontánea de los dientes adyacentes.³⁴

Existen diferentes parámetros de tratamientos posibles en casos de HIM severa (fig.3), demostrando que en estos casos lo mejor sería endodoncias, coronas hasta la posibilidad de extracción de las piezas dentales afectadas.

La edad óptima para las extracciones es entre 9.5 y 11 años de edad, con una probabilidad de alineación espontánea hasta el 82 % en el maxilar y el 63 % en la mandíbula, bajo ciertas condiciones y en el momento adecuado de la extracción.³⁴ Es importante tomar en cuenta, que las segundas molares y premolares pueden presentar hipomineralización (HOPT) por lo que es importante realizar un diagnóstico muy preciso antes de determinar la extracción de piezas dentales con hipomineralización.⁸⁹

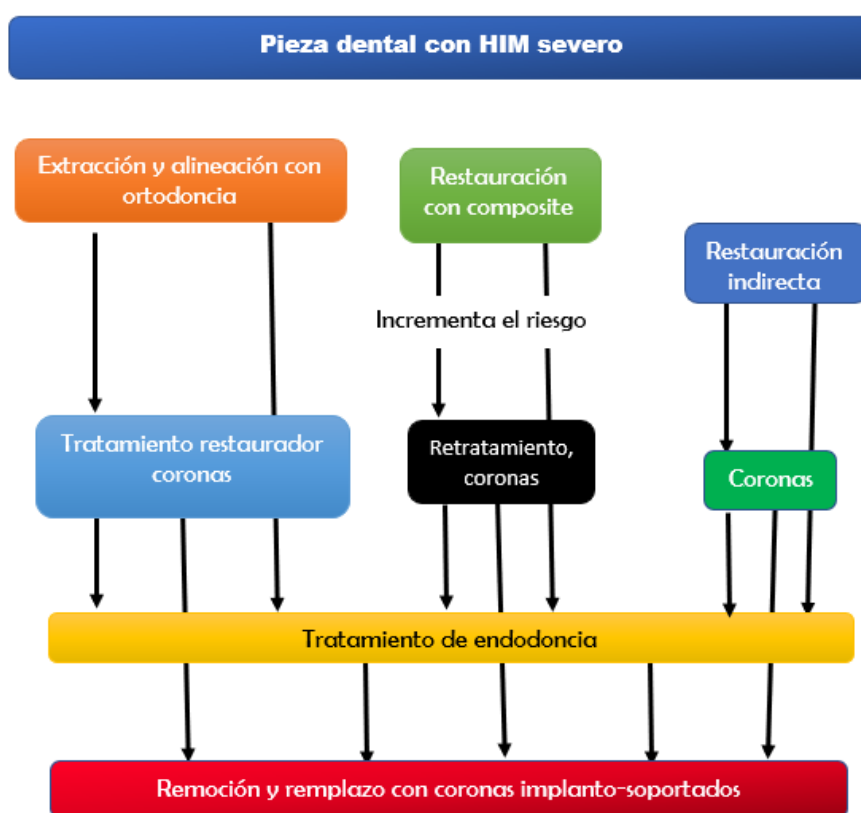


Figura 5. Diagrama de transición como ilustración para validar los diferentes parámetros de tratamientos posibles en caso de HIM severa.³⁴

En caso de que haya pasado el momento óptimo para la extracción de la pieza dental hipomineralizada, y la posible terapia de ortodoncia no son una opción, se pueden colocar restauraciones de resina compuesta. Se debe tener en cuenta de una serie de factores adicionales más allá de la eficacia y los costos, como es el cumplimiento de los pacientes (a menudo asociado con la hipersensibilidad), o las expectativas de los padres y los pacientes con respecto a los aspectos estéticos. También deben considerarse junto con las expectativas y necesidades generales, así como de la disponibilidad de los pacientes para los tratamientos con ortodoncia a largo plazo.³⁴

2.3 Microscopía Raman

2.3.1 Historia del efecto Raman

Este fenómeno conocido como efecto Raman fue descrito por el físico indio Chandrasekhara Venkata Raman (fig.5) en el año 1928, por el que obtuvo el premio Nobel de física en 1930. Este físico dio nombre al fenómeno inelástico de dispersión de la luz que permite el estudio de rotaciones y vibraciones moleculares. Sus estudios sobre este fenómeno se inspiraron en los trabajos realizados anteriormente por Rayleigh. A diferencia que Rayleigh afirmaba que el color azul del mar no es más que el azul del cielo visto en reflexión. Raman hizo un experimento sencillo mediante el que pudo demostrar que el color azul del agua procedía de un fenómeno propio, posteriormente explicado como la dispersión de la luz, debido a su interacción con las moléculas del agua.²⁶

En 1923 Rayleigh, mientras estudiaba la dispersión de la luz en el agua y en alcoholes purificados, uno de sus alumnos observó un cambio de color en un rayo de luz solar al ser filtrado, él y su equipo no fueron capaces de eliminar este efecto y por lo tanto sospecharon que el fenómeno era una propiedad característica de la sustancia. Tras realizar varios estudios durante los cinco años siguientes, Raman y su discípulo Krishnan, publicaron un artículo en la revista Nature en 1928, en el que describieron este nuevo tipo de radiación secundaria.²⁶

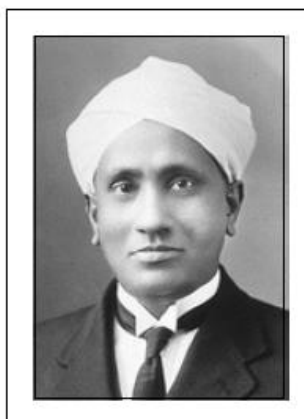


Figura 6. C. V. Raman ²⁶

2.3.2 Descripción de la microscopía Raman

La espectroscopia Raman es una técnica espectroscópica vibracional capaz de proporcionar información de las “huellas dactilares moleculares” para la identificación e información química y estructural de casi cualquier compuesto orgánico y/o inorgánico, permitiendo así su identificación. ^{14,26}

No es solo exitosa en el diagnóstico de caries dental, sino también en otros defectos que afectan el desarrollo del esmalte dental, dentina y hueso, demostrando que se puede diagnosticar la cantidad de contenido mineral. ²²

La espectroscopía Raman puede ser exitosamente utilizada en estudios en el cual el contenido mineral y la severidad del desorden del mismo, puede ser específicamente identificado por el tipo de desorden y enzimas asociadas de la matriz de proteína extracelular estudiada. ²²

Mediante la espectroscopia Raman se puede conocer el contenido orgánico (proteínas) e inorgánico (minerales) del diente y detectar así posibles alteraciones. ²⁴

El análisis se basa en el examen de la luz dispersada por un material al incidir sobre él un haz de luz monocromático. ²⁶ Como método analítico, se ha utilizado ampliamente en diversos campos, como el análisis químico, las ciencias de los materiales y las aplicaciones biomédicas. ¹⁴

Una pequeña porción de la luz es dispersada inelásticamente experimentando ligeros cambios de frecuencia que son característicos del material analizado e independientes de la frecuencia de luz incidente. ²⁶

El análisis mediante espectroscopía Raman se basa en hacer incidir un haz de luz monocromática de frecuencia ν_0 sobre una muestra cuyas características moleculares se desean determinar, y examinar la luz dispersada por dicha muestra. La mayor parte de la luz dispersada presenta la misma frecuencia que la luz incidente, pero una fracción muy pequeña presenta un cambio frecuencial, resultado de la interacción de la luz con la materia.

La luz que mantiene la misma frecuencia ν_0 que la luz incidente se conoce como *dispersión Rayleigh* y no aporta ninguna información sobre la composición de la muestra analizada. Es la luz dispersada que presenta frecuencias distintas a la de la radiación incidente, es la que se conoce como *dispersión Raman*. Las nuevas frecuencias ν_+ y ν_- , son las frecuencias Raman, características de la naturaleza química y el estado físico de la muestra e independientes de la radiación incidente.

Las variaciones de frecuencia observadas en el fenómeno de dispersión Raman, son equivalentes a variaciones de energía. Los iones y átomos enlazados químicamente para formar moléculas y redes cristalinas, están sometidos a constantes movimientos vibracionales y rotacionales y a cada uno de estos movimientos vibracionales y rotacionales de la molécula le corresponderá un valor determinado de la energía molecular. ²⁶

Existe un diagrama energético en el que cada estado de energía vibracional se representa por una línea horizontal, en el que se muestran las transiciones entre estados energéticos para diferentes interacciones luz-materia (Fig. 6).

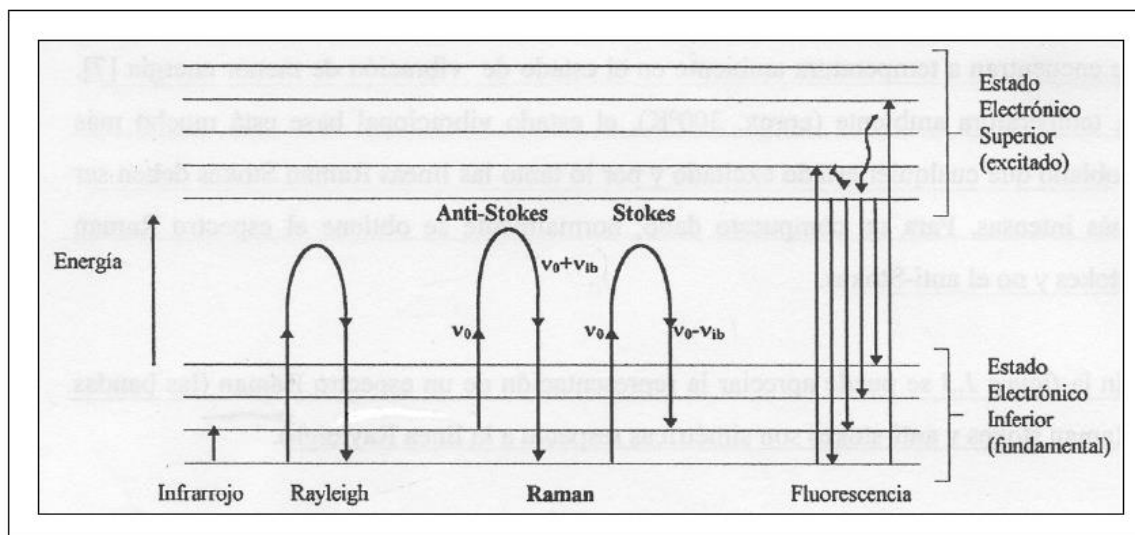


Figura 7. Diagrama energético en el que se muestran las transiciones entre estados energéticos para diferentes interacciones luz-materia.²⁶

El fotón incidente lleva a la molécula transitoriamente a un nivel de energía vibracional (o rotacional) superior no permitido, el cual abandona rápidamente para pasar a uno de los niveles de energía permitidos emitiendo un fotón; la frecuencia a la cual es liberado este fotón dependerá del salto energético realizado por la molécula.²⁶

Pueden distinguirse lo siguiente:

- 1) Si el resultado de la interacción fotón-molécula es un fotón dispersado a la misma frecuencia que el fotón incidente, se dice que el choque es elástico ya que el fotón ni la molécula sufren variaciones en su estado energético; la molécula vuelve al mismo nivel de energía que tenía antes del choque y el fotón dispersado tiene la misma frecuencia ν_0 que el incidente, dando lugar a la dispersión Rayleigh.
- 2) Si el resultado de la interacción fotón-molécula es un fotón dispersado a una frecuencia distinta del incidente, se dice que el choque es inelástico (hay transferencia de energía molécula-fotón) y pueden darse dos fenómenos:
 - a) Si el fotón dispersado tiene una frecuencia menor a la del incidente, se produce una transferencia de energía del fotón a la molécula que, después de

saltar al estado de energía no permitido, vuelve a uno permitido y mayor al que tenía inicialmente; el fotón es dispersado con frecuencia $\nu_0 - \nu_r$ y se produce la dispersión Raman Stokes.

El espectro Raman está formado por una banda principal o Rayleigh y dos series de bandas secundarias correspondientes a las *bandas Raman Stokes* y *anti-Stokes*, situadas simétricamente a ambos lados de la banda Rayleigh (Fig. 6).²⁶

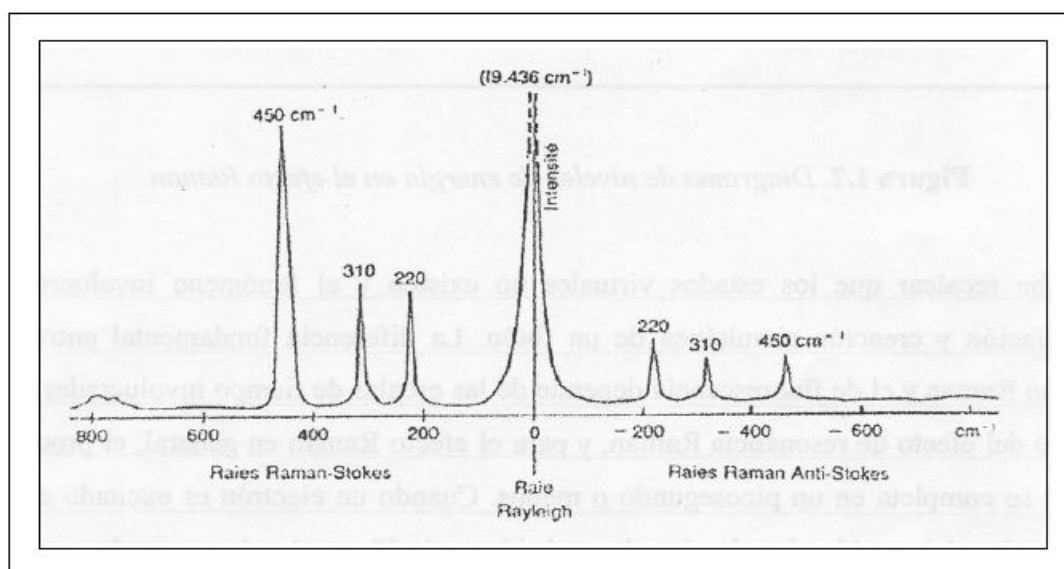


Figura 8. Bandas Rayleigh, Raman Stokes y Raman anti-Stokes.²⁶

La intensidad de la dispersión Raman Stokes es del orden de 100 veces superior a la dispersión Raman anti-Stokes, la diferencia entre la intensidad del efecto Stokes y el anti-Stokes hace que habitualmente se trabaje midiendo sólo el efecto Stokes y por comodidad se sitúa el resultado en la parte positiva del eje (Fig.7).²⁶

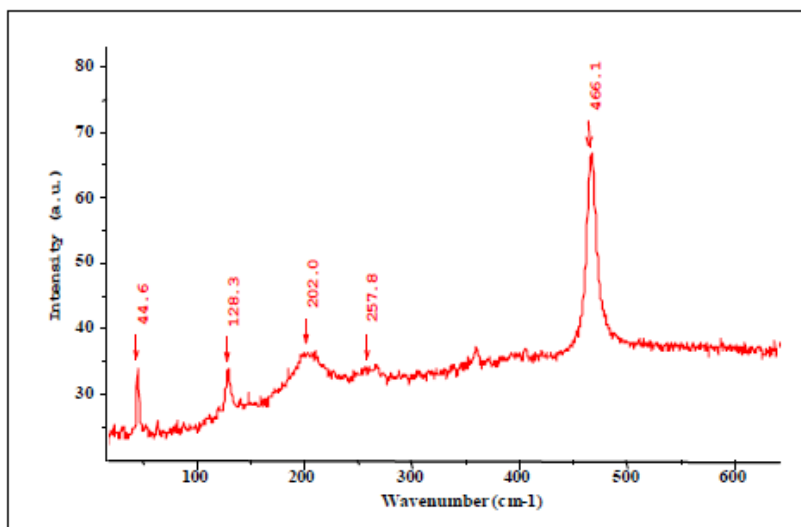


Figura 9. Espectro Raman habitual, compuesto por las bandas Raman Stokes.²⁶

En ocasiones, debido a la naturaleza química del material que analiza, unido al efecto Raman se produce un efecto de fluorescencia (fenómeno de absorción de luz) que puede llegar a enmascarar las bandas Raman; en estos casos, podría resultar de interés medir el espectro anti-Stokes ya que a estas frecuencias, aunque el efecto Raman es más débil, también lo es el efecto de la fluorescencia y pueden aparecer bandas Raman en la parte anti-Stokes del espectro, que se encuentran enmascaradas en la parte Stokes.

Una descripción simple para entender la espectroscopia Raman se puede hacer al observar los distintos tipos de dispersión que ocurren cuando la radiación electromagnética interactúa con las moléculas. Una opción es que la energía que transporta la energía del fotón, sea igual antes y después de la colisión con la molécula, este caso se conoce como dispersión elástica o Rayleigh. El caso cuando se observa una variación entre la energía inicial y final del fotón después de la interacción con la molécula es llamado dispersión inelástica o Raman.⁹

2.3.3 Ventajas del uso de la espectroscopia Raman

La espectroscopia Raman es una técnica que se realiza directamente sobre el material a analizar, y que tiene las ventajas frente a otras técnicas, que no

requieren ningún tipo de preparación y que no conlleva ninguna alteración de la superficie de la muestra sobre la que se realiza el análisis. ²⁶

A diferencia de otras técnicas que requieren la alteración de la muestra, la espectroscopía Raman, presenta la ventaja de ser una técnica no invasiva, ideal para analizar la composición química de los tejidos orgánicos (carbono, carbonato, proteínas) e inorgánicos (como el fosfato, calcio, magnesio), obteniendo información de los minerales presentes por medio de la observación de sus energías características de sus modos vibracionales. ^{9, 24} Además, se pueden analizar materiales en estado sólido, líquido o gaseoso. Estas ventajas superan a otras técnicas que requieren alterar la muestra de estudio, como la espectroscopía de infrarrojo, fluorescencia de rayos-x. ²⁶

Hay que destacar que la espectroscopía Raman es una técnica con implicaciones en todos los ámbitos de la investigación científica debido a que está basada en las vibraciones moleculares y estas tienen lugar en cualquier cuerpo. ²⁶

La espectroscopia Raman presenta ventajas tales como:

- Preparación sencilla de la muestra.
- Análisis simple de la banda espectral.
- Respuesta lineal a concentraciones minerales y químicas.
- Análisis de muestras sin ningún daño o alteración de la misma.
- Alta sensibilidad a cambios pequeños de estructura.
- Es posible escoger qué cantidad de la muestra se está analizando.

Además, al ser un método no destructivo (al espécimen no es necesario modificarlo cada vez que va a ser analizado), las muestras pueden ser analizadas antes y después de un tratamiento, con lo cual cada espécimen puede funcionar como su propio control. ⁹

2.3.4 Características y beneficios de la espectroscopía Raman (ProRaman-L)

- Mediciones precisas, rápidas y repetibles

- Sistema de alta sensibilidad para laboratorio y monitoreo de procesos químicos.
- Sonda de laboratorio de alto rendimiento HRP-8 (D.E. > 8).
- Mejor rendimiento y relación costo.
- Compacto, fiable y fácil de usar. ²⁷

Aplicaciones de la espectroscopía Raman:

- Farmacéutica
- Productos químicos, polímeros
- Biología
- Geología, mineralogía, gemología
- Nanotubos de carbono, grafeno
- Papel ²⁷



Figura 10. ProRaman L

El ProRaman-L cuenta con un espectrógrafo CCD de alta sensibilidad con temperatura de enfriamiento CCD de hasta $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ y sondas de fibra óptica de laboratorio de alto rendimiento. Cada sistema incluye una computadora portátil

precargada con el software RamanReader para su funcionamiento. El láser de excitación está disponible en 532 nm y 785 nm.

Los instrumentos ProRaman-L son ideales para análisis Raman exigentes en laboratorios académicos, de investigación e industriales y en líneas de proceso que requieren un instrumento Raman asequible y de alto rendimiento.²⁷

La serie ProRaman-L son instrumentos Raman de laboratorio de alto rendimiento adecuados para aplicaciones industriales o experimentos de laboratorio que requieren un instrumento Raman asequible y de alta sensibilidad.²⁷

FUNCIONAMIENTO			
Láser de excitación (nm)	532	785	532/785 Dual
Potencia del láser (mW)	50	4G00	532 nm: 50 785 nm: 400
Rango Espectral (cm ⁻¹)	Model B: 100 - 3,100 Model C: 100 - 4,150	Model A1: 100 - 2,200 Model A2: 250 - 2,350 Model B: 100 - 3,300	532nm: 250 - 3,200 or 100 - 3,100 785nm: 100 - 2,200 or 100 - 3,300
Espectrógrafo	Espectrógrafo CCD de alta sensibilidad, detector CCD enfriado a -60°C; Rango dinámico: 16 bits.		
Sonda de fibra óptica	Sonda Raman de fibra óptica de laboratorio HRP-8 alta en todo el laboratorio, O.D. > 8 rechazo de Rayleigh; distancia de trabajo: 7 mm 7 mm (estándar); 3 mm o 10 milímetro (opcional).		

Software del sistema	Software de adquisición de datos y gestión de espectros Los archivos de datos se pueden guardar como formatos .TXT, .SPC, .DAT o .BMP Exportación directa/enlace a GRAMS o Excel para post-procesamiento y modelado.			
FÍSICA				
Dimensión (L x W x H)"	9.5" x 7.25" x 5.25"		19" x 14.5" x 5.25"	
Peso	15 lbs		30 lbs	
ACCESORIOS				
<p>SH: Porta muestras para medir muestras líquidas en viales o cubetas</p> <p>XYZ: Soporte de sonda - Platina de precisión XYZ para un ajuste fino de las medidas de la muestra</p> <p>CLT: tubo de lente pre-alineado para medición por contacto de muestras sólidas</p> <p>HNA: tubo de lente de NA alta con una distancia de trabajo de ~3 mm (NA= 0,55)</p> <p>Tubo de lente WD10 Distancia de trabajo del tubo de lente 10 mm; NA = 0,25</p> <p>MVW: Convertidor de visor μV-785 μ</p> <p>SG: Gafas de seguridad</p> <p>SPID: ID espectral para búsqueda espectral y creación de bases de datos</p> <p>Biblioteca Raman</p>				

Cuadro 5. Especificaciones del Proraman-L High Performance Raman Analyzer ²⁷

CAPITULO 3. Planteamiento del problema y justificación

La Hipomineralización incisivo molar (HIM-HM) es un defecto cualitativo del esmalte dental, en el cual las células que dan origen al esmalte se ven afectadas durante su formación, interrumpiendo el proceso de mineralización, aumentando la retención de proteínas, e interfiriendo en la maduración y el desarrollo de los cristales de hidroxiapatita (fosfatos) que componen el esmalte dental. Este defecto del esmalte debido a la presencia de proteínas como el carbonato, albúmina entre otros, pueden ocasionar problemas en la adhesión de los diferentes materiales restauradores, por lo que es de importancia clínica conocer la concentración del mineral fosfato en los diferentes colores o manifestaciones clínicas del esmalte hipomineralizado, tales como blanco-crema, amarillo-marrón, y marrón con pérdida de esmalte, y aportar información al clínico acerca de la concentración de este mineral.

Los componentes químicos inorgánicos del esmalte con HM se pueden comprobar a través de la espectroscopía Raman, el cual nos brinda información acerca de la concentración de la molécula de fosfato ν_1 presente en el esmalte dental sano e hipomineralizado en sus diferentes manifestaciones clínicas; se recopilan las energías de excitación espectrales de dichos compuestos y se tabulan para facilitar su lectura y análisis.

Se plantea la necesidad de conocer y comparar la molécula de fosfato ν_1 en el esmalte dental sano e hipomineralizado, por medio de la espectroscopía Raman. Si bien, existe la presencia de otras moléculas dentro de su composición con picos de menor intensidad características de la molécula fosfato como ν_2 , ν_3 , ν_4 y proteínas como el carbonato (CO_3^{2-}) y albuminas, en esta investigación se analizará únicamente el pico proveniente de la molécula fosfato ν_1 y así determinar su concentración dentro del esmalte sano e hipomineralizado.

Este es el primer estudio en el posgrado de la Maestría profesional de Odontopediatría en la Universidad de Costa Rica que utiliza la espectroscopía Raman para analizar químicamente la estructura dental y conocer la cantidad de

fosfatos presentes en el esmalte dental hipomineralizado en sus diferentes manifestaciones clínicas, y su comparación con el esmalte dental sano.

4. Pregunta de investigación

¿Existe diferencia en la cantidad de fosfatos al comparar el esmalte dental sano con el esmalte dental hipomineralizado mediante la espectroscopía Raman?

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Comparar la cantidad de fosfatos del esmalte dental en superficies hipomineralizadas y no hipomineralizadas, con el uso de la espectroscopía Raman.

5.2 Objetivos específicos

- Determinar la presencia del mineral fosfato en el esmalte dental hipomineralizado por medio de la espectroscopía Raman.
- Identificar si existe diferencias en la concentración de fosfatos en el esmalte dental hipomineralizado y no hipomineralizado, mediante la espectroscopía Raman.
- Determinar la cantidad de pérdida del mineral fosfato en los diferentes grupos según color y severidad de esmalte dental hipomineralizado.

6. Hipótesis

6.1 Hipótesis Nula (H_0)

Usando la espectroscopía Raman, observamos que las variaciones de minerales fosfato del esmalte dental hipomineralizado no es diferente al esmalte dental sano no hipomineralizado.

6.2 Hipótesis de investigación (H_1)

Usando la espectroscopía Raman, observamos una reducción en la cantidad de minerales de fosfato en el esmalte hipomineralizado en comparación con el esmalte dental sano no hipomineralizado.

CAPÍTULO 4. MARCO METODOLÓGICO

7. Marco Metodológico

7.1 Diseño de estudio

Estudio experimental in vitro.

7.2 Lugar de realización del estudio

- Posgrado de Odontopediatría de la Universidad de Costa Rica.
- Laboratorio de investigación de los posgrados de Odontología de la Facultad de Odontología.

7.3 Determinación del tamaño de la muestra

- 22 muestras dentales extraídas
- 16 muestras incluidas
- 6 muestras excluidas

7.4 Criterio de selección

7.4.1 Criterio de inclusión

- Piezas dentales unirradiculares y multirradiculares afectadas con hipomineralización molar.
- Superficie coronal del esmalte dental con opacidades de color blanco, crema, amarillo, marrón y con ruptura del esmalte que involucre esmalte HM.
- Piezas dentales permanentes con restauraciones atípicas que mantengan una zona de hipomineralización.
- Piezas dentales permanentes con lesiones delimitadas a nivel de tercio medio hacia las cúspides oclusales.

- Piezas dentales permanentes con fracturas posteruptivas que muestren opacidades alrededor de la fractura.
- Piezas dentales permanentes destruidas que conserven áreas de hipomineralización.
- Piezas dentales permanentes con hipomineralización que sean conservadas adecuadamente para su estudio.

7.4.2 Criterio de exclusión

- Piezas dentales permanentes fracturadas sin zona de hipomineralización.
- Piezas dentales permanentes con material restaurador atípico que no mantenga zona de hipomineralización.
- Piezas dentales permanentes con lesiones de caries cavitadas que no contengan bordes de áreas hipomineralizadas.
- Piezas dentales primarias o permanentes con defectos de esmalte causadas por otras afecciones que no sea hipomineralización molar.

7.5 Operacionalización de las variables:

7.5.1 Definición conceptual y operacional de las variables

Describir mediante la espectroscopia Raman, la cantidad fosfatos presentes tanto en un esmalte dental hipomineralizado como en el esmalte dental no hipomineralizado, con la intención de observar la comparación de dicha cantidad de minerales presentes en el esmalte dental.

La hipomineralización incisivo molar “HIM” o también llamado hipomineralización molar “HM” es un defecto del desarrollo del esmalte que afecta a primeros molares permanentes (HM) y también a molares junto a incisivos permanentes (HIM).

7.5.2 Variables

- **Variables independientes:** superficie del esmalte dental no hipomineralizado.

- **Variables dependientes:** superficie del esmalte dental afectado por hipomineralización molar.

7.6 Consideraciones Éticas

Este estudio fue realizado en el Laboratorio de investigación del posgrado de Odontología de la Universidad de Costa Rica (UCR), y exento de revisión por parte del Comité Ético Científico (CEC) de la UCR.

La muestra está conformada por 22 piezas dentales permanentes humanas extraídas y recolectadas de pacientes de las clínicas dentales de la Facultad de Odontología, en donde todos los pacientes adultos, padres o tutores legales firman previamente un consentimiento informado para su atención, y posteriormente las muestras se desechan o se recolectan para docencia e investigación. Los dientes extraídos que se utilizaron como muestras del estudio son considerados desechos anatopatológicos, cuya razón de extracción no estuvo ligada a los alcances de esta investigación, por lo que su manipulación representó un paso adicional previo a su manejo como desecho biológico. Las muestras no presentan información identificable, ni personal o sensible. Durante la selección de muestras, se utilizaron ciertos criterios de inclusión y exclusión, que se detalla a continuación.

Una vez extraídos fueron, limpiados con agua y cepillo para luego ser almacenados en frascos de vidrio con agua destilada. Dicha selección de piezas dentales se basó en los criterios diagnósticos utilizados para la investigación.

8. Marco Experimental

8.1 Metodología

8.1.1 Etapa 1: Selección de las muestras

Se seleccionaron 22 piezas dentales permanentes humanas extraídas, provenientes de personas que acudieron a la atención odontológica en la clínica privada en San José Costa Rica. Según los criterios de selección utilizados en este estudio, para escoger las muestras, fueron de aquellos pacientes que presentaron alguna manifestación clínica del esmalte por

hipomineralización, con opacidades delimitadas en la superficie del esmalte, seleccionadas según la consistencia con la gravedad de los defectos, por el tipo de mancha del esmalte hipomineralizado característicos de la condición: blanco-crema, amarillo, marrón y con ruptura del esmalte dental. Se considero que, en el lado contrario de la muestra, presente un área con esmalte dental sano para poder así tener una comparación de la cantidad de fosfatos en la superficie del esmalte dental hipomineralizado y esmalte dental no hipomineralizado de la misma muestra.

Las muestras elegidas fueron extraídas por diversos motivos: caries dental, ortodoncia, sensibilidad extrema, imposibilidad económica para realizarse una endodoncia y rehabilitar con corona.

Según los criterios de inclusión y exclusión descritos previamente, de las 22 muestras obtenidas, se seleccionan 16 piezas dentales (figura16) y se excluyen 6 muestras. Las 6 muestras excluidas, se determinó que algunas muestras presentan fluorosis, restauración atípica que no mostró área hipomineralizada involucrada y con lesión de caries cavitada y no cavitada.

Las muestras fueron lavadas con cepillo, agua y cavitrón para remover restos de cálculo y luego almacenadas en agua destilada cambiada una vez por semana, conservadas a una temperatura de 20°C, y luego clasificadas en grupos según el color del defecto de la hipomineralización, hasta su análisis mediante la microscopía Raman.

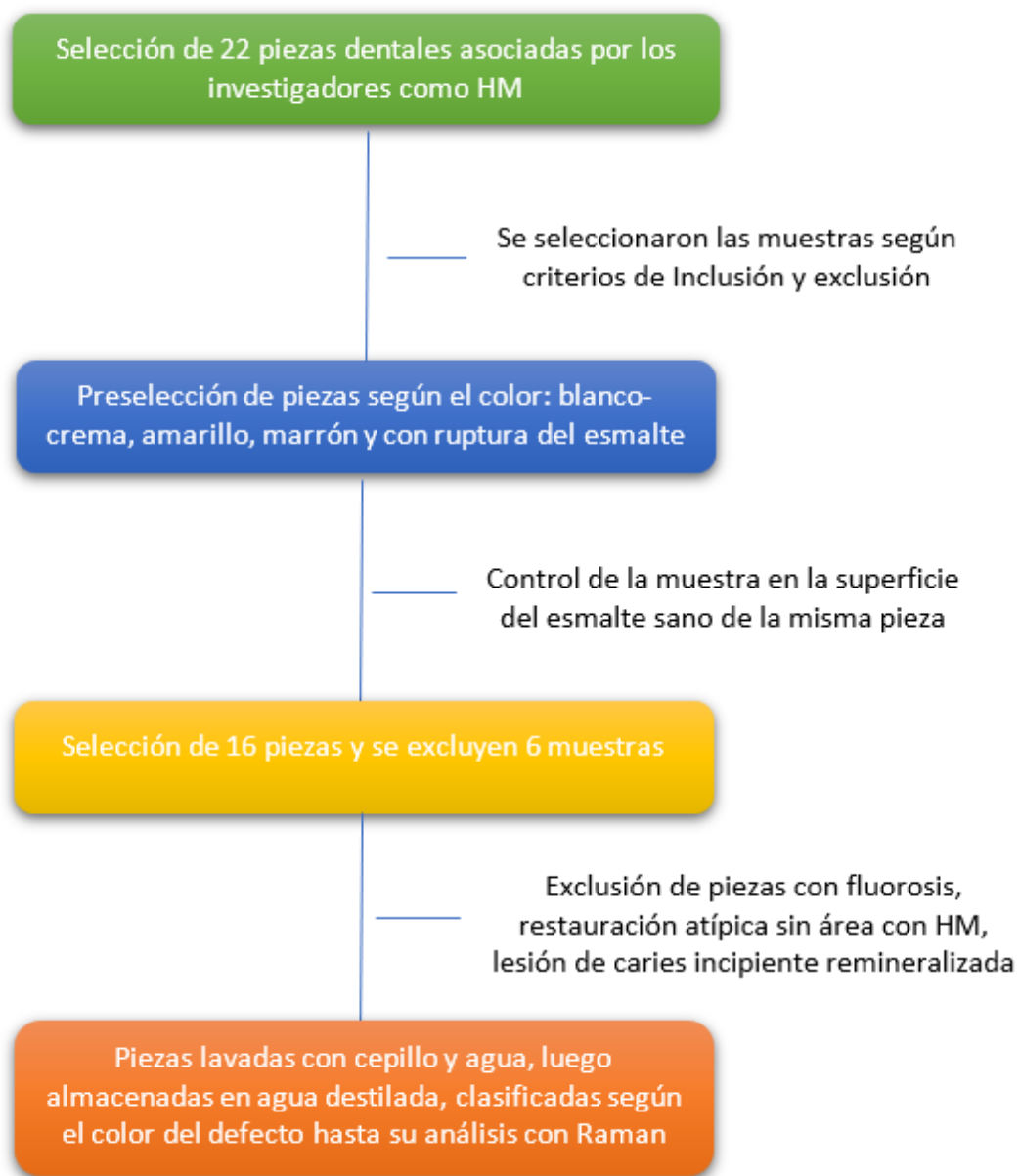


Figura 11. Flujograma de selección de la muestra

8.1.2 Etapa 2. Evaluación y preparación de las muestras

Se evalúa cada muestra y se le elimina todo resto de manchas extrínsecas, pigmentaciones mediante un cepillo usado para el pulido en profilaxis dental (figura 12), y de presentar cálculo dental, éste se remueve con cavitron y así se elimina todo tipo de impurezas (Fig. 13), posteriormente se almacenaron en agua destilada hasta su uso.

Al retirar la pieza dental del agua destilada, se procede a secar con aire y luego se fija cada muestra dental en cera colocada sobre el portamuestras del microscopio con la intención de inmovilizar la corona dental en el área de radiación durante el análisis de la muestra con el láser del espectrómetro Raman, al momento de las mediciones en cada área de la superficie dental que se quiere analizar.

A cada muestra se le efectuarán diversas mediciones: se realiza el análisis en la superficie del esmalte dental midiendo el lado del esmalte hipomineralizado y en una localización similar en el esmalte sano de la misma pieza dental, esta zona se tomará como control el lado sano de la misma pieza dental.

Se escogió como área de trabajo la parte de la corona que tiene el defecto más severo causado por la HM, ya sea en la superficie vestibular, palatina u oclusal, con diferentes características de opacidad y el esmalte sano de la misma muestra.

Se utilizaron criterios diagnósticos según la EAPD para clasificar la muestra según las características del color u opacidades:

- Blanco-crema
- Amarillento-Marrón
- Ruptura del esmalte que involucra lesión de hipomineralización.

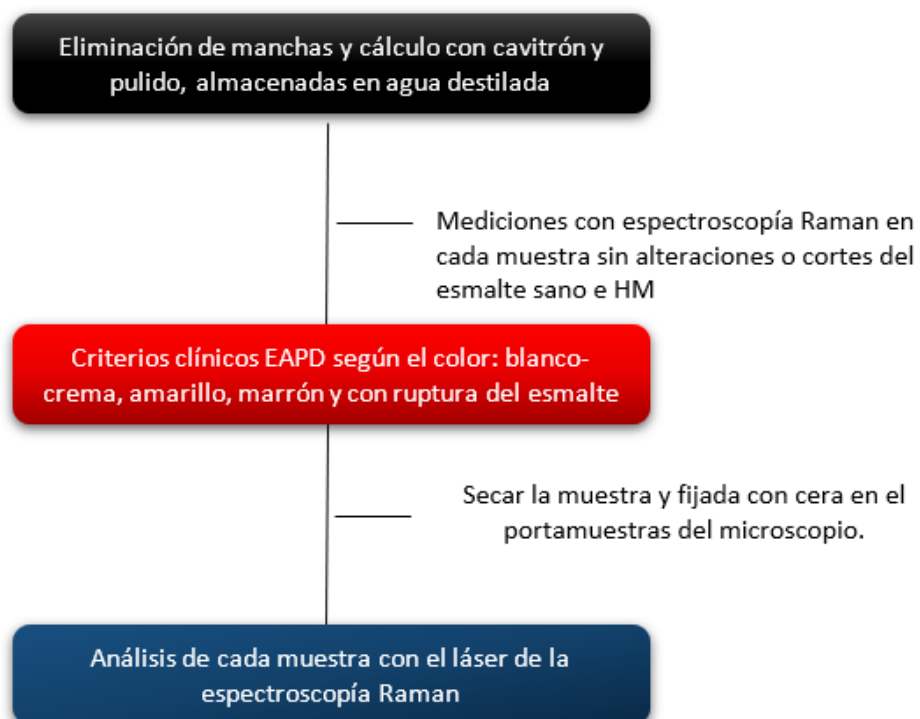


Figura 12. Flujograma de preparación de la muestra



Figura 13. Pulido del esmalte con cepillo de profilaxis



Figura 14. Remoción de cálculo con cavitron

8.1.3 Etapa 3: Evaluación con la espectroscopía Raman

Se procede a realizar el análisis con el láser del espectrómetro Raman en las superficies bucal, oclusal y palatina de las lesiones del esmalte hipomineralizado de color blanco crema, amarillo, marrón y en el esmalte hipomineralizado con fractura o pérdida de estructura, y también se analiza la superficie del esmalte sano/no hipomineralizado, de la misma muestra (Fig.14).

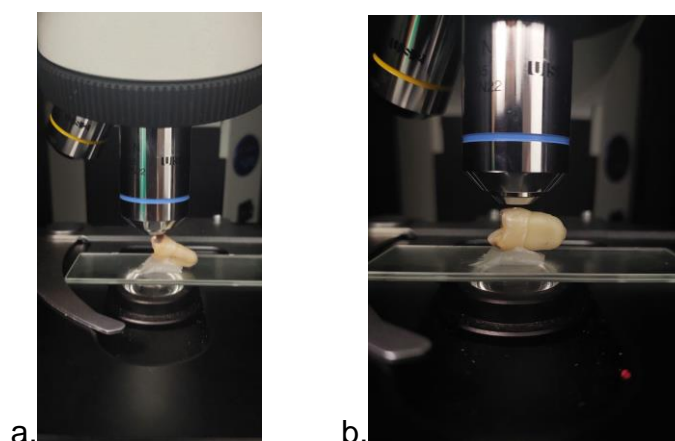


Figura. 15 Análisis de la muestra con el láser del espectrómetro Raman:

a. Superficie HM. b. Superficie de esmalte sano

8.1.3.1 Escala de medición

Los datos espectrales serán visualizados en una computadora y los datos de cada muestra importados y procesados mediante un software llamado Spectragrph® v1.2.16 (Dr. Fiedrich Menges.), el cual permite graficar el espectro Raman de cada muestra, además, de obtener los valores de energía e intensidad y el área bajo la curva para cada pico espectral (Figura 13).

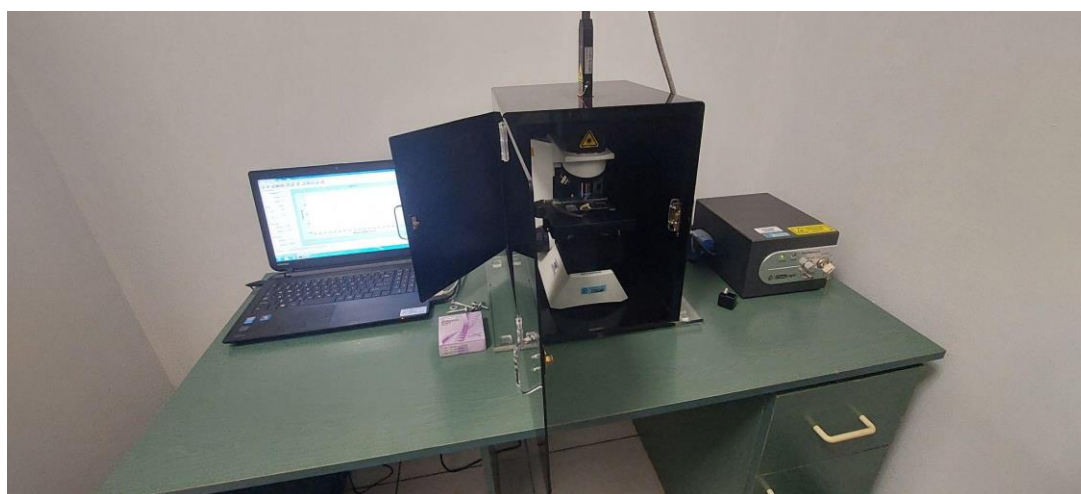


Figura 16. Datos de cada muestra son importados y procesados en el equipo del espectro Raman.

8.1.3.2 Mapeo Raman

El espectro Raman fue obtenido con un microscopio confocal Raman (marca: WiTec, modelo: PRO-L7A2S-10) equipado con un láser cuya longitud de onda fue de 785nm (figura 16) y una potencia para la obtención de espectros fue de 100 mW, y el tamaño o diámetro del punto de la muestra se redujo a $\sim 1\text{-}2\ \mu\text{m}$, enfocando el láser a través del objetivo en 40x antes de la irradiación. Para cada espectro Raman que se obtuvo de un espécimen, se llevaron a cabo las mediciones en un punto de la superficie dental hipomineralizada y no hipomineralizada.

Cada espectro se promedió con un tiempo de integración de 0,5s para cada escaneo o medición, esto con la finalidad de aumentar la señal Raman obtenida de la molécula de fosfato y disminuir el ruido derivado de fluctuaciones del láser. La temperatura ambiente al momento de las mediciones fue de 26° grados celcius, aproximadamente.

Antes de realizar la medición con el espectrómetro, el equipo fue previamente calibrado, luego los especímenes fueron previamente secados, para evitar la fluorescencia y distorsión que las moléculas de agua pudieran generar al interactuar con la luz del láser, esto se conoce como dispersión Rayleigh. Posteriormente, cada pieza dental se colocó y adosó en un portamuestras del microscopio (fig. 17), utilizando material de cera.



Figura 17. ProRaman L (marca: WiTec, modelo: Alpha 300 RA) equipado con un láser cuya longitud de onda fue de 785 nm, modelo PRO-L7A2S-10.

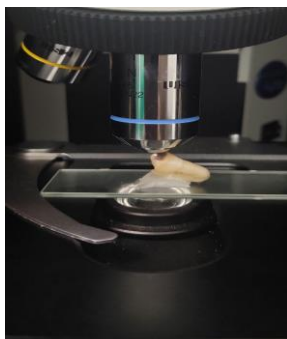


Figura 18. *Muestra dental colocada sobre un portamuestras del microscopio con ayuda de cera.*

8.1.3.3 Preprocesamiento de datos

Estos valores fueron verificados en cada prueba realizada, para corregir las variaciones debidas a las fluctuaciones de la fuente láser y de la fibra óptica para no irradiar el espécimen con mayor intensidad, o potencia por unidad de área. A cada muestra se le realizaron mediciones con el espectrómetro Raman para analizar de un lado de la muestra la superficie del esmalte dental hipomineralizado y en la otra superficie de control la superficie del esmalte dental sano no hipomineralizado.

El espectro Raman del espécimen fue adquirido mediante la irradiación con láser de la superficie coronal del diente previamente clasificado y codificado según el color, ya sea en la superficie vestibular, palatino/lingual, oclusal.

De cada espectro obtenido de una muestra, los datos fueron importados al software Spectragraph® v1.2.16 (Dr. Friedrich Menges.), el cual permite graficar el espectro Raman de cada muestra y además permite obtener, con mucha precisión, los valores de energía (eje «x») e intensidad (eje «y») para cada pico espectral por medio de ajustes (línea base, tipo de picos: gaussianos o lorentzianos, suavizado, eliminación de puntos solos, etc.) a los espectros.

8.1.3.4 Análisis de bandas e integrales de banda

Los datos de cada muestra, preprocesados a través del software Spectragriph® v1.2.16, permitió graficar el espectro Raman de cada muestra, además se obtuvieron valores de energía, intensidad y el área bajo la curva para cada pico espectral ν_1 , así también se utilizó para el análisis de integrales de banda.

Cada espectro se integró utilizando el área bajo la curva y la línea base, en tres regiones espectrales distintas (pico espectral más alto, y los dos puntos más bajos de la base de la banda ν_1), correspondientes al mineral fosfato. La banda de fosfato ν_1 (PO_4^{3-}) es representativa del componente hidroxiapatita o componente mineral inorgánico de los dientes. Entre las características espectrales al analizar cada muestra con la espectroscopía Raman, se mide la ratio que abarca el rango espectral del pico de las bandas del fosfato ν_1 , el cual es el más asociado con el esmalte normal, y este consta de las bandas que abarca el pico ν_1 (PO_4^{3-}) entre 900, 958, 960, 1000 cm^{-1} . Se determinó la composición química de las muestras y la cristalinidad del esmalte mediante la ratio mineral / inorgánico (960/1070 cm^{-1}).

Los datos fueron obtenidos con el software Spectragriph® (energía, intensidad, área bajo la curva) para cada muestra al igual que el gráfico del espectro Raman correspondiente a cada muestra. Cabe recalcar que para cada pico se calculó, además, el área bajo la curva, lo cual refleja de una manera objetiva la intensidad de la señal de la molécula analizada.

La anchura media máxima (FWHM) con la posición de pico ajustada respectiva, se determinó utilizando la función de búsqueda de pico/FWHM (configuración predeterminada) en Spectragriph® v1.2.16 software (Dr. Friedrich Menges). Para la determinación de FWHM, el ancho máximo desde la sección transversal horizontal a la mitad de la altura máxima, se calcula mediante interpolación lineal entre los puntos más cercanos.

Para tener una visión clara de las energías que se esperaban obtener al verificar el análisis Raman de la molécula en estudio, se realizó una recopilación de las energías de excitación espectrales del componente mineral fosfato ν_1 (PO_4^{3-}) / hidroxiapatita, y se tabularon en Excel para facilitar su lectura e interpretación.

Se analiza de cada muestra seleccionada la concentración del mineral fosfato ν_1 (PO_4^{3-}) (hidroxiapatita), presente en el esmalte hipomineralizado y se compara con el esmalte dental sano/ no hipomineralizado, y en los diferentes grupos de colores.

8.2 Análisis estadístico

El estadista Lic. Carlos Durán, realizó el análisis estadístico mediante la prueba T de Students para las muestras relacionadas, con el fin de comprobar los dos grupos y probar si la diferencia en el promedio obtenido en el esmalte no hipomineralizado versus el hipomineralizado es significativa o no.

Lo que significa que, para la prueba del estadístico T intentará demostrar si la diferencia de los promedios de las medidas obtenidas en las muestras de la investigación es o no significativamente diferente con un 95% de confianza.

Para el análisis estadístico de la clasificación según el color, se utilizó el análisis de varianza, mediante la prueba ANOVA, utilizando el mismo procedimiento mencionado para la prueba de hipótesis, se realizó un contraste utilizando los valores promedio de la superficie no hipomineralizada versus el hipomineralizado, en cada muestra.

9. Resultados

Todas las muestras del esmalte hipomineralizado demostraron una disminución de los fosfatos (hidroxiapatita) del esmalte.

De las muestras seleccionadas 22 fueron evaluadas y clasificadas según el color y grado de severidad y posteriormente 6 muestras fueron eliminadas según los criterios de exclusión, ya que demostraron ser lesiones por fluorosis, caries iniciales no cavitadas (manchas blancas) y restauraciones atípicas sin involucrar esmalte dental hipomineralizado; quedando 16 muestras incluidas para su análisis.

Presentación de resultados

Cuadro 7

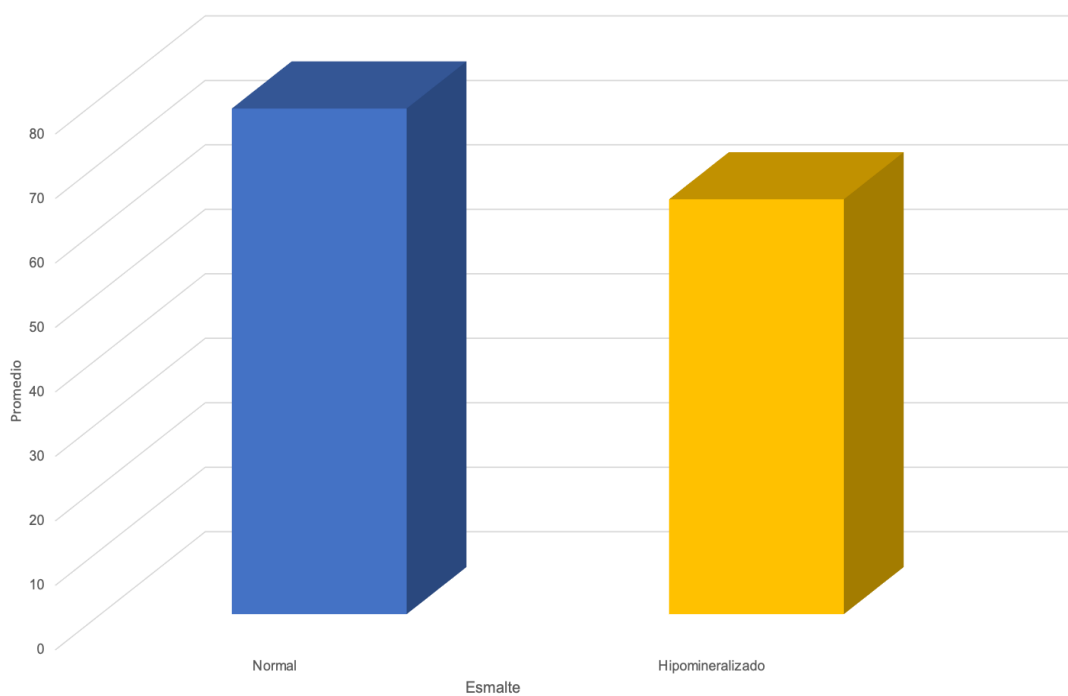
Cuadro comparativo de valores para la muestra 1

Color	Esmalte normal	Esmalte hipomineralizado	Relación
Blanco crema	78.42	64.34	1.22

Fuente: Instrumento de recolección de datos. Los valores del esmalte son el promedio obtenido en la medición cm^{-1}

En el cuadro 7 se tienen los valores promedio obtenidos en la medición de la primera muestra estudiada, la relación entre ellas puede indicar un 18% de pérdida de fosfatos en la superficie del esmalte dental HM.

Gráfico 1
Comparación de valores para la muestra 1



Fuente: Cuadro 7.

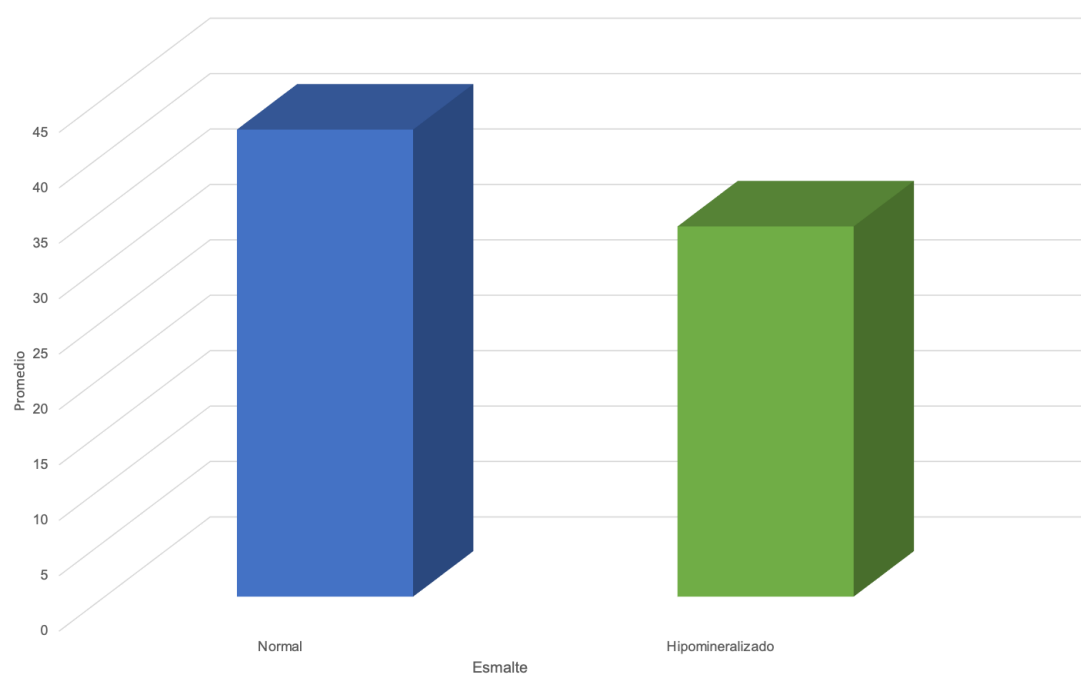
Cuadro 8
Cuadro comparativo de valores para la muestra 2

Color	Esmalte normal	Esmalte hipomineralizado	Relación
Amarillo Marrón	42.14	33.4	1.26

Fuente: Instrumento de recolección de datos. Los valores del esmalte son el promedio obtenido en la medición cm^{-1}

En el cuadro 8 se observan los valores promedio obtenidos en la medición de la segunda muestra estudiada, la relación entre ellas puede indicar un 21% de pérdida de fósforo en la superficie del esmalte dental HM.

Gráfico 2
Comparación de valores para la muestra 2



Fuente: Cuadro 8

Cuadro 9
Cuadro comparativo de valores para la muestra 4

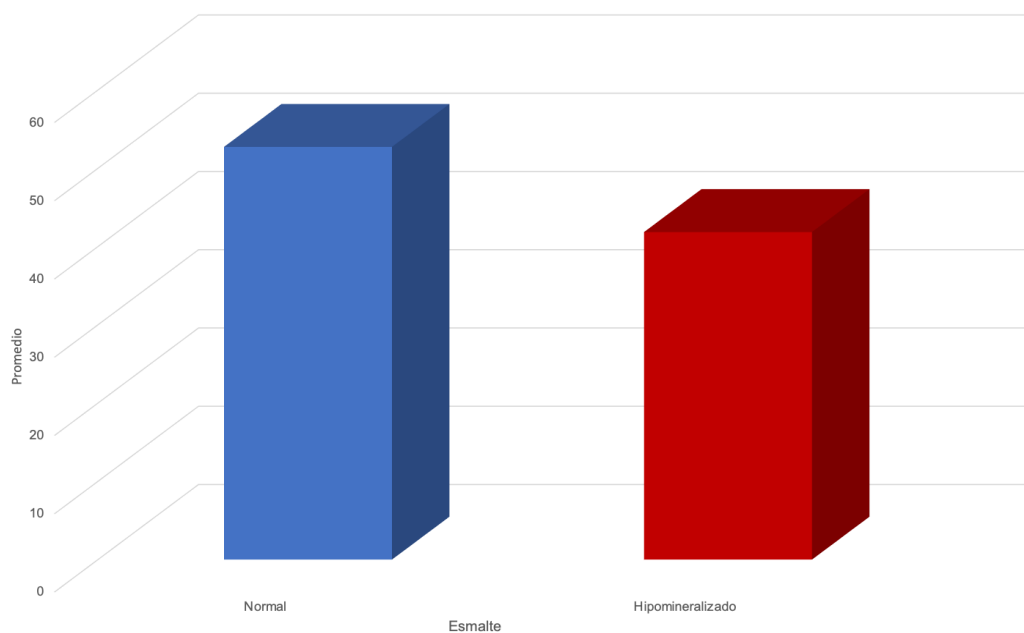
Color	Esmalte normal	Esmalte hipomineralizado	Relación
Amarillo Marrón	52.73	41.85	1.26

Fuente: Instrumento de recolección de datos. Los valores del esmalte son el promedio obtenido en la medición en cm^{-1}

En el cuadro 9 se tiene los valores promedio obtenidos en la medición de la tercera pieza dental estudiada, la relación entre ellas puede indicar un 21% de pérdida de fosfato en la superficie del esmalte dental HM.

Gráfico 3

Comparación de valores para la muestra 4



Fuente: Cuadro 9

Cuadro 10

Cuadro comparativo de valores para la muestra 5

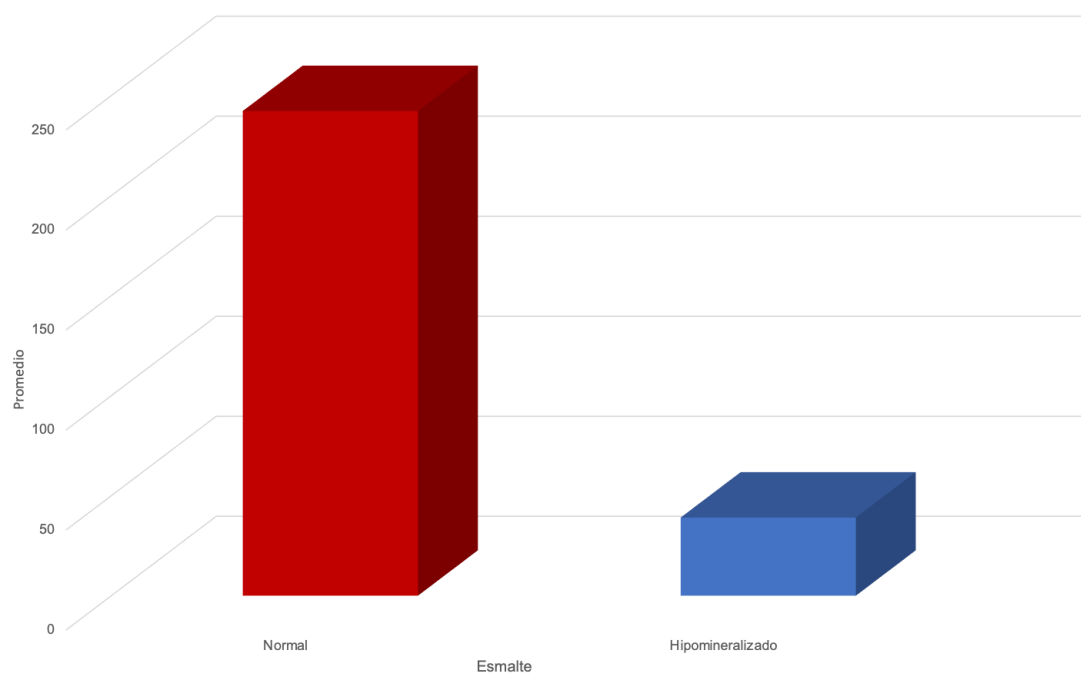
Color	Esmalte normal	Esmalte hipomineralizado	Relación
Pérdida del esmalte: severo	242.3	39.07	6.20

Fuente: Instrumento de recolección de datos. Los valores del esmalte son el promedio obtenido en la medición en cm^{-1}

En el cuadro 4 se tiene los valores promedio obtenidos en la medición de la cuarta muestra estudiada, la relación entre ellas indica un 84% en la pérdida de fosfato en la superficie del esmalte dental HM.

Gráfico 4

Comparación de valores para la muestra 5



Fuente: Cuadro 10

Cuadro 11

Cuadro comparativo de valores para la muestra 6

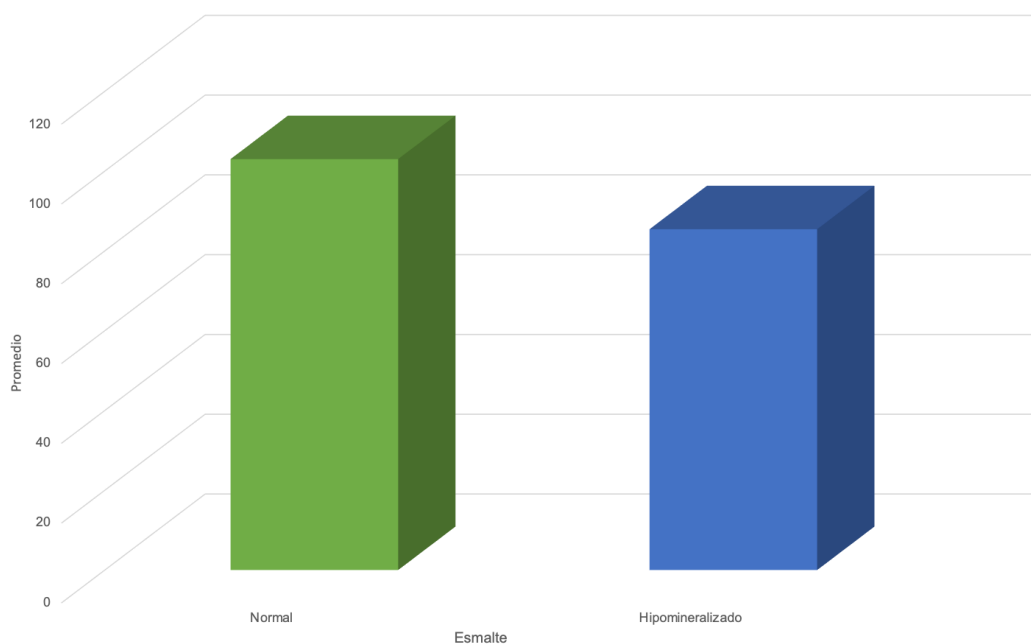
Color	Esmalte normal	Esmalte hipomineralizado	Relación
Blanco crema	103	85.43	1.21

Fuente: Instrumento de recolección de datos. Los valores del esmalte son el promedio obtenido en la medición en cm^{-1}

En el cuadro 11 se presentan los valores promedio obtenidos en la medición de la quinta muestra estudiada, la relación entre ellas puede indicar un 17% en la pérdida de fósforo en la superficie del esmalte dental HM.

Gráfico 5

Comparación de valores para la muestra 6



Fuente: Cuadro 11

Cuadro 12

Cuadro comparativo de valores para la muestra 7

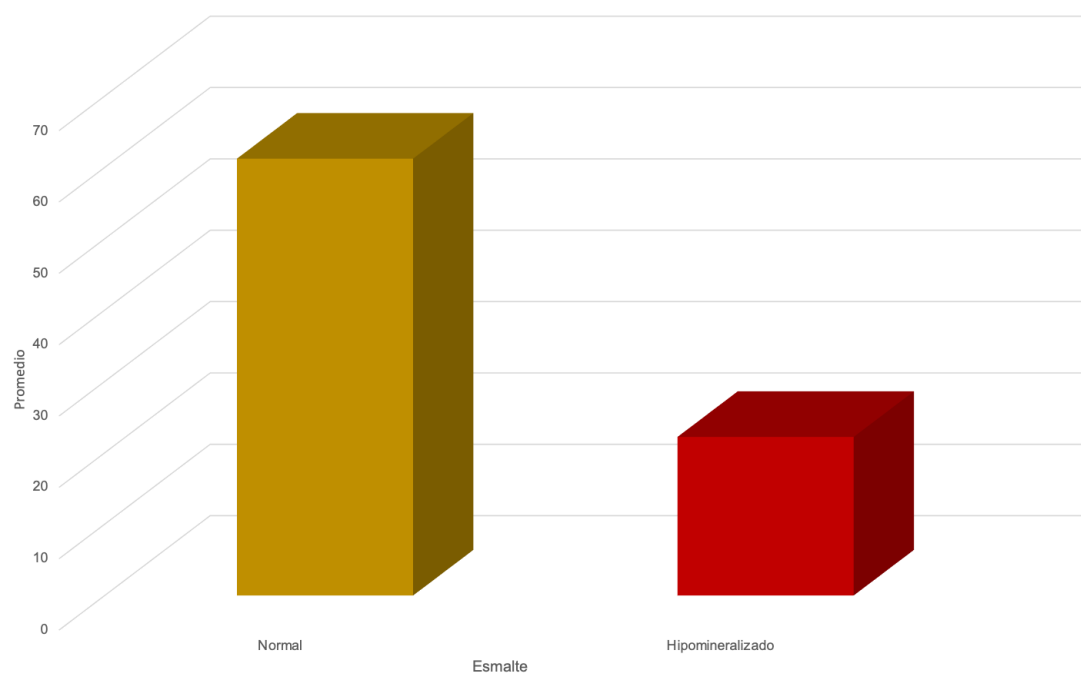
Color	Esmalte normal	Esmalte hipomineralizado	Relación
Pérdida de esmalte: severo	61.22	22.22	2.76

Fuente: Instrumento de recolección de datos. Los valores del esmalte son el promedio obtenido en la medición en cm^{-1}

El cuadro 12 muestra los valores promedio obtenidos en la medición de la sexta muestra estudiada, la relación entre ellas disminuye en un 64% la cantidad de fosfato en la superficie del esmalte dental HM.

Gráfico 6

Comparación de valores para la pieza 7



Fuente: Cuadro 12

Cuadro 13

Cuadro comparativo de valores para la muestra 8

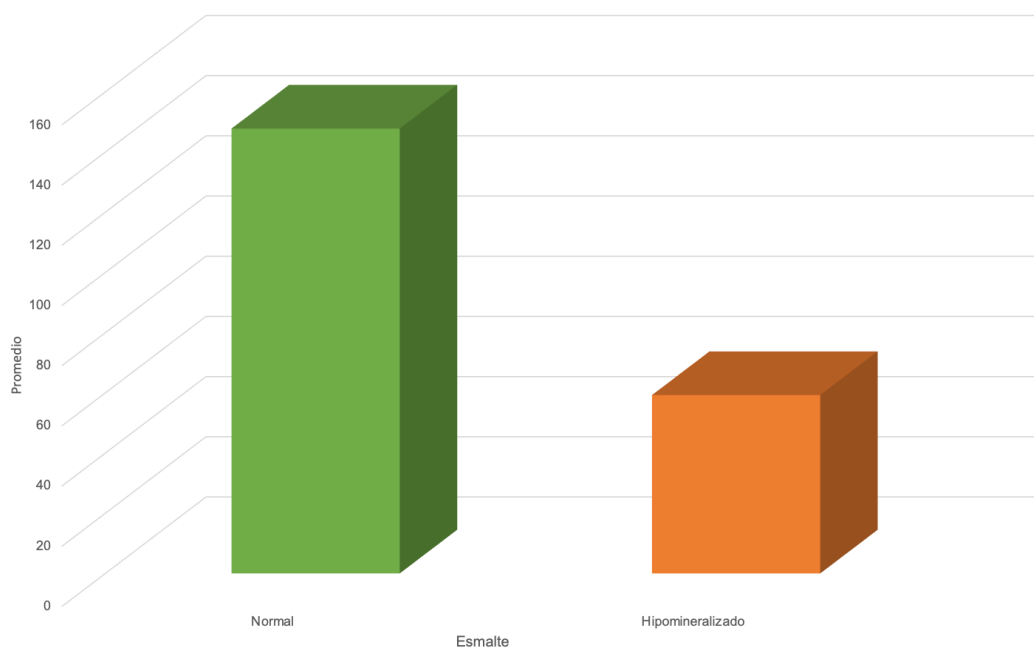
Color	Esmalte normal	Esmalte hipomineralizado	Relación
Blanco crema	147.8	59.26	2.49

Fuente: Instrumento de recolección de datos. Los valores del esmalte son el promedio obtenido en la medición en cm^{-1}

En el cuadro 13 se indican los valores promedio obtenidos en la medición de la séptima muestra estudiada, la relación entre ellas indica un 60% de pérdida de fosfato en la superficie del esmalte dental HM.

Gráfico 7

Comparación de valores para la muestra 8



Fuente: Cuadro 13

Cuadro 14

Cuadro comparativo de valores para la muestra 9

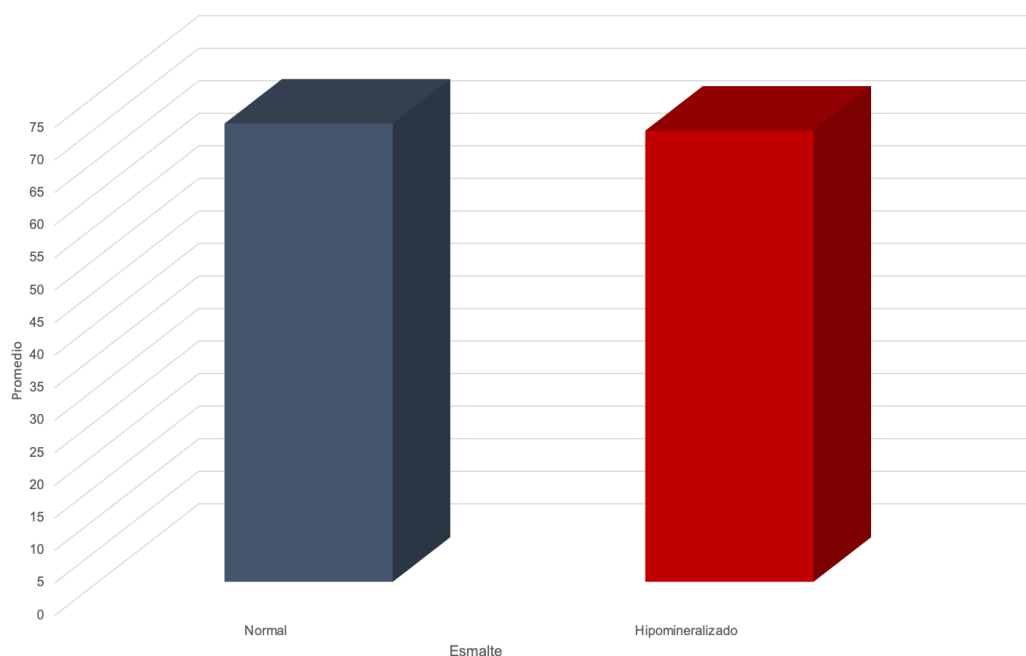
Color	Esmalte normal	Esmalte hipomineralizado	Relación
Blanco crema	70.41	69.32	1.02

Fuente: Instrumento de recolección de datos. Los valores del esmalte son el promedio obtenido en la medición en cm^{-1}

En el cuadro 14 se tiene los valores promedio obtenidos en la medición de la octava muestra estudiada, la relación puede indicar que existe un 2% de pérdida de fosfato en la superficie del esmalte dental HM.

Gráfico 8

Comparación de valores para la muestra 9



Fuente: Cuadro 14

Cuadro 15

Cuadro comparativo de valores para la muestra 11

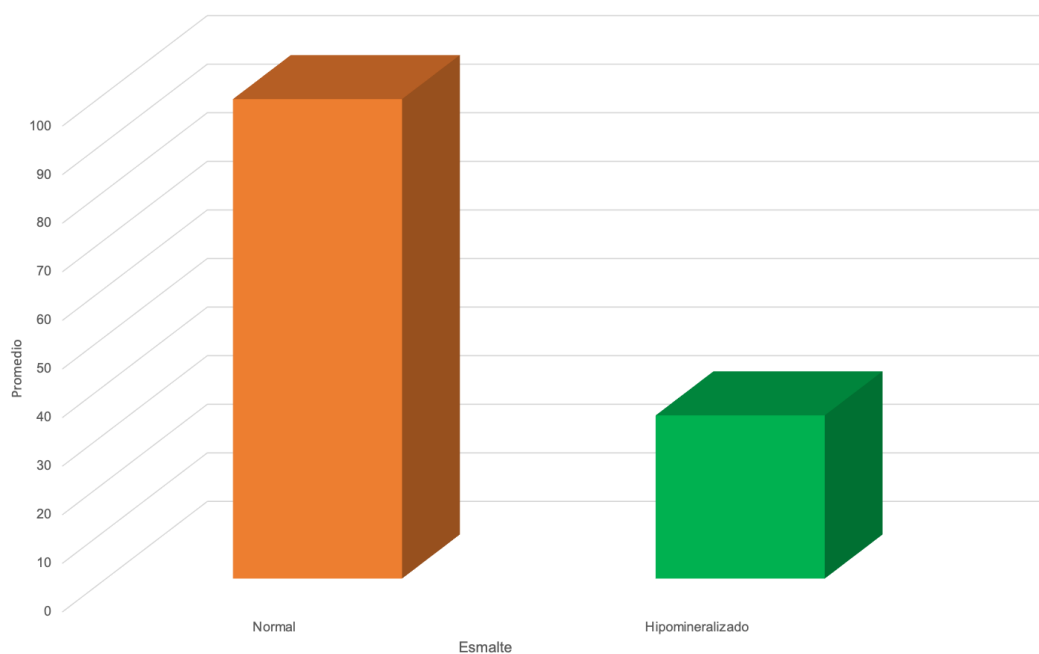
Color	Esmalte normal	Esmalte hipomineralizado	Relación
Blanco crema	98.68	33.59	2.94

Fuente: Instrumento de recolección de datos. Los valores del esmalte son el promedio obtenido en la medición en cm^{-1}

En el cuadro 9 se observan los valores promedio obtenidos en la medición de la novena muestra estudiada, la relación entre ellas puede indicar la disminución del 66% la cantidad de fosfato en la superficie del esmalte dental HM.

Gráfico 9

Comparación de valores para la muestra 11



Fuente: Cuadro 15

Cuadro 16

Cuadro comparativo de valores para la muestra 12

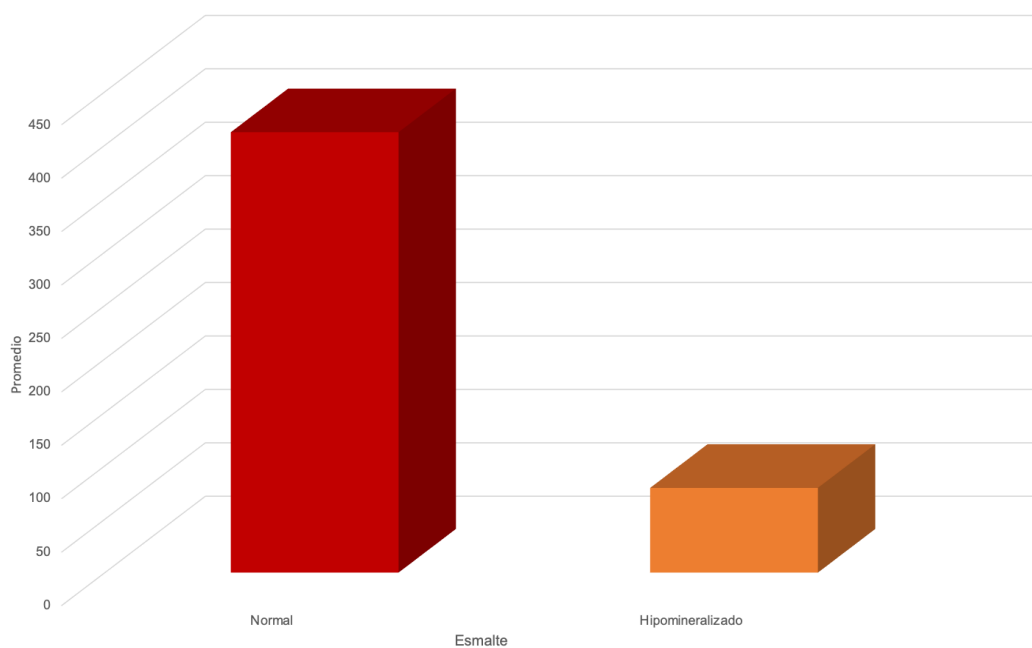
Color	Esmalte normal	Esmalte hipomineralizado	Relación
Amarillo Marrón	412.1	79.27	5.20

Fuente: Instrumento de recolección de datos. Los valores del esmalte son el promedio obtenido en la medición en cm^{-1}

En el cuadro 16 se muestran los valores promedio obtenidos en la medición de la décima muestra, mostrando que la cantidad de fosfatos en la superficie del esmalte HM disminuyó en un 81% comparado con la superficie del esmalte dental sana no HM.

Gráfico 10

Comparación de valores para la muestra 12



Fuente: Cuadro 16

Cuadro 17

Cuadro comparativo de valores para la muestra 13

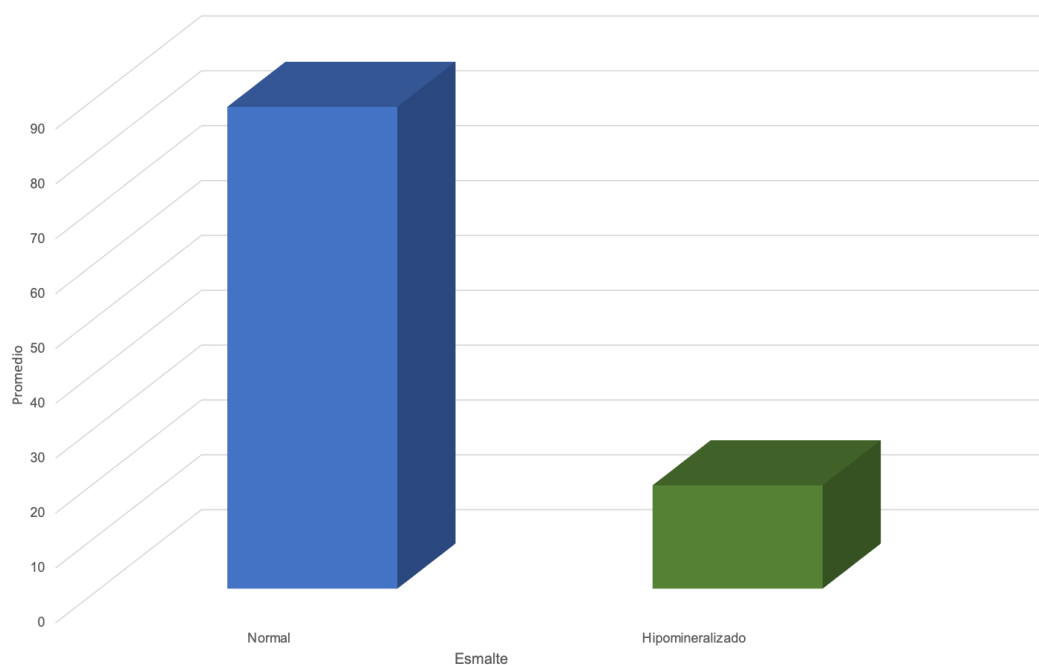
Color	Esmalte normal	Esmalte hipomineralizado	Relación
Amarillo Marrón	87.82	18.83	4.66

Fuente: Instrumento de recolección de datos. Los valores del esmalte son el promedio obtenido en la medición en cm^{-1}

En el cuadro 17 se tiene la comparación de los valores promedio obtenidos en la medición de la muestra once, la relación puede indicar una reducción del 79% en la cantidad de fosfato en la superficie del esmalte dental HM.

Gráfico 11

Comparación de valores para la muestra 13



Fuente: Cuadro 17

Cuadro 18

Cuadro comparativo de valores para la muestra 15

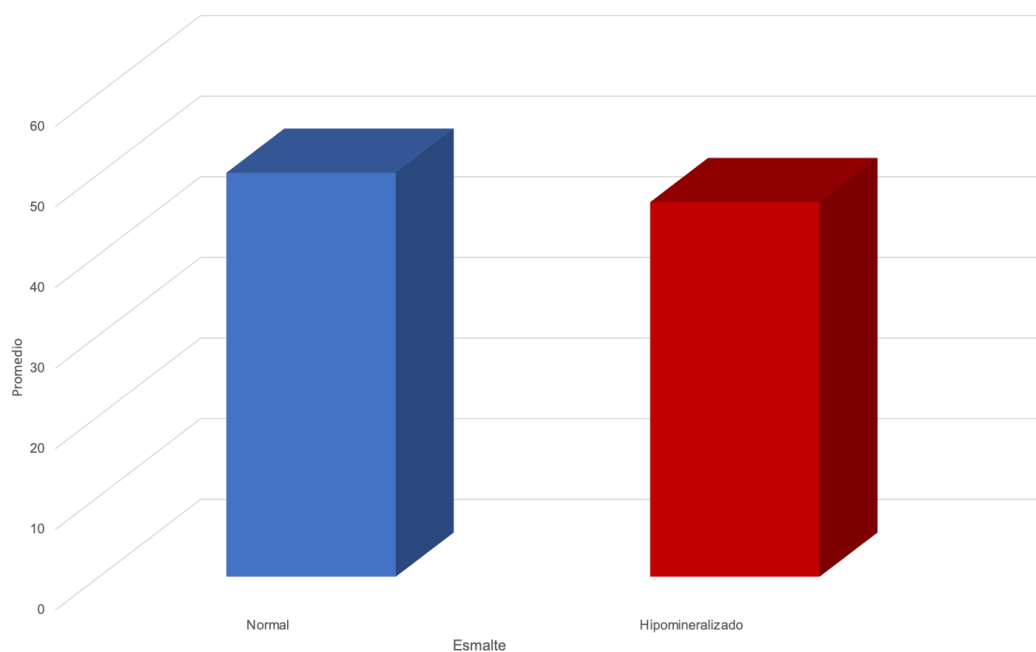
Color	Esmalte normal	Esmalte hipomineralizado	Relación
Amarillo Marrón	50.09	46.45	1.08

Fuente: Instrumento de recolección de datos. Los valores del esmalte son el promedio obtenido en la medición en cm^{-1}

En el cuadro 18 se tiene la comparación de los valores promedio obtenidos en la medición de la decimosegunda muestra, la relación entre ellas puede indicar un 7% en la pérdida de fosfato en la superficie del esmalte dental HM.

Gráfico 12

Comparación de valores para la muestra 15



Fuente: Cuadro 18

Cuadro 19

Cuadro comparativo de valores para la muestra 16

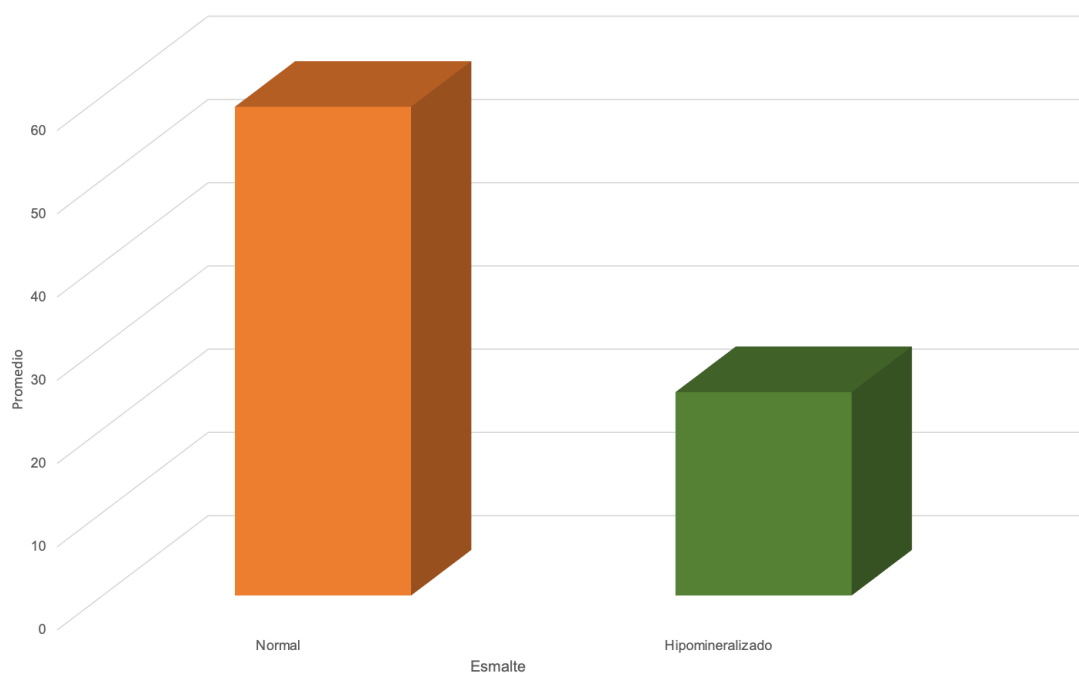
Color	Esmalte normal	Esmalte hipomineralizado	Relación
Amarillo marrón	58.71	24.43	2.40

Fuente: Instrumento de recolección de datos. Los valores del esmalte son el promedio obtenido en la medición en cm^{-1}

En el cuadro 19 muestra la comparación de los valores promedio obtenidos en la medición de la decimotercera pieza, indicando la disminución del 58% de fosfato en la superficie del esmalte dental HM.

Gráfico 13

Comparación de valores para la muestra 16



Fuente: Cuadro 19

Cuadro 20

Cuadro comparativo de valores para la muestra 20

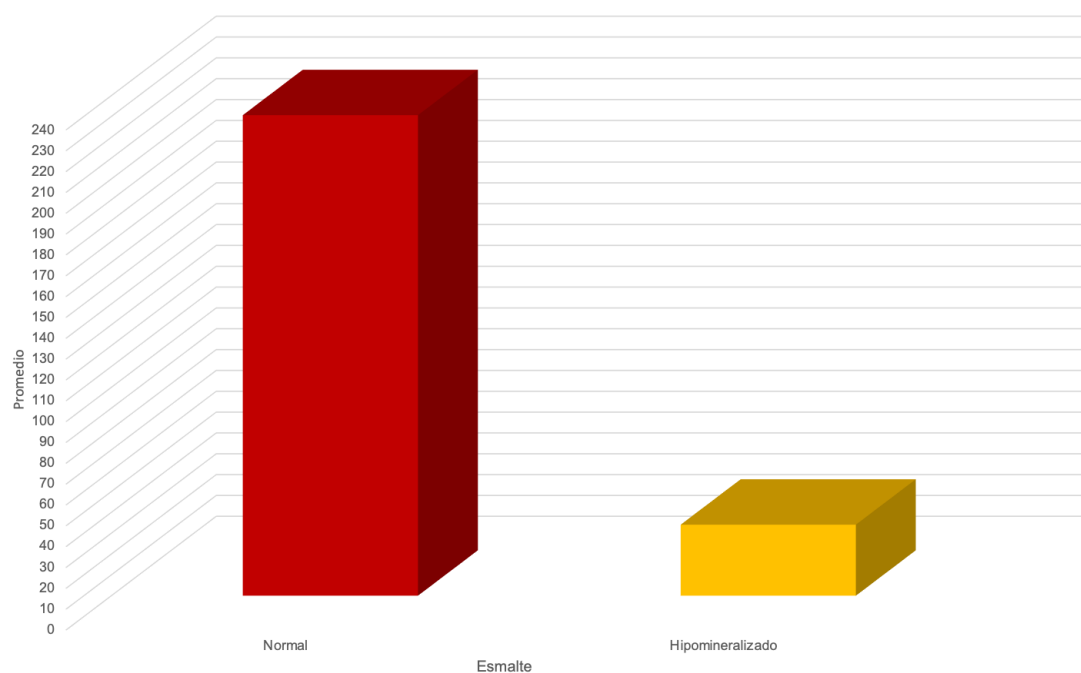
Color	Esmalte normal	Esmalte hipomineralizado	Relación
Pérdida de esmalte: severo	230.6	34.09	6.76

Fuente: Instrumento de recolección de datos. Los valores del esmalte son el promedio obtenido en la medición en cm^{-1}

En el cuadro 20 se tiene la comparación de los valores promedio obtenidos en la medición de la muestra catorce, la relación entre ellas muestra la pérdida del 85% de fosfato en la superficie del esmalte dental HM.

Gráfico 14

Cuadro comparativo de valores para la muestra 20



Fuente: Cuadro 20

Cuadro 21

Cuadro comparativo de valores para la muestra 21

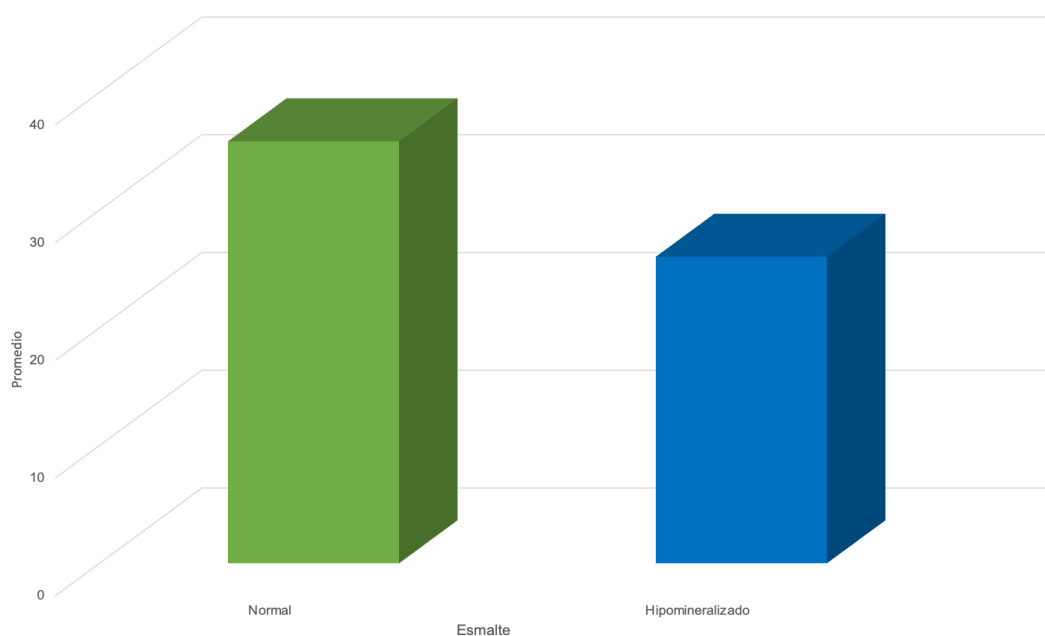
Color	Esmalte normal	Esmalte hipomineralizado	Relación
Pérdida de esmalte: severo	35.83	26.03	1.38

Fuente: Instrumento de recolección de datos. Los valores del esmalte son el promedio obtenido en la medición en cm^{-1}

En el cuadro 21 se tiene la comparación de los valores promedio obtenidos en la medición de la muestra quince, y la relación entre ellas puede indicar un 27% de pérdida de fosfato en la superficie del esmalte dental HM.

Gráfico 15

Comparación de valores para la muestra 21



Fuente: Cuadro 21

Cuadro 22

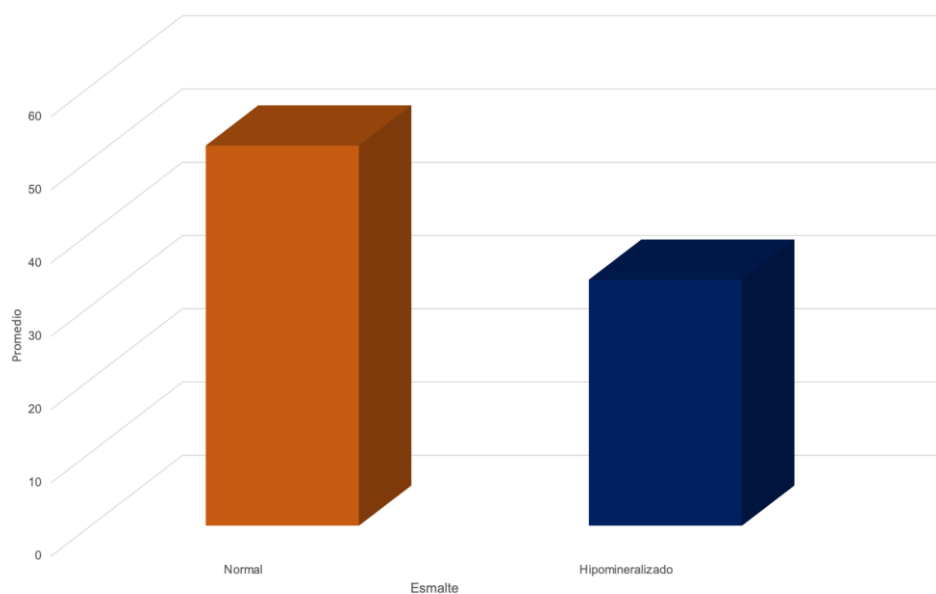
Cuadro comparativo de valores para la muestra 22

Color	Esmalte normal	Esmalte hipomineralizado	Relación
Pérdida de esmalte: severo	51.87	33.56	1.55

Fuente: Instrumento de recolección de datos. Los valores del esmalte son el promedio obtenido en la medición en cm^{-1}

En el cuadro 22 se tiene la comparación de los valores promedio obtenidos en la medición de la muestra dental dieciséis, la relación entre ellas puede indicar un 35% de pérdida del fósforo en la superficie del esmalte dental HM.

Gráfico 16
Comparación de valores para la muestra 22



Fuente: Cuadro 22
Cuadro 23

Cuadro resumen comparativo de los valores promedio de las muestras

Pieza	Esmalte normal	Esmalte hipomineralizado
1	78.42	64.34
2	42.14	33.40
4	52.73	41.85
5	242.30	39.07
6	103.00	85.43
7	61.22	22.22
8	147.80	59.26

9	70.41	69.32
11	98.68	33.59
12	412.10	79.27
13	87.82	18.83
15	50.09	46.45
16	58.71	24.43
20	230.6	34.09
21	35.83	26.03
22	51.87	33.56

Fuente: Instrumento de recolección de datos. Los valores del esmalte son el promedio obtenido en la medición en cm^{-1}

La razón y el porcentaje de los datos del espectro Raman (cuadro), esmalte sano entre el hipomineralizado, se calculan mediante la ecuación física, por el físico Eduardo Chung, de la siguiente manera:

EN: esmalte normal

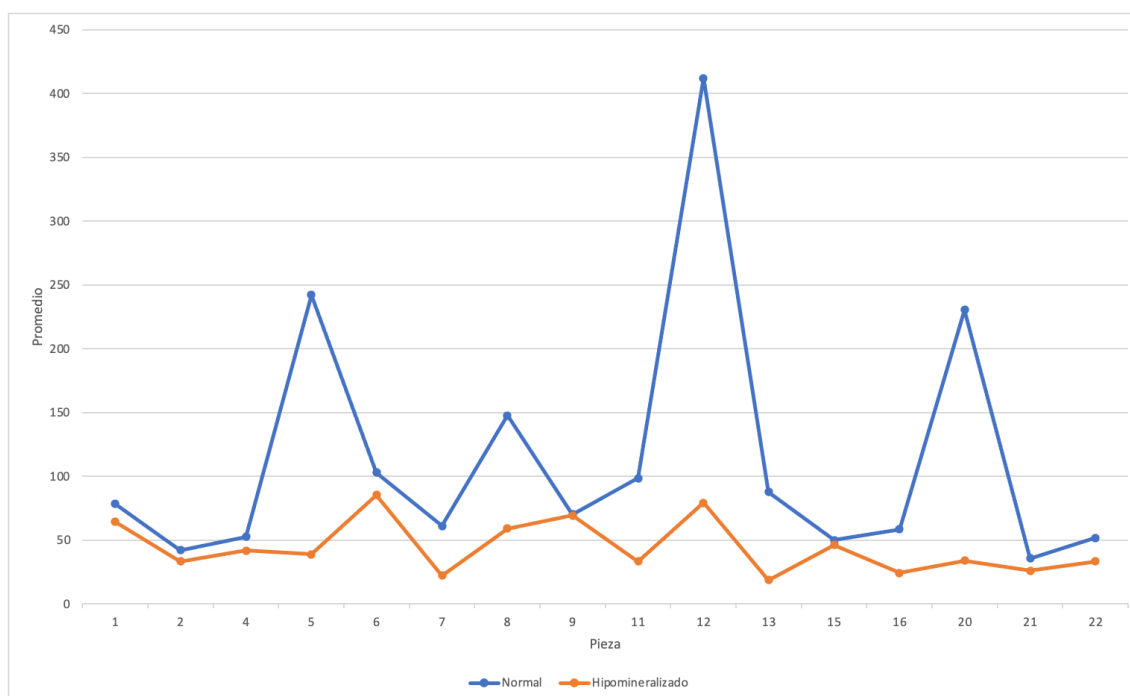
EHM: esmalte hipomineralizado

Diferencia porcentual: $\frac{EN - EHM}{EN}$

Razón: $\frac{EN}{EHM}$

Gráfico 17

Resumen comparativo de los valores promedio de las muestras



Fuente: Cuadro 23

En el cuadro 23 y el gráfico 17, se tiene la comparación de los valores promedio obtenidos en la medición de las dieciséis piezas dentales estudiadas, en el cual la relación entre ellas pudo indicar un aumento del 55% en la pérdida de fosfatos.

Prueba de hipótesis

La hipótesis de investigación (H_0) se definió de la siguiente manera:

“Usando la espectroscopía Raman, observamos menor cantidad de fosfatos (hidroxiapatita) en el esmalte dental hipomineralizado que en el esmalte dental no hipomineralizado.”

Generalidades

Un contraste de hipótesis es un proceso estadístico mediante el cual se investiga si una propiedad que se supone que cumple una población, es compatible con lo observado en una muestra de dicha población. Es un procedimiento que permite elegir una hipótesis de trabajo de entre dos posibles y antagónicas.

Hipótesis Estadística. Todo contraste de hipótesis se basa en la formulación de dos hipótesis exhaustivas y mutuamente exclusivas:

1. Hipótesis nula (H_0)
2. Hipótesis alternativa (H_1)

La hipótesis H_0 es la que se desea contrastar. Consiste generalmente en una afirmación concreta sobre la forma de una distribución de probabilidad o sobre el valor de alguno de los parámetros de esa distribución. El nombre de “nula” significa “sin valor, efecto o consecuencia”, lo cual sugiere que H_0 debe identificarse con la hipótesis de no cambio (a partir de la opinión actual); no diferencia, no mejora, etc. H_0 representa la hipótesis que se mantiene a no ser que los datos indiquen su falsedad, y puede entenderse, por tanto, en el sentido de “neutra”. La hipótesis H_0 nunca se considera probada, aunque puede ser rechazada por los datos. Por ejemplo, la hipótesis de que dos poblaciones tienen la misma media puede ser rechazada fácilmente cuando ambas difieren mucho, analizando muestras suficientemente grandes de ambas poblaciones, pero no puede ser “demostrada” mediante muestreo, puesto que siempre cabe la posibilidad de que las medias difieran en una cantidad lo suficientemente pequeña para que no pueda ser detectada, aunque la muestra sea muy grande. Dado que se descarta o no la hipótesis nula a partir de muestras obtenidas (es decir, no se dispone de información completa sobre la población), no será posible garantizar que la decisión tomada sea la correcta.

La hipótesis H_1 es la negación de la nula. Incluye todo lo que H_0 excluye. La hipótesis H_0 asigna un valor específico al parámetro en cuestión y por lo tanto “el igual” siempre forma parte de H_0 .

La idea básica de la prueba de hipótesis es que los hechos tengan probabilidad de rechazar H_0 . La hipótesis H_0 es la afirmación que podría ser rechazada por los hechos.

El interés del investigador se centra, por lo tanto, en la H_1 .

La regla de decisión. Es el criterio que se va a utilizar para decidir si la hipótesis nula planteada debe o no ser rechazada. Este criterio se basa en la partición de la distribución muestral del estadístico de contraste en dos regiones o zonas mutuamente excluyentes: región crítica o región de rechazo y región de no-rechazo.

Región de no-rechazo. Es el área de la distribución muestral que corresponde a los valores del estadístico de contraste próximos a la afirmación establecida en H_0 . Es decir, los valores del estadístico de contraste que nos conducen a decidir H_0 es por tanto, el área correspondiente a los valores del estadístico de contraste que es probable que ocurran si H_0 es verdadera. Su probabilidad se denomina nivel de confianza y se representa por $1-\alpha$.

Región de rechazo o región crítica. Es el área de distribución muestral que corresponde a los valores del estadístico de contraste que se encuentran tan alejados de la afirmación establecida en H_0 , que es muy poco probable que ocurran si H_0 es verdadera. Su probabilidad se denomina nivel de significación o nivel de riesgo y se representa con la letra α . Una vez definidas las dos zonas, la regla de decisión consiste en rechazar H_0 si el estadístico de contraste toma un valor perteneciente a la zona de rechazo, o mantener H_0 si el estadístico de contraste toma un valor perteneciente a la zona de no-rechazo.

El tamaño de las zonas de rechazo y no-rechazo se determina fijando el valor de α , es decir, fijando el nivel de significación con el que se desea trabajar. Se suele tomar un 1% (0.01) o un 5% (0.05). Un 5% de zona de rechazo suele ser el valor por defecto en las investigaciones.

Con estos conceptos en mente, se utilizan la prueba t de Students para muestras relacionadas, con el fin de probar si la diferencia en el promedio obtenido en el esmalte no HM versus el esmalte HM es significativa o no. Para esta prueba se asume H_0 con la premisa de que no existe diferencia entre estos promedios y H_1 como sí existe diferencia entre estos promedios.

Entonces se tiene:

$$H_0 \Rightarrow \mu_1 \neq \mu_2$$

$$H_1 \Rightarrow \mu_1 = \mu_2$$

Lo que significa que, para la prueba del estadístico t de Students, se intentará demostrar que la diferencia de los promedios de las medidas obtenidas en las muestras de la investigación es significativamente diferente con un 95% de confianza.

El resultado de la prueba es el siguiente:

Estadísticas de muestras emparejadas

		Media	N	Desviación	Desv. Error promedio
Par 1	EN	113.9825	1 6	101.023 22	25.25581
	EH M	44.4463	1 6	20.8511 9	5.21280

EN = Esmalte normal

EHM = Esmalte hipomineralizado

Correlaciones de muestras emparejadas

	N	Correlación	Sig.
--	---	-------------	------

Par 1	EN & EHM	16	.405	.120
----------	-------------	----	------	------

Prueba de muestras emparejadas

		Diferencias emparejadas							
		Media	Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
					Inferior	Superior			
P a r 1	EN - EH M	69.53 625	94.519 49	23.62 987	19.17 037	119.902 13	2. 94 3	15	.010

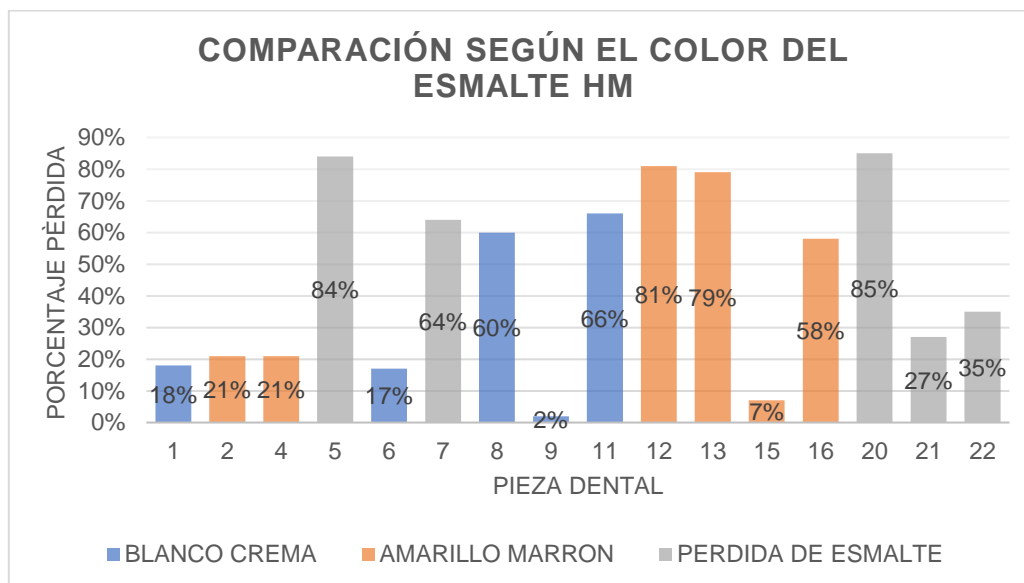
Al comparar los promedios de cada población estudiada (esmalte normal no hipomineralizado versus esmalte hipomineralizado), donde en las muestras con el esmalte no hipomineralizado el promedio de los valores fueron de 113.98 cm^{-1} y en las muestras con el esmalte hipomineralizado el promedio de los valores fue de 44.44 cm^{-1} , claramente se nota que el promedio en ambas poblaciones no es igual (hay una diferencia de 69.53 cm^{-1}), ahora el valor de significancia (sig. bilateral) es 0.10, mayor a 0.05, cae en la región de aceptación, puede comprobarse entonces la hipótesis de investigación de que hay diferencias entre ambos promedios, entonces se puede afirmar con un 95% de confianza que se observa una menor cantidad de minerales de fosfatos (hidroxiapatita) en el esmalte hipomineralizado que en el esmalte dental no hipomineralizado.

Análisis de varianza, según clasificación de color

En el gráfico 18, se muestra la comparación por porcentajes según los diferentes colores del esmalte HM de las 16 muestras analizadas.

Gráfico 18

Resumen comparativo de las muestras según el color del esmalte HM



Fuente: Cuadro 23

Utilizando el mismo procedimiento mencionado para la prueba de hipótesis, se realizó un contraste utilizando los valores promedio de la superficie normal versus el hipomineralizado, el resultado de ANOVA es:

		N	Media	Desv. Desviación
Normal	Blanco Crema	5	99.6620	30.15077
	Amarillo Marrón	6	117.2650	145.28894
	Pérdida de Esmalte	5	124.3640	102.80540
	Total	16	113.9825	101.02322
Hipomineralizado	Blanco Crema	5	62.3880	18.85408
	Amarillo Marrón	6	40.7050	21.53290
	Pérdida de Esmalte	5	30.9940	6.76417
	Total	16	44.4463	20.85119

		ANOVA				
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Normal	Entre grupos	1628.910	2	814.455	.070	.933
	Dentro de grupos	151456.463	13	11650.497		
	Total	153085.373	15			
Hipomineralizado	Entre grupos	2598.329	2	1299.164	4.305	.037
	Dentro de grupos	3923.251	13	301.789		
	Total	6521.580	15			

Los valores de significancia son mayores a 0.05, entonces se puede indicar que las diferencias entre los grupos (clasificación por colores) son significativas en un 95% de confianza, estos valores promedio según color.

Seguidamente se hizo un análisis de varianza por grupos a saber: blanco crema versus amarillo marrón, blanco crema versus pérdida de esmalte y por último amarillo marrón versus pérdida de esmalte, los resultados son los siguientes:

Contraste Blanco Crema versus Amarillo Marrón

		N	Media	Desv. Desviación
Normal	Blanco Crema	5	99.6620	30.15077
	Amarillo Marrón	6	117.2650	145.28894
	Total	11	109.2636	104.89316
Hipomineralizado	Blanco Crema	5	62.3880	18.85408
	Amarillo Marrón	6	40.7050	21.53290
	Total	11	50.5609	22.41087

		ANOVA				
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Normal	Entre grupos	845.088	1	845.088	.070	.798
	Dentro de grupos	109180.661	9	12131.185		
	Total	110025.749	10			
Hipomineralizado	Entre grupos	1282.234	1	1282.234	3.085	.113
	Dentro de grupos	3740.235	9	415.582		
	Total	5022.469	10			

Contraste Blanco Crema versus Pérdida de Esmalte

		N	Media	Desv. Desviación
Normal	Blanco Crema	5	99.6620	30.15077
	Pérdida de Esmalte	5	124.3640	102.80540
	Total	10	112.0130	72.60054
Hipomineralizado	Blanco Crema	5	62.3880	18.85408
	Pérdida de Esmalte	5	30.9940	6.76417
	Total	10	46.6910	21.26259

		ANOVA				
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Normal	Entre grupos	1525.472	1	1525.472	.266	.620
	Dentro de grupos	45912.077	8	5739.010		
	Total	47437.549	9			
Hipomineralizado	Entre grupos	2463.958	1	2463.958	12.282	.008
	Dentro de grupos	1604.922	8	200.615		
	Total	4068.880	9			

Contraste Amarillo Marrón versus Pérdida de Esmalte

		N	Media	Desv. Desviación
Normal	Amarillo Marrón	6	117.2650	145.28894
	Pérdida de Esmalte	5	124.3640	102.80540
	Total	11	120.4918	121.63784
Hipomineralizado	Amarillo Marrón	6	40.7050	21.53290
	Pérdida de Esmalte	5	30.9940	6.76417
	Total	11	36.2909	16.60884

		ANOVA				
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Normal	Entre grupos	137.443	1	137.443	.008	.929
	Dentro de grupos	147820.187	9	16424.465		
	Total	147957.631	10			
Hipomineralizado	Entre grupos	257.191	1	257.191	.925	.361
	Dentro de grupos	2501.345	9	277.927		
	Total	2758.537	10			

Observando los resultados anteriores, se aprecia que sigue existiendo diferencia en los promedios de los grupos normal e hipomineralizado con un 95% de confianza, los valores de la significancia son mayores a 0.05 establecido como parámetro para establecer la confianza en la prueba estadística.

La comparación según el color demuestra que, existe pérdida de mineral fosfato (hidroxiapatita) en el esmalte HM, descrito en la **gráfica No 18** en el siguiente orden descendente: 85% en el esmalte HM marrón con pérdida de estructura, seguido por el 81% en el esmalte HM color amarillo, y 66% de pérdida de fosfatos en el esmalte HM blanco crema.

Demostramos de ésta manera, que sí existe un porcentaje significativo en la pérdida de fosfatos del esmalte HM de manera descendente según el color, indicando que la gravedad del defecto es mayor en el esmalte hipomineralizado que presenta pérdida de su estructura.

También observamos que, el resultado del porcentaje más bajo se presentó en un esmalte HM con lesión blanco-crema con un 2%, esto demuestra lo que indica la literatura, en el cual el esmalte en su fase de mineralización contiene mayor cantidad de minerales y menor cantidad de proteínas atrapadas entre los cristales de esmalte, por lo que su tonalidad quedaría como lesión blanca /crema.

10. Discusión

En el esmalte dental el componente mineral representativo es la *hidroxiapatita* con la fórmula $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ siendo el grupo *fosfato* el principal ión incorporado al cristal de la hidroxiapatita y para el estudio con la espectroscopía Raman es un buen indicador del grado de mineralización del esmalte dental, por lo que en esta investigación se cuantifica la cantidad de fosfatos presentes en el esmalte dental y se determina que existe relación entre la reducción de la cantidad de fosfatos del esmalte dental HM y sano, y que la densidad mineral se correlaciona fuertemente con el color de la lesión, encontrando que las lesiones marrones tienen menos fosfatos que las lesiones blanco-crema, así como lo mencionan Fraser et al. 2015 y Pérez et al. 2022 en sus investigaciones. El esmalte HM presenta una mayor porosidad, retención de proteínas, un patrón irregular de los cristales desorganizados, espacios de las vainas prismáticas amplias que contribuye a propiedades mecánicas inferiores, al compararse con el esmalte normal que presenta una microestructura bien organizada, tal como reportan Fragel et al. en 2010.

La espectroscopía Raman demuestra que existe tal disminución de fosfatos del esmalte dental en las superficies HM, ayudando a comprender el mejor manejo de este tipo de esmalte según el color de la lesión, ya que al ser un esmalte HM con una microestructura muy porosa, al aplicar sobre su superficie el grabado ácido se afecta más este tipo de esmalte HM que el esmalte normal, debido a la retención de proteínas, y escasa cantidad de fosfatos en el esmalte HM, demostrando que

en la interfase tiene una adhesión muy deficiente, por lo que el éxito de las restauraciones adhesivas disminuye.^{86, 94, 95}

El esmalte HM al presentar menor cantidad de fosfatos en su estructura, sus valores de resistencia son más bajos a las fuerzas masticatorias en comparación con el esmalte dental normal, tal como lo menciona Fagrell et al. en 2010, esto demuestra el motivo por el cual sucede la ruptura del esmalte dental HM post eruptiva una vez entran en oclusión funcional.

Se estudiaron las características de las diferentes manifestaciones clínicas del esmalte HM: blanca - crema, amarillo, marrón y el esmalte con fractura que involucra lesión por HM, y se comparó con el esmalte normal mediante la espectroscopía Raman, tal como reportan Fraser et al. en 2015, se observa una reducción significativa en el contenido de fosfatos del esmalte HM, demostrando que el esmalte HM marrón con fractura del esmalte presenta una mayor pérdida de fosfatos en comparación con el esmalte sano, y que la lesión blanco – crema muestran pérdida de fosfatos en menor cantidad, destacándose los diferentes cambios en el contenido de fosfatos, demostrando que la espectroscopía Raman es una excelente herramienta para estudiar estos cambios y comparaciones en el esmalte dental sano e HM. Así también, se demuestra la importancia de que, la espectroscopía Raman posee una gran ventaja al ser una técnica no invasiva, a diferencia de otras técnicas que requieren alterar la muestra en estudio, así lo reportan Guzmán et al. en 2020, que no es necesario cortar las muestras para realizar análisis en la estructura del esmalte dental.

Mediante el análisis de la espectroscopía Raman, se puede observar el bajo contenido de fosfatos del esmalte dental HM, asociado al alto contenido de proteínas retenidas en los cristales del esmalte, lo que aumenta la alta susceptibilidad del esmalte dental de presentar caries dental, tal como lo reportan Pérez et al. en 2022, ya que debido al grado de microporosidad que presenta su estructura, aumenta la retención de bacterias en los microtúbulos dentinarios, generando un aumento más acelerado de la desmineralización e hipersensibilidad. Debido a la escasa presencia de cristales de hidroxiapatita más organizados

dentro del esmalte HM, se puede sugerir que al tratarlo con barnices de flúor, fosfatos y calcio según Guentscha A, et al. en 2019, se logra una remineralización creando una interacción de los cristales de fosfatos más organizados presentes en el esmalte, con el ión flúor, formando así una capa de fluorapatita, convirtiendo este esmalte a ser menos soluble en comparación con la hidroxiapatita, ofreciendo una protección mayor contra la caries dental.

Vargas et al. 2020 indican que la espectroscopía Raman es un buen indicador de la mineralización del esmalte dental ya que cuantifica la concentración del fosfato en la hidroxiapatita y de otros iones como el fluoruro que se incorporan en el cristal.

La pérdida de fosfatos en el esmalte HM se debe a que, en la fase de mineralización del esmalte dental, se retienen proteínas como el carbonato, albúminas, en niveles leves, moderados o severos, según el color de la lesión: blanco (el esmalte logra eliminar la mayor parte de las proteínas, aumentando la mineralización de los cristales), amarillo, marrón que, en comparación con el esmalte normal, el esmalte con HM muestra niveles reducidos de fosfatos. ⁹⁵

La importancia clínica de ésta investigación al conocer el grado de pérdida de fosfatos en el esmalte dental HM, tal como lo reportan Guzmán S, et al., 2020, ayuda el poder elegir la mejor opción terapéutica para tratar estos defectos, según el color del defecto de dichas piezas dentales, ya que entre menor cantidad de fosfatos en la superficie del esmalte HM la calidad de adhesión disminuye. Es por esto la importancia de conocer la cantidad de minerales de fosfatos en las diferentes opacidades del esmalte HM ya que, el efecto del grabado ácido sobre un esmalte con mayor contenido orgánico (proteínas) en vez de hacerlo sobre un esmalte con cristales bien organizado y con un alto contenido inorgánico, la adhesión tiende a ser muy deficiente. En estos casos puede ser de ayuda la terapia de remineralización sobre el esmalte HM, como lo demuestra su estudio Guentsch et al. en 2019, en el que utilizan la espectroscopía Raman para demostrar tal aumento en la cristalinidad del esmalte dental con la formación de fluorapatita. Así también, la calidad del esmalte HM puede mejorarse aumentando

su contenido mineral ayudando a reducir su porosidad mediante terapia de remineralización con flúor de alta concentración como los barnices de flúor y el fosfopéptido de caseína fosfato de calcio amorfo (CPP-ACP), dependiendo del tipo de color de la lesión que presente el esmalte HM, ya que entre mayor la opacidad de la lesión (amarillo-marrón) existe más proteínas retenidas y menor cantidad de fosfatos presentes en el esmalte HM como lo demuestra esta investigación, y es necesario la presencia de fosfatos en el esmalte dental para mejorar la remineralización y una adhesión más óptima del material restaurador. Es por esto que el tratamiento de la desprotección del esmalte dental HM puede beneficiar y aumentar la adhesión de los diferentes materiales restauradores, tal como lo menciona en su estudio Crombie et al. en 2013.

La espectroscopía Raman es una técnica vibracional, capaz de proporcionar la información molecular o química, útil en diversos campos como la bioquímica, biomateriales, etc, así lo menciona Ramakrishnaiah et al. en 2015, en el que se estudian los diferentes picos espectrales asociados al esmalte dental en estudio, para comprender los componentes minerales del esmalte dental. En esta investigación es importante mencionar que la distancia de trabajo entre la punta del microscopio y la superficie de la muestra estudiada, fue lo suficientemente cerca, a un diámetro del punto de la muestra reduciéndose hasta $\sim 1-2 \mu\text{m}$, mejorando el campo de estudio al disminuir la distancia, tal como lo mencionan Xiag T et al. en 2015.

En los diferentes hallazgos encontrados en esta investigación sugieren, tal como Berzins et al. 2019, que la espectroscopía Raman es útil para el campo de la investigación en odontología, y así conocer acerca de los minerales que contiene el esmalte dental HM en sus diferentes manifestaciones clínicas.

Durante el análisis de nuestros datos con la espectroscopía Raman, se encuentran los picos espectrales para la banda del fosfato ν_1 cerca de los 960 cm^{-1} tal como estudios previos de Sa Yue et al. en 2017, encontrando que la banda de fosfato es proporcional a la concentración de cristales de hidroxiapatita. El grupo fosfato es importante en la fase inorgánica en el esmalte, por lo que se puede

detectar la intensidad del fosfato ν_1 con el espectro Raman, conociendo los cambios del espectro según el tipo de esmalte dental. El análisis con espectroscopía Raman mide la cantidad de fosfatos en un rango de las bandas espectrales entre 960/1000 cm^{-1} , por lo que estos parámetros se consideran buenos para determinar la estructura química del esmalte dental.

En las consultas dentales acuden muchos pacientes que presentan piezas dentales con HM/HIM, sin embargo, no sucede de igual forma en la cantidad de extracciones dentales realizadas de piezas dentales que presentan tal condición, ya que no suelen ser comunes perderlas por ésta razón, tal como lo reportan Elhennawy et al. en 2017, existen diferentes opciones de tratamientos, por ejemplo, desde la extracción a causa de la hipomineralización severa por hipersensibilidad o destrucción por caries, para ser reemplazados por las segundas molares permanentes con posterior tratamiento de ortodoncia de ser necesario. También, tal como Estima da Cunha et al. en 2018, se puede tratar la HIM mediante tratamientos preventivos como la aplicación de barniz de flúor y/o sellantes de fosas y fisuras o tratamientos restauradores como endodoncias, resinas, coronas, las resinas infiltrantes y tratamientos rehabilitadores como coronas de metal preformadas que ayudan al paciente a conservar sus piezas dentales y son estos eventos que limitan el número de muestras de piezas dentales extraídas con esmalte hipomineralizado para investigaciones.^{33, 34} Esto fue una de las limitaciones dentro de este estudio para poder obtener muestras de piezas dentales con hipomineralización, siendo difícil su recolección ya que, la mayoría de los pacientes optan por restaurarlas y conservarlas en boca, y en caso de extraerlas, en su mayoría han sido tratadas previamente mediante algún tratamiento restaurador, siendo previamente removido el tejido dental hipomineralizado.

En la presente investigación, la cantidad de artículos y estudios acerca del tema en los últimos 20 años, como lo reportan Bussaneli D.G. et al. en 2022., son escasas, motivando al investigador querer obtener mayor información acerca de la composición de los fosfatos del esmalte sano e hipomineralizado, siendo de gran

ayuda al odontólogo al tratar el esmalte dental con esta condición, y así mejorar los resultados clínicos, siendo de importancia conocer la composición de minerales en especial del fosfato, ya que actualmente, las investigaciones sobre la composición de fosfatos de un esmalte HM, es limitada, y la evidencia sobre fundamentar las decisiones clínicas es escasa. Sin embargo, el éxito de dicho resultado clínico que se obtiene en este tipo de esmalte hipomineralizado, depende mucho de cómo tratemos estas proteínas durante la desproteínización del esmalte dental HM antes del grabado ácido, como parte de las estrategias de adhesión, ya que Guzman et al. en 2021, observaron que el efecto del grabado ácido sobre un esmalte con defectos en la mineralización es menos predecible ya que actuará sobre un tejido con mayor contenido orgánico y con un patrón poroso y desorganizado en lugar de un esmalte bien mineralizado, y por lo tanto la adhesión en el esmalte HM es peor, recomendando estos autores que, el tratar el esmalte HM previa a la adhesión con la desproteínización con hipoclorito de sodio (NaOCl) al 5% después del grabado ácido, para remover el exceso de proteínas del esmalte HM. También, es importante reconocer que ante la presencia de un esmalte HM severamente afectado por la presencia de proteínas (color marrón), se recomienda remover gran parte del tejido afectado para optimizar la adhesión en los márgenes de la restauración.²⁴

Finalmente, el conocimiento estructural del esmalte dental HM, introduce nuevas preguntas y respuestas sobre cómo tratar este tipo de esmalte según el color del defecto, por lo que la toma de decisiones de tratamiento es limitada, y será un reto añadido el encontrar un buen material restaurador teniendo en cuenta las limitaciones estructurales que tienen estos defectos del esmalte. De cualquier manera, el conocer la composición estructural de fosfatos del esmalte HM puede ayudar al desarrollo de materiales restauradores más eficaces, ya que en la actualidad se desconoce el éxito tanto en un enfoque preventivo en pacientes niño/a a una edad temprana durante la consulta, y a un nivel restaurador, ya que hasta el momento la información es escasa y limitada acerca de los diferentes procedimientos adecuados con enfoques preventivos de la enfermedad. La

importancia de conocer la composición química del esmalte afectado por HM y la intención de este estudio se centra en tener mayores evidencias en que basar nuestras decisiones clínicas, prevenir de forma exitosa la caries dental que depende de la gravedad de la HM y así abrir un camino hacia futuras investigaciones que ayuden a elegir una terapéutica más efectiva y sobre todo mejorar la calidad de vida de nuestros pacientes.

CAPÍTULO 4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

11. Conclusiones

A través de este estudio, se encontró la presencia del mineral fosfato mediante la espectroscopia Raman, demostrando una diferencia significativa en la concentración de fosfatos del esmalte dental hipomineralizado y no hipomineralizado, con la reducción de un 55% en la cantidad de fosfatos en el esmalte dental hipomineralizado.

En el análisis comparativo realizado en el esmalte dental hipomineralizado por grupos de colores, se resaltan valores significativos en la pérdida del contenido mineral fosfato, demostrando que el esmalte marrón con pérdida de estructura del esmalte, se encuentra con una menor concentración de fosfatos que en un esmalte normal, lo que sugiere una mayor retención de proteínas en su estructura lo que lo hace más poroso, susceptible a fracturas y a presentar caries dental, es decir que, a mayor pérdida de fosfatos va relacionado directamente en proporción al aumento de material orgánico en la estructura del esmalte dental hipomineralizado; y en menor pérdida de fosfatos se encuentra el esmalte dental hipomineralizado blanco tizoso-crema demostrando que es un esmalte con menor contenido orgánico en su estructura y con mayor contenido de fosfato que el resto del grupo. Podemos decir entonces que, la cantidad de fosfatos del esmalte dental hipomineralizado es menor que en el esmalte dental sano. Tal diferencia

según el grado de severidad de las lesiones, parecen estar relacionadas con la desorganización de los cristales de hidroxiapatita del esmalte dental.

Se considera que, es posible realizar el análisis con la espectroscopía Raman para detectar la presencia de fosfatos en un esmalte dental hipomineralizado y compararlo con un esmalte dental sano.

La espectroscopía Raman es una técnica no invasiva que se basa en la vibración de la molécula en estudio e identifica la composición química, por lo que fue de utilidad para analizar y obtener información sobre la organización estructural del esmalte dental sano e hipomineralizado, detectando la banda espectral de la dispersión Raman del fosfato ν_1 en 960 cm^{-1} que caracteriza la concentración del fosfato en el esmalte dental, evaluando de forma efectiva el cambio de este contenido mineral en el esmalte dental. Los hallazgos de este estudio nos indican que, la espectroscopía Raman puede ser una excelente herramienta para estudiar, comprender y determinar las diferencias en los componentes minerales del esmalte dental en sus diferentes condiciones.

Basándonos en los estudios incluidos, y los resultados logrados en esta investigación, se comprende la diferencia que existe entre el esmalte sano y el esmalte hipomineralizado. Comprender los cambios estructurales, mecánicos y químicos del esmalte dental, es un desafío constante tanto para el clínico como para el investigador, ya que nos lleva a introducir respuestas sobre los defectos del esmalte dental como en el caso de la HM.

El conocimiento acerca de los diferentes componentes minerales del esmalte dental como el calcio, carbonato, fosfatos, etc., dentro de la composición de cada tipo de esmalte dental hipomineralizado según el color, debe ser un foco central de estudios futuros que continúen en la investigación de las diferentes propiedades del esmalte dental hipomineralizado, con la finalidad de ayudar a establecer un camino hacia la investigación para la mejora en el tratamiento clínico y prevención, con protocolos estándares de este tipo de defectos del esmalte dental.

12. Recomendaciones

La estructura mineral del esmalte dental sano e hipomineralizado pueden evaluarse con éxito por medio de la espectroscopía Raman debido a su seguridad y costo, al ser una técnica no invasiva a las muestras en estudio, continúa siendo una herramienta útil para la realización de futuras investigaciones en el campo de la odontología.

Este estudio es de gran apoyo para establecer bases de futuras investigaciones acerca de esta condición y continuar en la búsqueda de más información acerca del contenido molecular del esmalte dental HM, permitiendo un mayor conocimiento acerca de los componentes orgánicos como el carbonato, albúmina; y componentes inorgánicos como el calcio y fluoruro, en el cual se puede obtener mayor información acerca la composición mineral del esmalte dental sano e HM.

Así también, existen otras condiciones del esmalte como en el caso de la fluorosis, caries dental, amelogénesis imperfecta, etc, en el que su contenido orgánico e inorgánico del esmalte puede también ser estudiado mediante la espectroscopía Raman.

La finalidad de estudios como este, nos ayuda a mejorar el diagnóstico y guiarnos hacia mejores posibilidades de intervención terapéutica de manera oportuna, mejorando la calidad de vida los pacientes afectados con esta condición.

13. Reconocimientos

Los autores agradecen la colaboración a todo los que apoyaron en que esta investigación fuera posible. Este proyecto es autofinanciado por los autores con apoyo del personal de la facultad de odontología y laboratorio del posgrado de Odontología de la Universidad de Costa Rica (UCR): Dr. Joseph Ulate, Dr. David Lafuente, Dr. Francisco Quesada profesores y asesores de todo el proyecto; Lic Carlos Durán y al Lic. Eduardo Chung profesor y jefe del Departamento de Física, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología de la Universidad de Panamá (UP), por el apoyo en la sección de análisis estadística y análisis de resultados.

13. Referencia Bibliográfica

1. Brad W. Neville, Douglas D. Damm, Carl M. Allen, Angela C. Chi. Oral and Maxillofacial Pathology. Missouri: Riverport Lane St. Louis. 2016.
2. Biondi A, Cortese S, Ortolani A, Argentieri A. Características clínicas y factores de riesgo asociados a Hipomineralización Molar Incisiva. Revista de la Facultad de Odontología (UBA).2010; 25(58):11-15.
3. Ulate J. & Gudiño S. Hipomineralización incisivo molar, una condición clínica aún no descrita en la niñez costarricense. ODOVTOS-Int. J. Dental Sc., 2015; 17-3: 15-28.
4. Sa Y., et al. Compositional, structural and mechanical comparisons of normal enamel and hypomaturation enamel. Acta Biomaterialia 2014; 10 5169–5177.
5. Almualllem Z, Busuttill-Naudi A: Molar incisor hypomineralisation (MIH)—an overview. Br Dent J 2018; 225:601-609.
6. Corral C., Rodríguez H., Cabello R., Bersezio C., Cordeiro, R., M. Consuelo Fresno-Rivasa, Impacto de la hipomineralización incisivo molar en la experiencia de caries en escolares de 6-12 años en Santiago, Chile. 2016.
7. Biondi AM, Cortese SG, Babino L, Toscano MA. Molar incisor hypomineralization: Analysis of asymmetry of lesions. Acta Odontológica Latinoamericana: AOL. 2019; 32(1):44–8.
8. Fraser SJ., Natarajan AK., Clark AS., Drummond BK., Gordon KC. A Raman spectroscopic study of teeth affected with molar–incisor hypomineralisation. J. Raman Spectrosc. 2015; 46, 202–210.

9. Vargas-Koudriavtsev T., et al. Efecto de agentes de blanqueamiento dental sobre la concentración de fosfato en el esmalte dental por medio de espectroscopia Raman. *Revista Odontológica Mexicana*, Vol. 19, pp 2015; 232-239, Núm. 4 Octubre-Diciembre.
10. García de Batres NA., Torres Reyes MR., Ramírez Martínez GA., Aguirre Escobar GA. Alteraciones sistémicas asociadas a Hipomineralización Molar Incisivo (HMI). Una revisión de literatura. *Revista de Odontopediatría Latinoamericana*. Enero - Junio 2022; Vol 12 N° 1.
11. Elfrink MEC, Ghanim A, Manton DJ, Weerheijm KL. Standardised studies on Molar Incisor Hypomineralisation (MIH) and Hypomineralised Second Primary Molars (HSPM): a need. *European Archives of Paediatric Dentistry*. 2015;16(3):247–55.
12. Elfrink MEC., Moll HA., Kieft-de Jong JC., Jaddoe VWV., Hofman A., Ten Cate JM, et al. Pre -and postnatal determinants of deciduous molar hypomineralisation in 6-year-old children. The generation R study. 2014; 9(7):1–8.
13. Al-Mosawi M., Davis GR., Bushby A., Montgomery J., Beaumont, J., Al-Jawad, M. Crystallographic texture and mineral concentration quantification of developing and mature human incisal enamel. *Scientific Reports*, 2018; 8:14449.
14. Teng-Xiang Huang, Sheng-Chao Huang, Mao-Hua Li, Zhi-Cong Zeng & Xiang Wang & Bin Ren. Tip-enhanced Raman spectroscopy: tip-related issues- *Anal Bioanal Chem* 2015., 407:8177–8195.
15. Crombie F.A., Cochrane N.J., Manton D.J., Palamara J.E.A., Reynolds E.C. Mineralisation of Developmentally Hypomineralised Human Enamel in vitro. *Caries Res*; 2013; 47:259–263.

16. Weerheijm KL, Mejàre I. Molar incisor hypomineralization: a questionnaire inventory of its occurrence in member countries of the European Academy of Paediatric Dentistry (EAPD). *International Journal of Paediatric Dentistry*. 2003., 13:411-416.
17. Crombie F, Manton D, Kilpatrick N. Aetiology of molar-incisor hypomineralization: a critical review. *International Journal of Paediatric Dentistry*. Mar; 2009; 19:73-83.
18. Hočevár L., Kovač J, Trebušák Podkrajšek K., Battelino S., Pavlič A. The possible influence of genetic aetiological factors on molar–incisor hypomineralisation. *Archives of Oral Biology* 118; 2020.
19. Silva MJ, Scurrah KJ, Craig JM, Manton DJ, Kilpatrick N. Etiology of molar incisor hypomineralization – A systematic review. *Community Dent Oral Epidemiol* 2016; 44: 342–353.
20. Guentscha A., Fahmyc MD., Wehrleb C., Nietzsched S., Poppe J., Wattsg DC., Kranzb S., Kraffte C., Sigusch BW. Effect of biomimetic mineralization on enamel and dentin: A Raman and EDX analysis. *The Academy of Dental Materials*. 2019; 1300–1307.
21. Sa Y., Feng X., Chang Lei., Yu Y., Jiang T., Wang Y. Evaluation of the effectiveness of micro-Raman spectroscopy in monitoring the mineral contents change of human enamel in vitro. *Lasers Med Sci* 2017., 32:985–991.
22. Ravikumar Ramakrishnaiah, Ghufuran ur Rehman, Santhosh Basavarajappa, Abdulaziz Abdullah Al Khuraif, B. H. Durgesh, Abdul Samad Khan & Ihtesham ur Rehman. Applications of Raman Spectroscopy in Dentistry: Analysis of Tooth Structure, *Applied Spectroscopy Reviews*. 2015., 50:4, 332-350.

23. Valencia R., Espinosa R. Análisis microestructural del esmalte en la hipomineralización molar incisivo (HMI). Volumen 9. Número 3. Septiembre – Diciembre, 2020.
24. Guzmán S, Cortés O, Catalá M, Boj JR. Caracterización de la estructura química mediante espectroscopia Raman en dientes con HIM y amelogénesis imperfecta. *Odontol Pediátr*; 2021; 29(1):3-10.
25. Gómez de Ferraris M., Campos Muñoz A. Histología y embriología bucodental. Editorial Panamericana, 2da edición. 2002.
26. M.Videa. Fundamentos de espectroscopía vibracional Raman. ITESM Monterrey, Jun 2012. <https://www.tdx.cat>
27. <https://www.pacific-tec.sg/pacific-tec.sg/wp-content/uploads/2017/03/ProRaman-L-High-performance-Raman-Analyzer.pdf>
28. Guedes-Pinto AC., Bönecker M., Martins CR. Fundamentos de Odontología Odontopediatría. Grupo Editorial Nacional (Gen), Sao Paulo. 2011.
29. Mangum JE, Crombie FA, Kilpatrick N, Manton DJ, Hubbard MJ. Surface integrity governs the proteome of hypomineralized enamel. *J Dent Res*. 2010 Oct;89(10):1160-5.
30. Alfaro A, Castejon I, Sánchez RM, Alfaro MaJ. Síndrome de hipomineralización incisivo molar. *Rev pediatr Aten Primaria*. 2018; 20:1838.
31. Mejía Z. Torres G. Huamaní L. Rehabilitación oral de hipomineralización incisivo molar. *Odontol Pediatr* 2018; 17(2): 70 - 78.
32. Drummond BK., Kilpatrick N. Planning and Care for Children and Adolescents with Dental Enamel Defects: Etiology, Research and Contemporary Management. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015.

33. Estima da Cunha Coelho, A.S, Machado, C.A., Pereira Macho, V.M., Ferreira Guimarães, C.M., Mendes Alves, A.P., Norton, P., Coelho Macedo, A.P. Dental hypomineralization treatment: A systematic review. *Esthet Restor Dent.* 2019; 31:26–39.
34. K. Elhennawy et al. Managing molars with severe molar-incisor hypomineralization: A cost-effectiveness analysis within German healthcare. *Journal of Dentistry* 2017., 63 65–71.
35. Onder Kuscu O, Sandalli N, Dikmen S, Ersoy O, Tatar I, Turkmen S, Caglar E. Association of amoxicillin use and molar incisor hypomineralization in piglets: Visual and mineral density evaluation. *Archives of oral biology* 2013; 58, 1422 – 1433.
36. Akkus A, Akkus O, Roperto R, Lang L. Investigation of Intra- and Inter-individual Variations of Mineralisation in Healthy Permanent Human Enamel by Raman Spectroscopy. *Oral Health Prev Dent*; 2016; 14:321-327.
37. Buchwald T, Okulusb Z, Szybowicza M. Raman spectroscopy as a tool of early dental caries detection–new insights. *J. Raman Spectrosc.* 2017; 48, 1094–1102.
38. Osorio R, Osorio E, Aguilera F, Medina-Castillo A. L, Toledano M, Toledano-Osorio M. Silver improves collagen structure and stability at demineralized dentin: A dynamic-mechanical and Raman analysis. *Journal of Dentistry* 2018; 79, 61–67.
39. Seyedmahmoud R, McGuirea J, Wanga Y, Thiagarajanc G, Walkera M. The interrelationship of microstructure and hardness of human coronal dentin using reference point indentation technique and micro-Raman spectroscopy. *Dental materials.* 2017; 33, 1069-1074.

40. Xiang Huang T, Chao Huang S, Hua Li M, Zeng Z, Wang X, Ren B. Tip-enhanced Raman spectroscopy: tip-related issues. *Anal Bioanal Chem*, 2015; 407:8177–8195.
41. Bērziņš K., Sutton JJ., Loch C., Beckett D., Wheeler BJ., Drummond BK., Fraser SJ., Gordon KC. Application of low-wavenumber Raman spectroscopy to the analysis of human teeth. 2019.
42. Gómez-Gómez LM, Mejía-Roldán JD, Santos-Pinto L, Restrepo M. Uso de Biodentine para restaurar un molar permanente severamente afectado por la Hipomineralización de Molares e Incisivos. *Rev. CES Odont*; 2020; 33(2): 187-199.
43. Miranda Arce, Angelica María; Zambrano Cedeño, Lisseth Margarita. Hipomineralización de incisivos y molares: revisión sistemática de la información. *Revista San Gregorio*, 2019., [S.I.], n. 33, ISSN 2528-7907. oct.
44. Ruiz V, Acosta MG, Natera A. Adhesión y los defectos de desarrollo del esmalte. *Acta Odont. Venez.* Vol 58 N° 2 Año 2020.
45. Alvarez E. Hipomineralización Incisivo Molar: ¿Un desafío para la Odontopediatría? *Odontología Pediatr*; 2019;18(2):3.
46. Urdaneta B, Herrera Hernández M, Hernández Vera CC, Canarias C pediátrica, 2021., Vol.45 (2), p.159-166.
47. Alvarez L, Hermida L. "Hipomineralización Molar-incisiva (MIH): Una Patología Emergente." *Odontoestomatología* 2009; 11.12: 4-11.
48. Ferreira L, Paiva E, Ríos H, Boj J, Espasa E, Planells P. Hipomineralización incisivo molar: su importancia en, Odontopediatría. *Odontol Pediatr (Madrid)* Vol. 13. N.º 2, pp. 2005; 54-59.

49. Paul T, Desai D, Shahid M, Aziz NZ, Leslie G, Sadhu B. Disinfection of extracted human teeth: A Comparative Study. *J Adv Med Dent Scie; Res* 2017; 5(1):33-38.
50. Herrera C, Hernández C, Benito M. Caries dental, hipomineralización y prevención. Visión y abordaje para el pediatra. *canarias pediátrica* mayo-agosto 2021.
51. Casas Araya M, López Panqueva E, Suárez Castillo A, Gutiérrez Prieto SJ. Incisor molar hypomineralization phenotype characteristics and comparison with amelogenesis imperfecta: an approach to a differential diagnosis. *Univ Odontol.* 2021; 40.
52. Gutiérrez Cano V, Otero Márquez J. Espectroscopía Raman: Fundamento y aplicaciones. August 2015.
53. Ikeda Y, Neshatiana M, Holcrofta J, Ganssa B. The enamel protein ODAM promotes mineralization in a collagen matrix. *Connective Tissue Research*, 2018; Vol. 58, No. S1, 62–66.
54. Arrieta Mendoza EY, Pérez Peláez EM. El Proceso de Caries en Niños y su relación con la Hipomineralización e Hipoplasia Del Esmalte. *Revista Oral [Internet]*. 2016 Apr;17(53):1333–6.
55. Pineda-Molinero E, Soto-Flores M. Coronas de zirconia: una opción de tratamiento para molares primarios con hipomineralización. *Revista Oral.* 2018 Jan;19(59):1581–5.
56. Naranjo Sierra MC. Terminología, clasificación y medición de los defectos en el desarrollo del esmalte. Revisión de literatura. *Universitas Odontológica.* 2013 Jan;32(68):33–44.

57. Luo R, Popp J, Bocklitz T. Deep Learning for Raman Spectroscopy: A Review. *Sep*; 2022; 3(3):287–301.
58. Gatin E, Iordache S-M, Matei E, Luculescu C-R, Iordache A-M, Grigorescu CEA, et al. Raman Spectroscopy as Spectral Tool for Assessing the Degree of Conversion after Curing of Two Resin-Based Materials Used in Restorative Dentistry. *Diagnostics (2075-4418)* [Internet]. 2022 Aug;12(8):1993–N.PAG.
59. Miyamoto N, Adachi T, Boschetto F, Zanocco M, Yamamoto T, Marin E, et al. Molecular Fingerprint Imaging to Identify Dental Caries Using Raman Spectroscopy. *Materials (1996-1944)* [Internet]. 2020 Nov; 13(21):4900.
60. I. Ionita. Diagnosis Of Tooth Decay Using Polarized Micro-Raman Confocal Spectroscopy. *Romanian Reports in Physics*, 2009., Vol. 61, No. 3, P. 567–574.
61. Seyedmahmouda R, McGuirea JD, Wanga Y, Thiagarajanc G, Walker MP. The interrelationship of microstructure and hardness of human coronal dentin using reference point indentation technique and micro-Raman spectroscopy. *Dental Material* 33. 2017; 1069–1074.
62. Mangum J.E, Crombie F.A., Kilpatrick N., Manton D.J., Hubbard M.J. Surface Integrity Governs the Proteome of Hypomineralized Enamel. *J Dent Res* 2010., 89(10):1160-1065.
63. Kerr J.E. Arndt G.D, Byerly D.L., Rubinovitz R, Theriot C.A., Stangel I. FT-Raman Spectroscopy Study of the Remineralization of Microwave-Exposed Artificial Caries. *Journal of Dental Research*. © International & American Associations for Dental Research Vol. 95(3) 342– 348; 2016.
64. Aube F, Marczewski M, Norén JG. Deviations of inorganic and organic carbon content in hypomineralised enamel. *Journal of Dentistry* [Internet]. 2015;43(2):269–78.

65. X.W. Feng, C. Lei, Y. Yu, Y. Sa and Y.N. Wang. Medical Technology - Laser Research; Reports on Laser Research Findings from Wuhan University Provide New Insights (Evaluation of the effectiveness of micro-Raman spectroscopy in monitoring the mineral contents change of human enamel in vitro) Atlanta. 14 July 2017.
66. Corral, C., Rodríguez, H., Cabello, R., Bersezio, C., Cordeiro, R., M. Consuelo Fresno-Rivasa, Impacto de la hipomineralización incisivo molar en la experiencia de caries en escolares de 6-12 años en Santiago, Chile. 2016.
67. Brad W. Neville, Douglas D. Damm, Carl M. Allen, Angela C. Chi. Oral and Maxillofacial Pathology. Missouri: Riverport Lane St. Louis. 2009.
68. Mejía Z., Torres G., Huamaní L. Rehabilitación oral de hipomineralización incisivo molar. *Odontol Pediatr* 2018; 17(2): 70 - 78.
69. Akkus A, Akkus O, Roperto R, Lang L. Investigation of Intra- and Inter-individual Variations of Mineralisation in Healthy Permanent Human Enamel by Raman Spectroscopy. *Oral Health Prev Dent*; 2016, 14:321-327.
70. Da Cunha Coelho A., Machado P., Mata C., Pereira V., Macho V., Arejas C., Norton A., Ferreira C., Guimarães P., Mendes A., Alves P., Coelho A. Dental hypomineralization treatment: A systematic review. *J Esthet Restor Dent*. 2019, 31:26–39.
71. Baroni C., Mazzoni A., Breschi L. Molar incisor hypomineralization: supplementary, restorative, orthodontic, and esthetic long-term treatment. *Quintessence International*, 2019; volume 50, number 5.
72. Taube F, Marczewski M, Norén J.G. Deviations of inorganic and organic carbon content in hypomineralised enamel. *Journal of Dentistry*. 2015, 43:269-278.

73. Thylstrup A, Fejerskov O. Clinical appearance of dental fluorosis in permanent teeth in relation to histologic changes. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1978;6(6):315-28.
74. Elfrink MEC, Weerheijm KL. Molar Incisor Hypomineralisation and Deciduous Molar Hypomineralisation - Clinical appearance, prevalence and determinants for its occurrence. *Oralprophylaxe und Kinderzahnheilkunde.* 2012; 34(4):166-75.
75. Sabandal M.M.I., Schäfer, E. Amelogenesis imperfecta: review of diagnostic findings and treatment concepts. *Odontology* 2016; 104, 245–256.
76. Kevrekidou A, Kosma I, Kotsanos I, Arapostathis KN, Kotsanos N. Enamel opacities in all other than Molar Incisor Hypomineralisation index teeth of adolescents. *Int J Paediatr Dent.* 2021 Mar; 31(2):270-277.
77. Weerheijm KL, Duggal M, Mejåre I, Papagiannoulis L, Koch G, Martens LC, Hallonsten AL. Judgement criteria for molar incisor hypomineralisation (MIH) in epidemiologic studies: a summary of the European meeting on MIH held in Athens, 2003. *Eur J Paediatr Dent.* 2003 Sep;4(3):110-3.
78. De Farias AL, Rojas-Gualdrón DF, Giroto Bussaneli D, Santos-Pinto L, Mejía JD, Restrepo M. Does molar-incisor hypomineralization (MIH) affect only permanent first molars and incisors? New observations on permanent second molars. *Int J Paediatr Dent.* 2022; 32: 1– 10.
79. Bussaneli D.G., Vieira A.R., Santos-Pinto L. et al. Molar-incisor hypomineralisation: an updated view for aetiology 20 years later. *Eur Arch Paediatr Dent* 2022., *Dent* 23, 193–198.
80. Lygidakis NA, Wong F, Jälevik B, Vierrou A-M, Alaluusua S, Espelid I. Best Clinical Practice Guidance for clinicians dealing with children presenting with

Molar-Incisor-Hypomineralisation (MIH). *European Archives of Paediatric Dentistry* (European Academy of Paediatric Dentistry). 2010 Apr;11(2):75–81.

81. Bullio Fragelli CM, Jeremias F, Feltrin de Souza J, Paschoal M, aurélio de Cássia Loiola, Cordeiro R, Santos-Pinto L. Longitudinal Evaluation of the Structural Integrity of Teeth Affected by Molar Incisor Hypomineralisation. *Caries Research*. 2015; 49(4):378–83.

82. Weber, Kathrin R., et al. "Restoration of teeth affected by molar-incisor hypomineralisation: a systematic review." *Swiss Dent J* 131 2021., 988-997.

83. Ghanim A, Elfrink M, Weerheijm K, Mariño R, Manton D. A practical method for use in epidemiological studies on enamel hypomineralisation. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2015 Jun;16(3):235-46.

84. Oreano MD, Santos PS, Borgatto AF, Bolan M, Cardoso M. Association between dental caries and molar-incisor hypomineralisation in first permanent molars: A hierarchical model. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2022; 00: 1- 7.

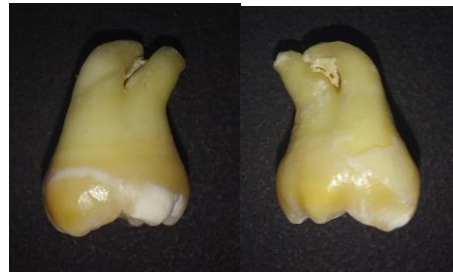
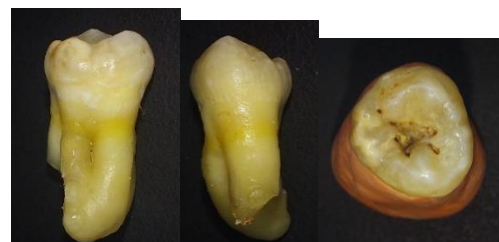
85. Fagrell TG, Dietz W, Jälevik B, Norén JG. Chemical, mechanical and morphological properties of hypomineralized enamel of permanent first molars. *Acta Odontologica Scandinavica*. 2010 Jul;68(4):215–22.







86. Koch G, Hallonsten A-L, Ludvigsson N, Hansson BO, Holst A, Ullbro C. Epidemiologic study of idiopathic enamel hypomineralization in permanent teeth of Swedish children. *Community Dentistry & Oral Epidemiology*. 1987 Oct;15(5):27985.

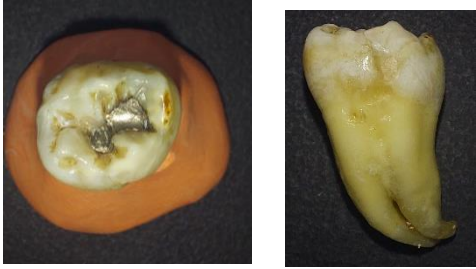

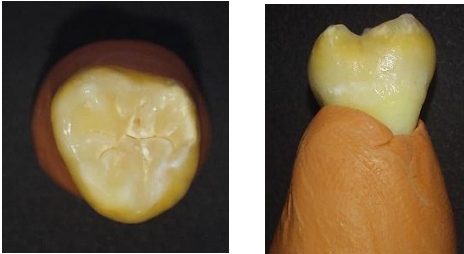



87. Weerheijm KL, Jälevik B, Alaluusua S. Molar-Incisor Hypomineralisation. *Caries Research* [Internet]. 2001 Sep 35(5):390–1.

88. Kevrekidou A, Kosma I, Kotsanos I, Arapostathis KN, Kotsanos N. Enamel opacities in all other than Molar Incisor Hypomineralisation index teeth of adolescents. *International Journal of Paediatric Dentistry*. 2021 Mar; 31(2):270–7.
89. Mittal N. Phenotypes of Enamel Hypomineralization and Molar Incisor Hypomineralization in Permanent Dentition: Identification, Quantification and Proposal for Classification. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. 2016 Nov; 40(5):367–74.
90. Elfrink MEC, Schuller AA, Weerheijm KL, Veerkamp JSJ. Hypomineralized Second Primary Molars: Prevalence Data in Dutch 5-Year-Olds. *Caries Research*. 2008; 42(4):282–5.
91. Fagrell TG, Dietz W, Jälevik B, Norén JG. Chemical, mechanical and morphological properties of hypomineralized enamel of permanent first molars. *Acta Odontologica Scandinavica*. 2010 Jul ;68(4):215–22.
92. Souza J, Fragelli C, Jeremias F, Paschoal M, Santos-Pinto L, Cássia Loiola Cordeiro R. Eighteen-month clinical performance of composite resin restorations with two different adhesive systems for molars affected by molar incisor hypomineralization. *Clinical Oral Investigations*. 2017 Jun; 21(5):1725–33.
93. De Farias AL, Rojas-Gualdrón DF, Mejía JD, Bussaneli DG, Santos-Pinto L, Restrepo M. Supervivencia de coronas de acero inoxidable y restauraciones de resina compuesta en molares afectados por hipomineralización molar-incisivo (MIH). *Int J Pediatr Dent*. 2022; 32: 240 – 250.
94. Gudiño Fernandez S, Perez Valdéz V, Ulate Jimenez J. Abordaje Clínico Integral de Mínima Intervención de la lesión de caries dental. 2022; 20: 1-10.

14. Anexos

FIGURA. 19- FOTOS DE MUESTRAS DE ESTUDIO**Muestra No. 1****Muestra No. 2****Muestra No. 3****Muestra No. 4****Muestra No. 5****Muestra No. 6****Muestra No. 7****Muestra No. 8**

	
<p data-bbox="418 800 634 835">Muestra No. 9</p> 	<p data-bbox="1013 800 1243 835">Muestra No. 10</p> 
<p data-bbox="412 1428 641 1463">Muestra No. 11</p> 	<p data-bbox="1013 1428 1243 1463">Muestra No. 12</p> 
<p data-bbox="412 1839 641 1875">Muestra No. 13</p>	<p data-bbox="1013 1839 1243 1875">Muestra No. 14</p>

	
<p data-bbox="412 695 643 730">Muestra No. 15</p> 	<p data-bbox="1013 695 1243 730">Muestra No. 16</p> 
<p data-bbox="412 1413 643 1449">Muestra No. 17</p> 	<p data-bbox="1013 1413 1243 1449">Muestra No. 18</p> 
<p data-bbox="412 1850 643 1885">Muestra No. 19</p>	<p data-bbox="1013 1850 1243 1885">Muestra No. 20</p>



Supporting information. Table S1. The Raman spectra peaks and their respective assignments ⁸

Wavenumber / cm^{-1}	Assignment
-------------------------------	------------

	Tooth	Epoxy resin
430	$\nu_2 (\text{PO}_4^{3-})$	
584	$\nu_4 (\text{PO}_4^{3-})$	
638		$\nu(\text{CH})$ aromatic, out of plane
669		$\nu(\text{CH})$ aromatic, out of plane
735		$\nu(\text{CC})$ skeletal
822		Substituted aromatic
915		Epoxy group
933		Epoxy group
959	$\nu_1 (\text{PO}_4^{3-})$	
1001	$\nu(\text{CC})$ aromatic	
1043	$\nu_3 (\text{PO}_4^{3-})$	
1068	b-type $\nu_1 (\text{CO}_3^{2-})$	

1112		$\nu(\text{CH})$ aromatic, stretching/in-plane
1184		Methyl / gem-dimethyl group deformation
1228		$\nu(\text{C} - \text{O})$ stretching and phenolic $\nu(\text{C}_4 - \text{O}_2)$ stretching
1250		$\nu(\text{C} - \text{O})$ stretching (ether groups) and $\nu(\text{CC})$ stretching
~1265	$\nu(\text{N} - \text{H})$ amide III	
1297		Stretching
~1453	$\delta(\text{CH}_2)$	
1459		$\delta(\text{CH}_2)$
1608		Phenyl ring
~1655	$\nu(\text{C} = \text{O})$ amide I	

CUADRO DE DATOS DE RECOLECCIÓN DE PIEZAS CON HM INCLUIDAS

SUPERFICIE	SEGÚN GRADO DE SEVERIDAD																			
	NO. DE MUESTRA																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2

										0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2
Bucal	1	1	-	1	1	1	3	1	3	-	1	3	1	-	1	1	-	-	-	3	3	1
Oclusal	2	0	-	1	3	2	3	0	3	-	0	3	2	-	2	3	-	-	-	3	3	3
Palatal/Lingual	1	0	-	1	3	0	1	0	0	-	0	0	0	-	1	0	-	-	-	3	3	3

Códigos

Grado 1: Leve

- Opacidades aisladas bien delimitadas en áreas sin carga o estrés masticatorio.
- Ausencia de pérdida de los tejidos duros.
- No hay caries asociada con el defecto de esmalte.
- No hay hipersensibilidad.
- Cuando se presenta en los incisivos, la alteración es leve.

Grado 2: Moderada

- Opacidades bien delimitadas en incisivos y molares en el tercio oclusal y/o incisal que afecta una o dos superficies, sin involucrar las cúspides y sin fractura del esmalte al erupcionar, aunque puede ocurrir post-eruptivo debido a la función.
- Presencia de restauraciones atípicas intactas.
- Hay compromiso estético y la sensibilidad es normal.

Grado 3: Severa

- Pérdida post-eruptiva del esmalte y fracturas.
- Presencia de caries extensas asociadas al esmalte defectuoso y/o presencia de restauraciones atípicas defectuosas, con compromiso de la estética e hipersensibilidad.

SUPERFICIE	SEVERIDAD DE LESIONES SEGÚN SU COLOR																					
	NO. DE MUESTRA																					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Bucal	1	1	-	1	1	1	3	1	1	-	1	2	1	-	2	1	-	-	-	0	3	1
Oclusal	1	0	-	1	1	1	3	0	1	-	0	2	2	-	1	3	-	-	-	3	3	3
Palatal/Lingual	1	0	-	1	1	0	0	0	0	-	0	0	0	-	2	0	-	-	-	3	3	3

Códigos

0. Normal

1. Blanco crema: leve

- Menos porosas.
- Se localizan en el interior del esmalte.

2. Amarillo – marrón: Moderado

- Son más porosas y ocupan todo el espesor del esmalte.

3. Pérdida del esmalte: Severo

- El esmalte hipomineralizado se fractura debido a su fragilidad y escaso espesor, desprotegiendo la dentina.

SUPERFICIE	SEVERIDAD DE LESIONES SEGÚN SU EXTENSIÓN																				
	NO. DE MUESTRA																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2
										0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2
Bucal	1	1	-	2	2	1	2	2	1	-	1	1	1	-	1	1	-	-	-	1	2	0
Oclusal	0	0	-	1	2	0	2	0	1	-	0	1	1	-	1	2	-	-	-	2	3	3
Palatal/L ingual	1	0	-	2	3	0	0	0	0	-	0	0	0	-	1	0	-	-	-	2	3	3

Códigos

0: No afectada

1: Menos de 1/3 de la superficie dental

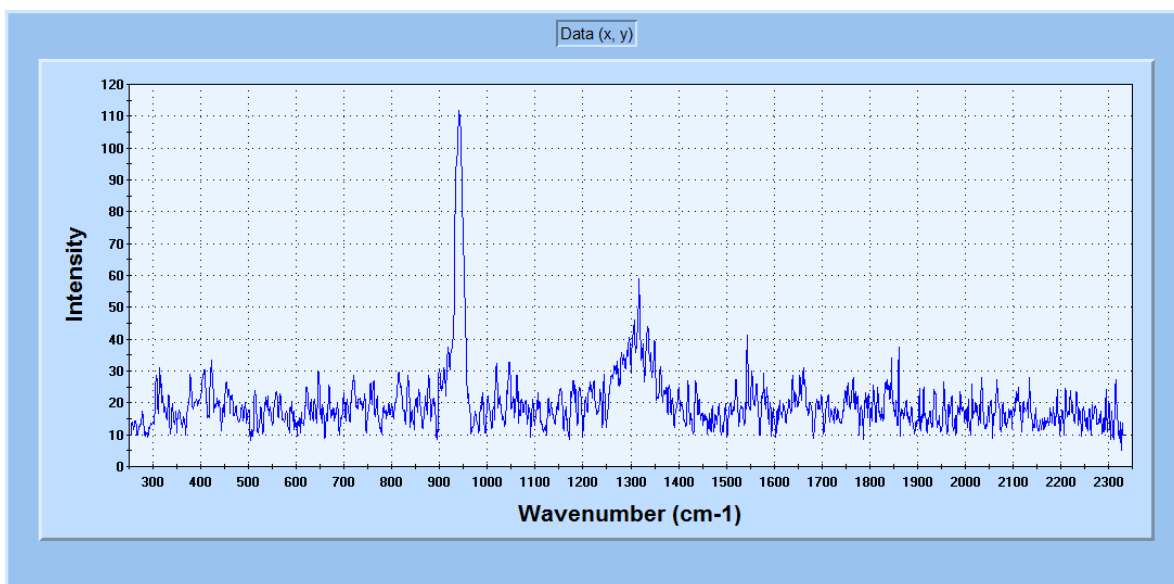
2: Más de 1/3 pero menos de 2/3 de la superficie dental

3: Más de 2/3 de la superficie dental

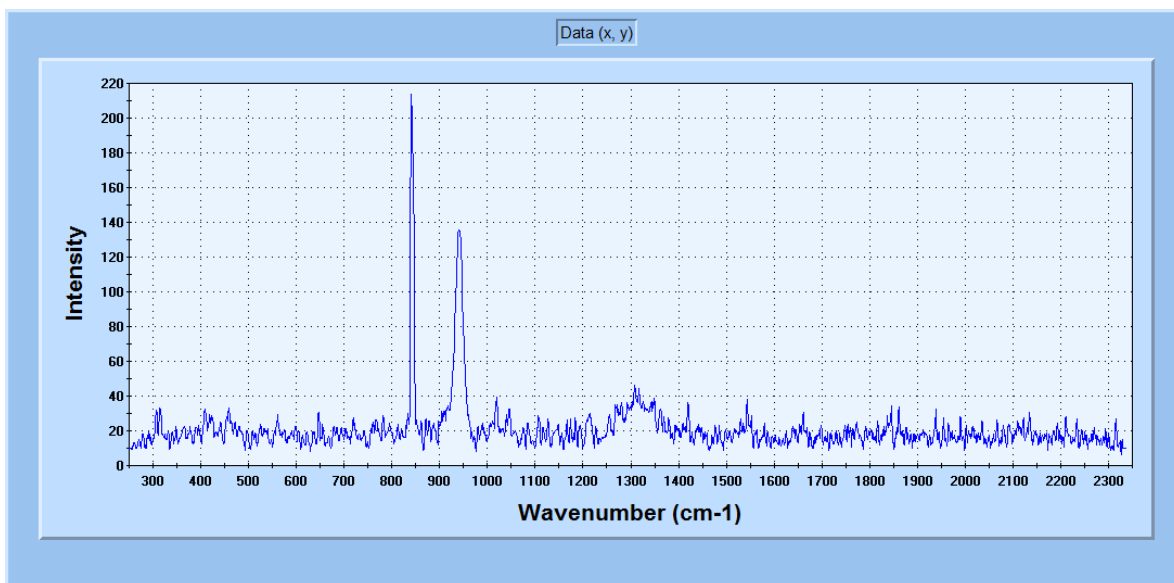
ESPECTROS DE LA ESPECTROSCOPIA RAMAN

MUESTRA 1

E1 HM (Esmalte hipomineralizado)

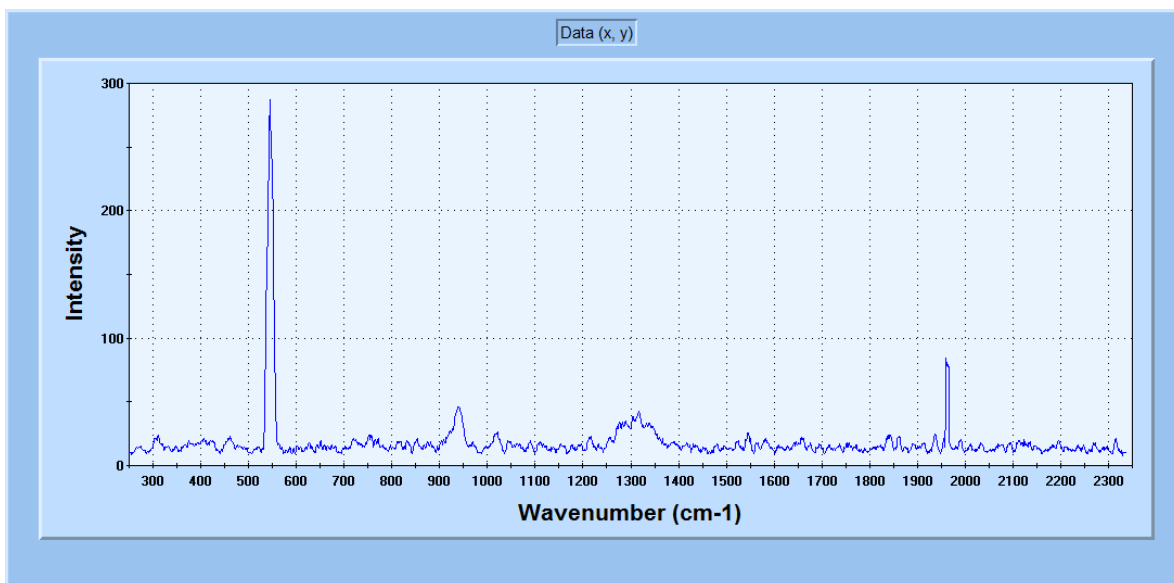


E1 N (Esmalte normal)

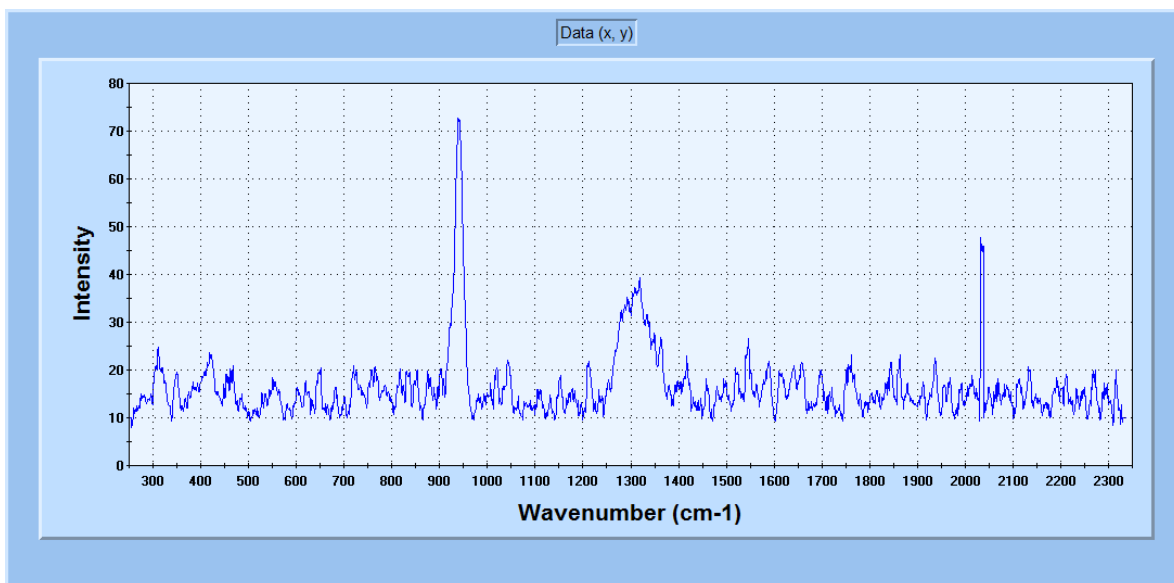


MUESTRA 2

E2 HM

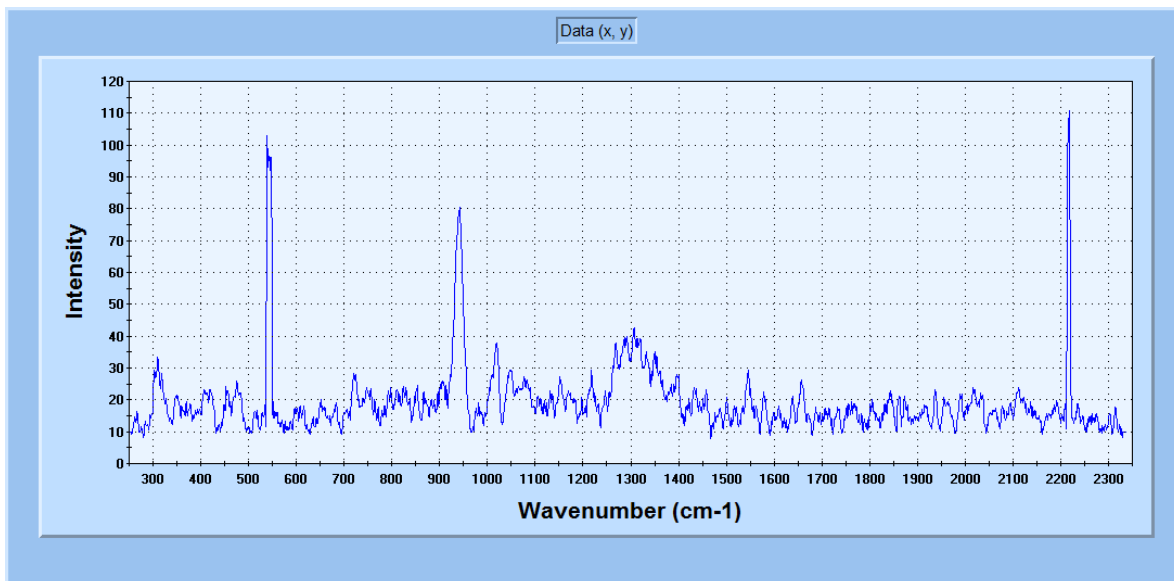


E2 N

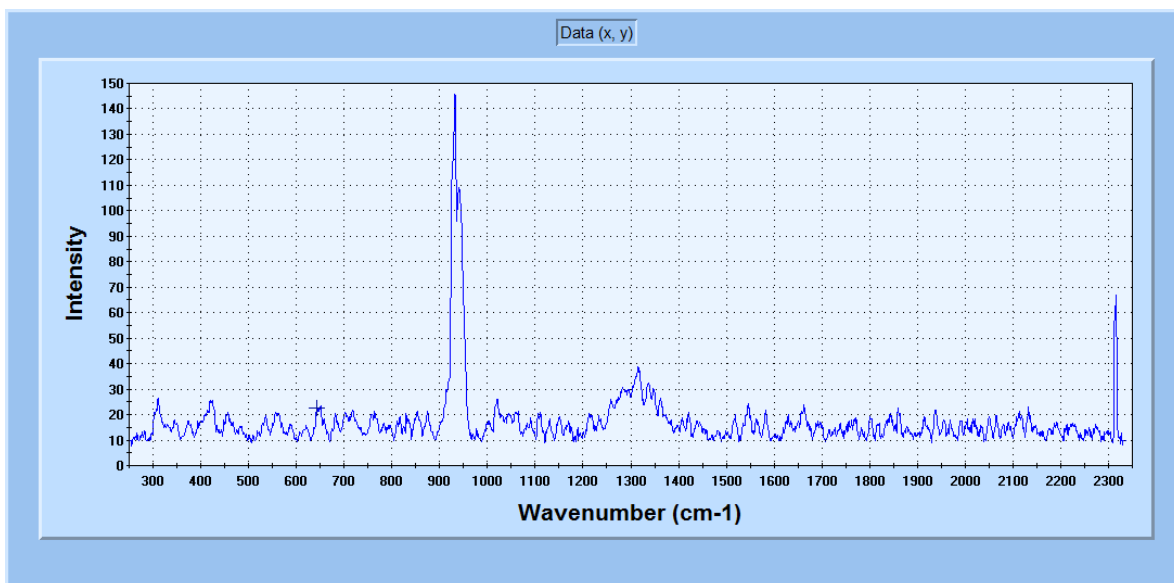


MUESTRA 4

E4 HM

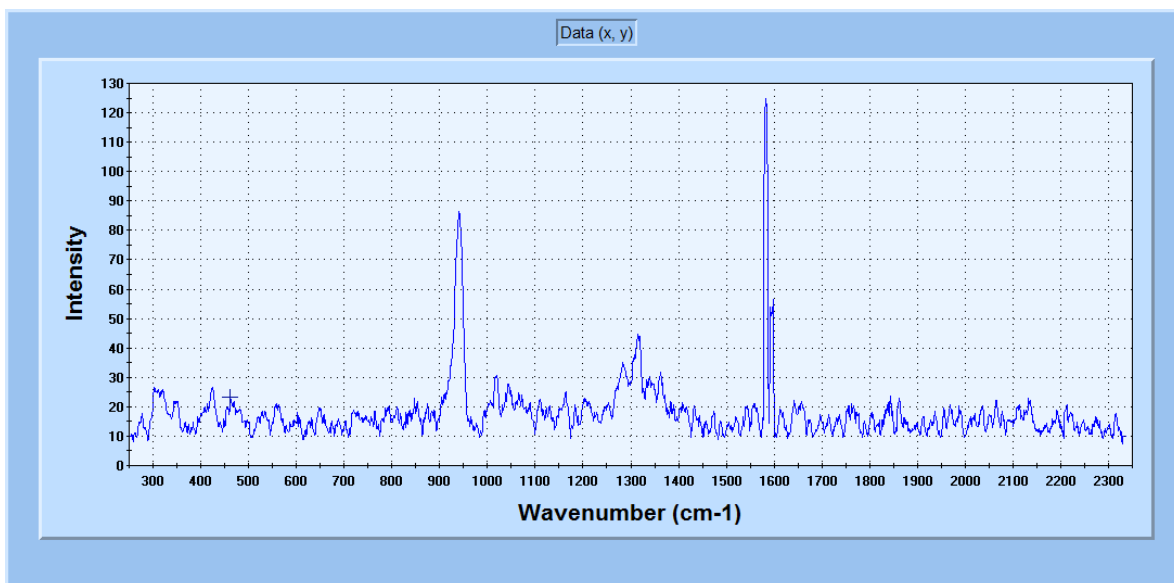


E4 N

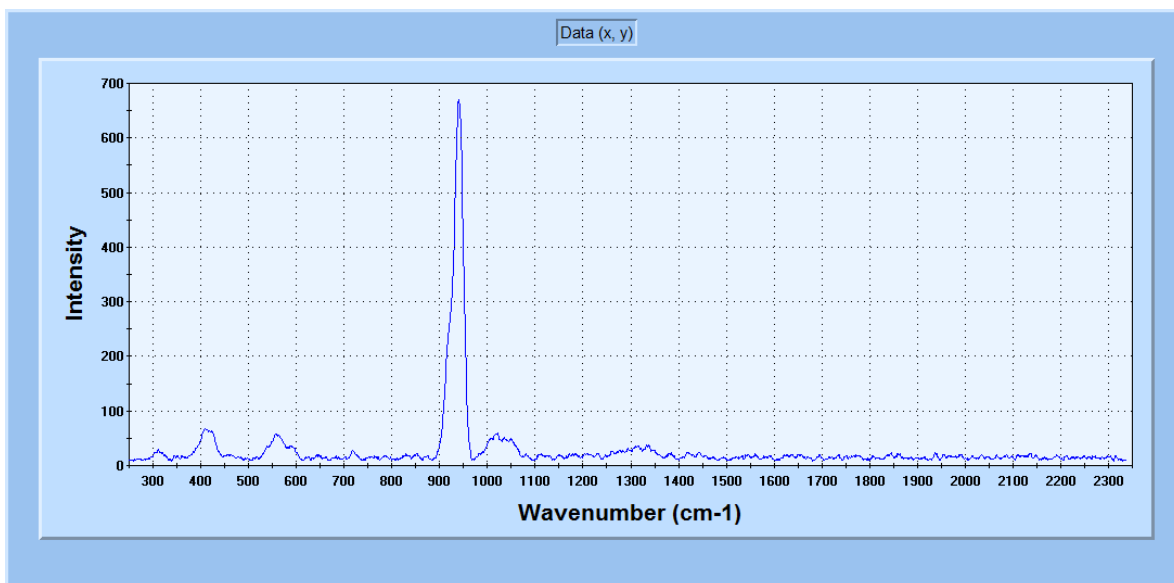


MUESTRA 5

E5 HM

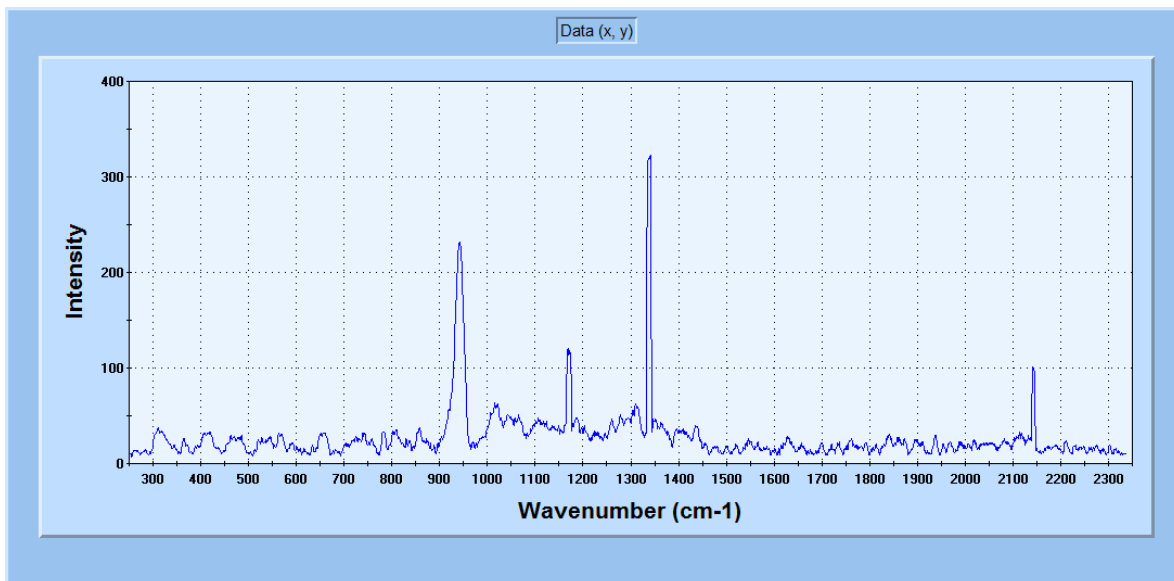


E5 N

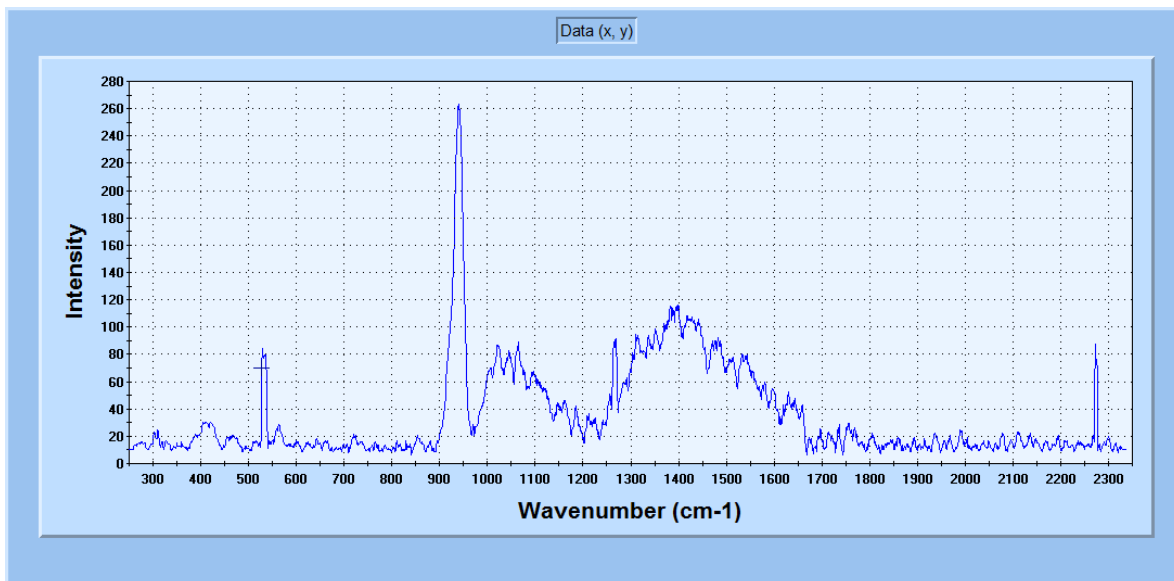


MUESTRA 6

E6 HM

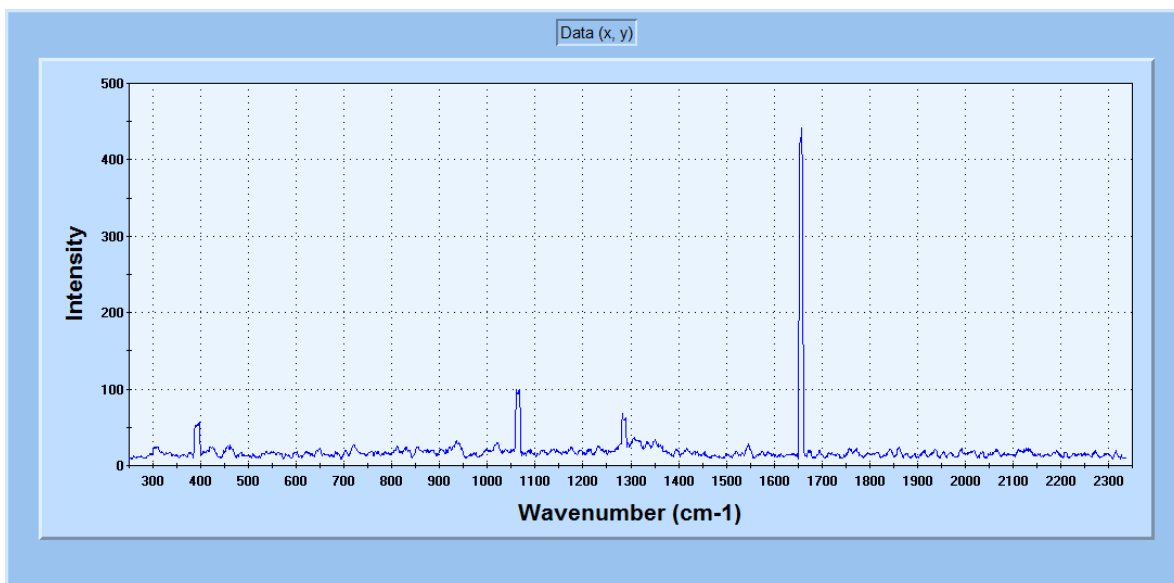


E6 N

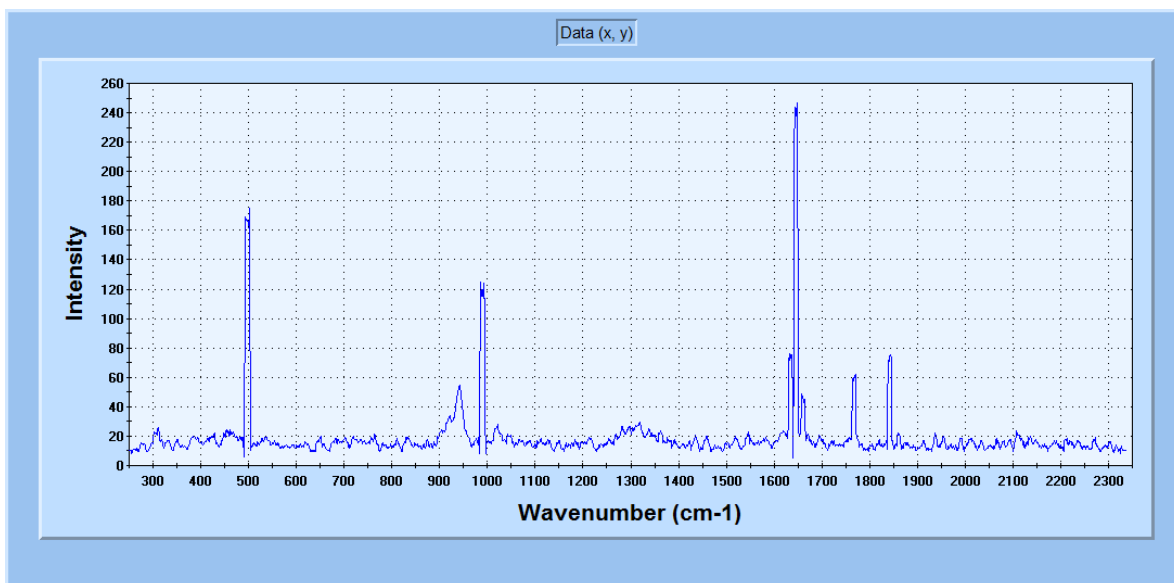


MUESTRA 7

E7 HM

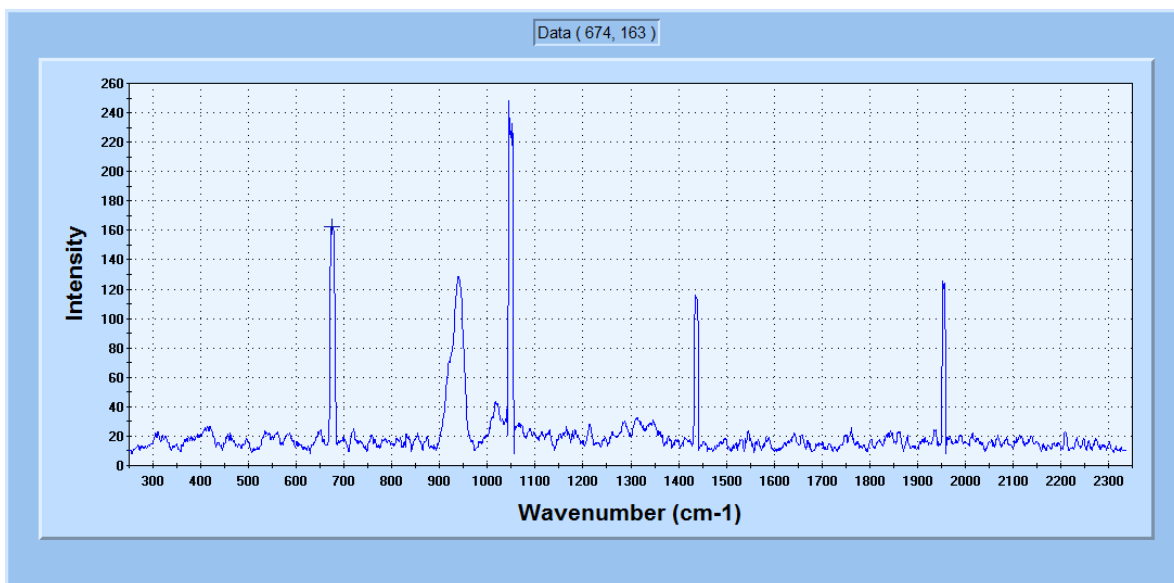


E7 N

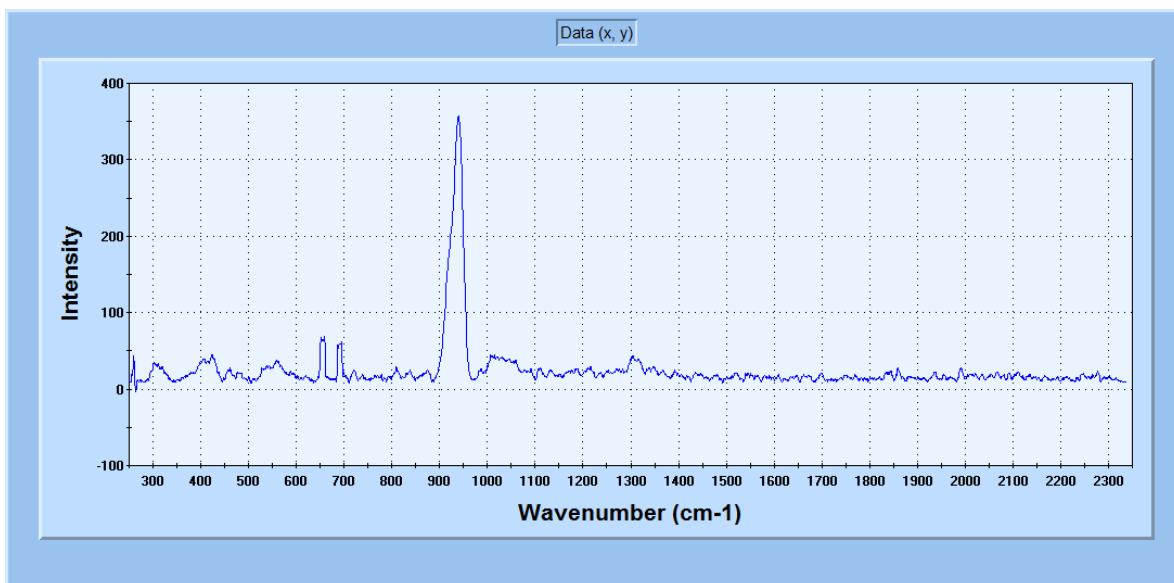


MUESTRA 8

E8 HM

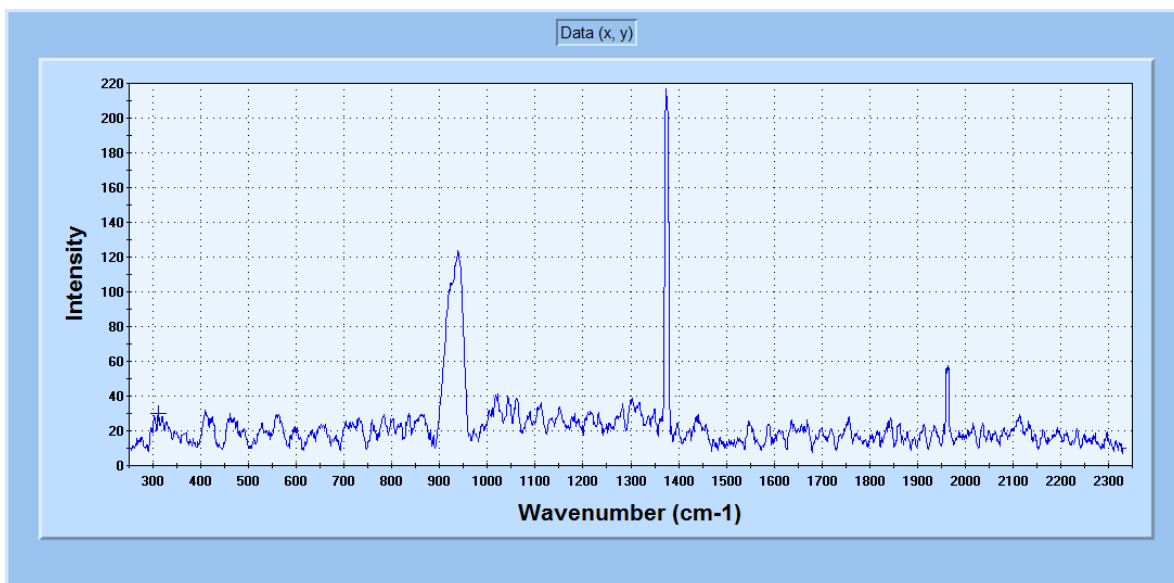


E8 N

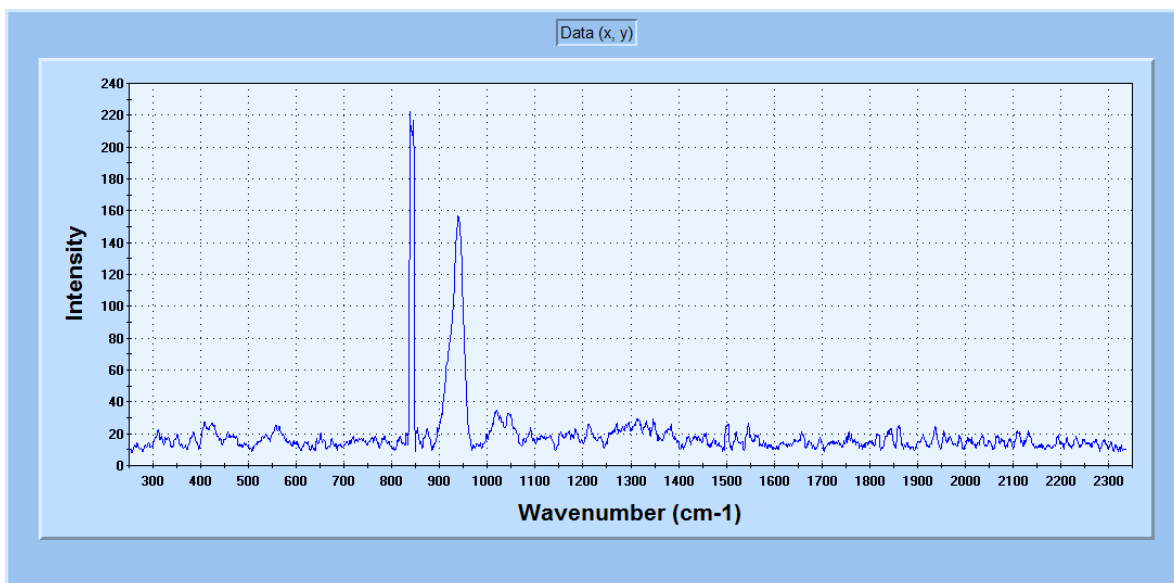


MUESTRA 9

E9 HM

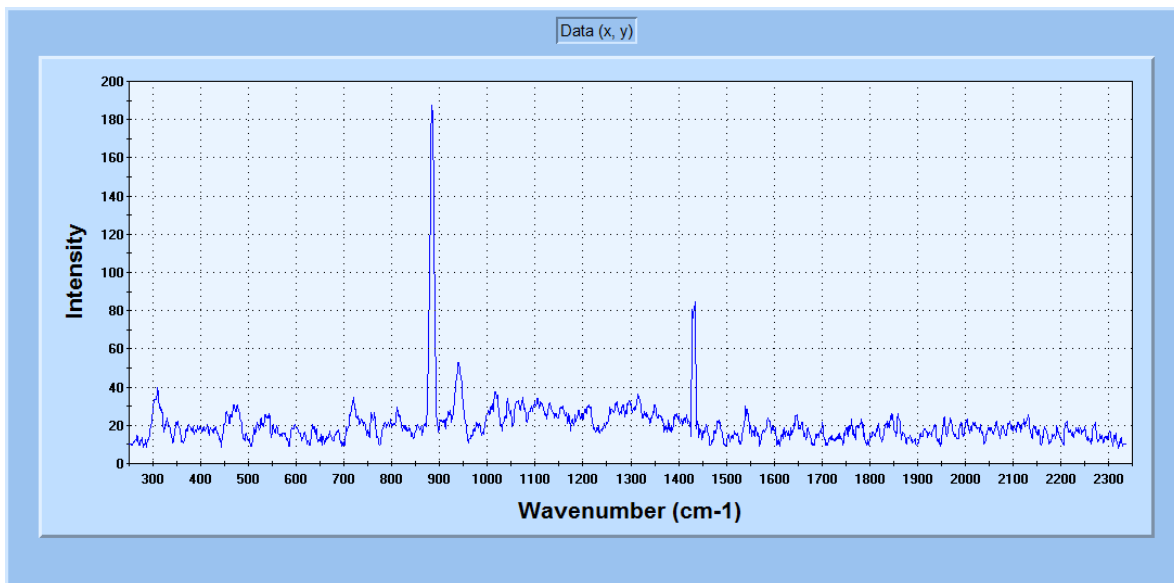


E9 N

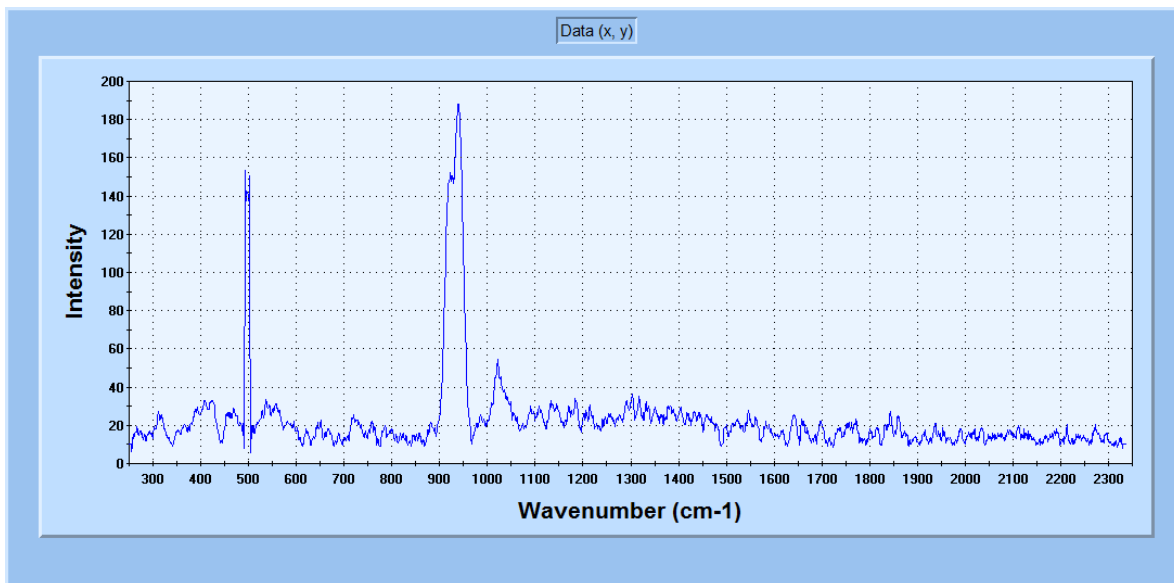


MUESTRA 11

E11 HM

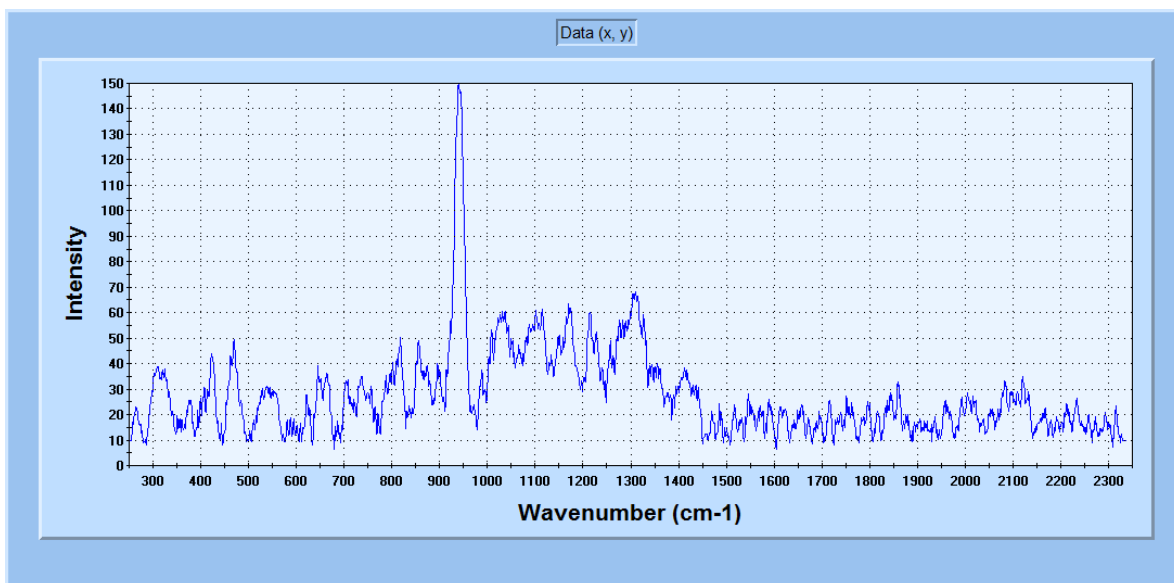


E11 N

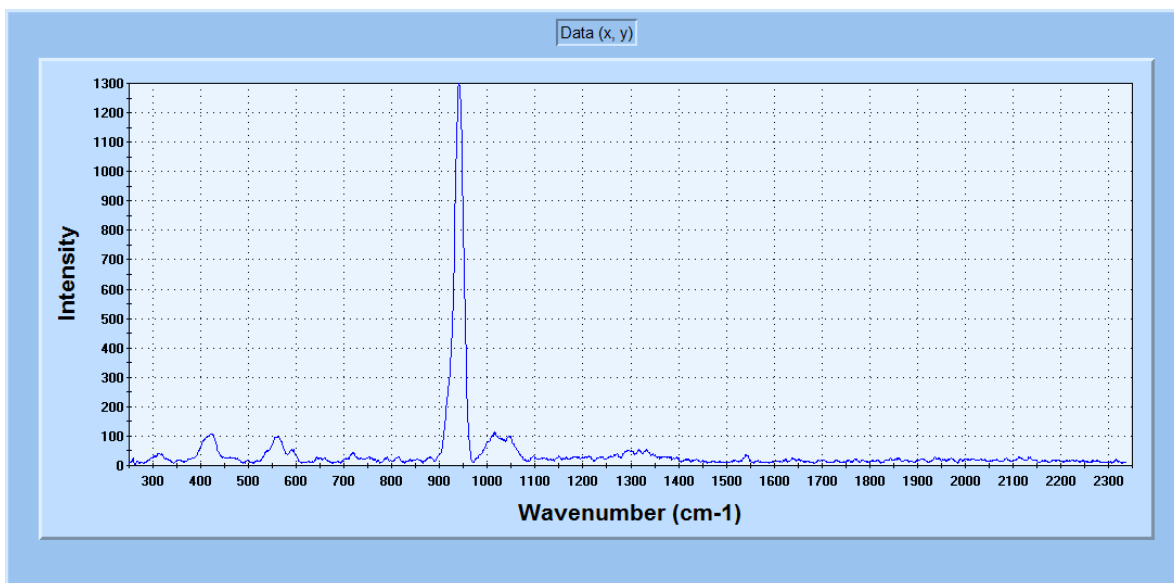


MUESTRA 12

E12 HM

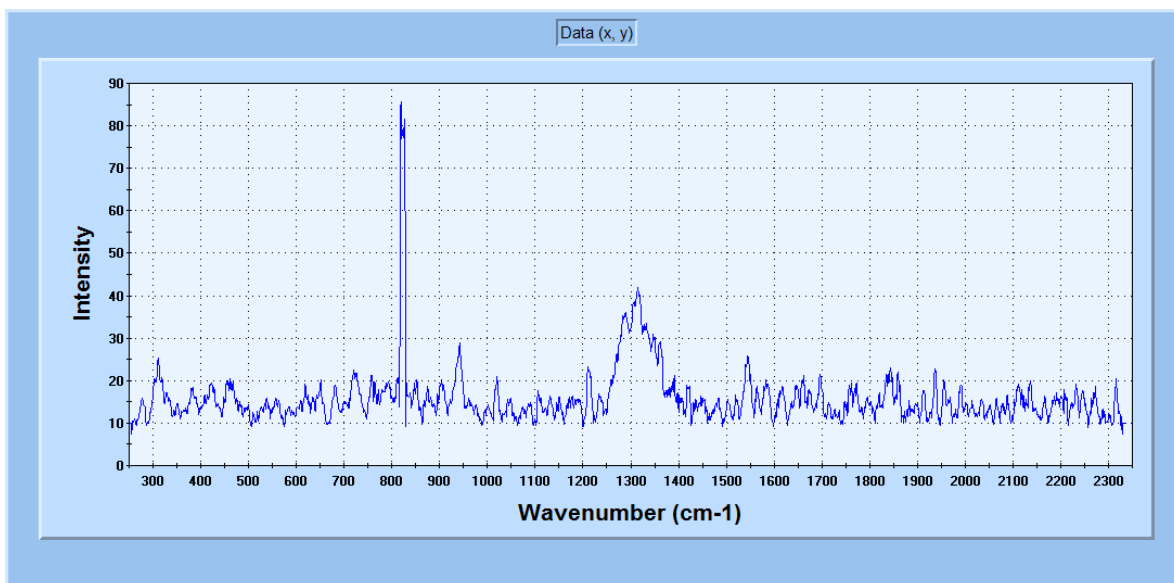


E12 N

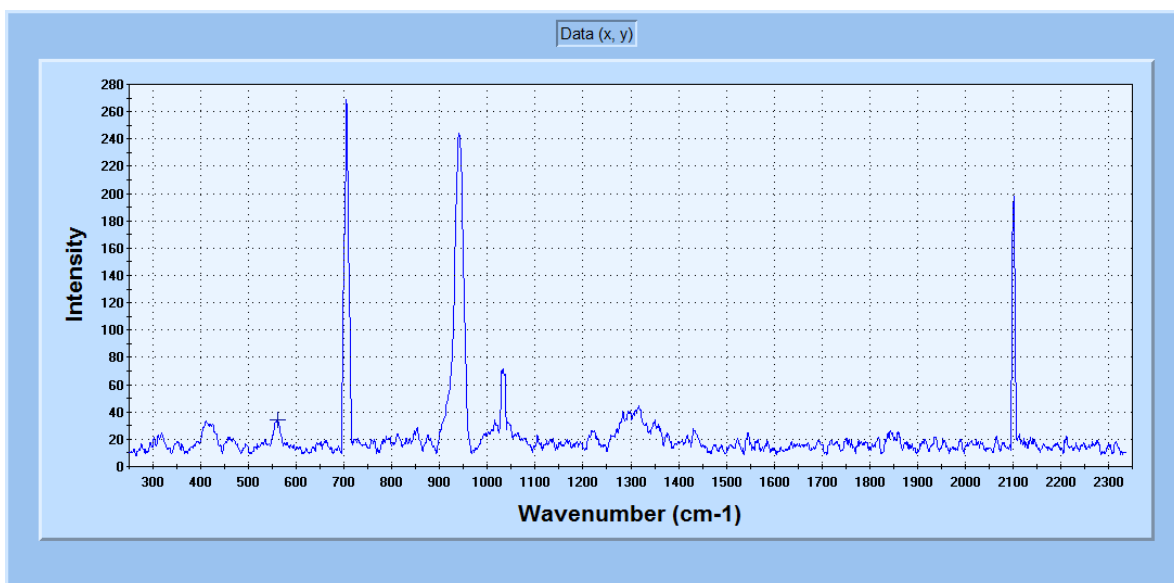


MUESTRA 13

E13 HM

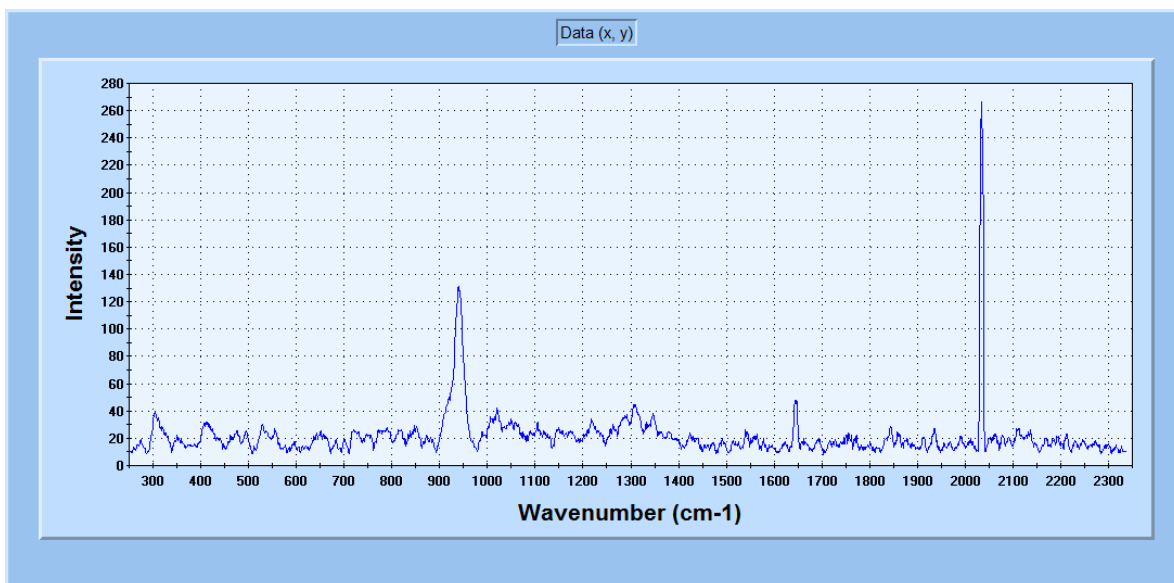


E13 N

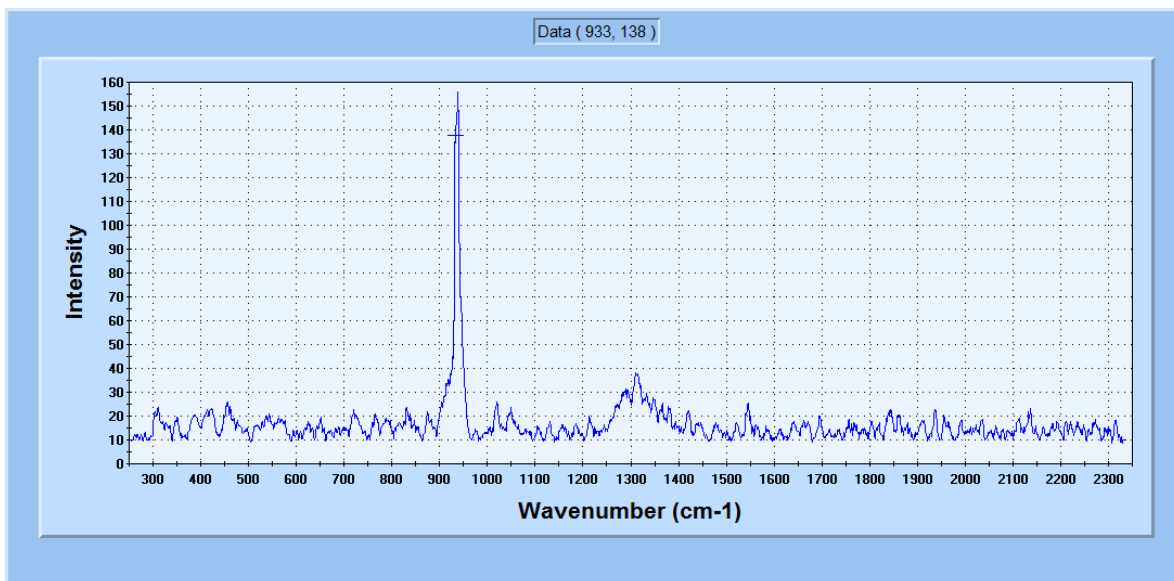


MUESTRA 15

E15 HM

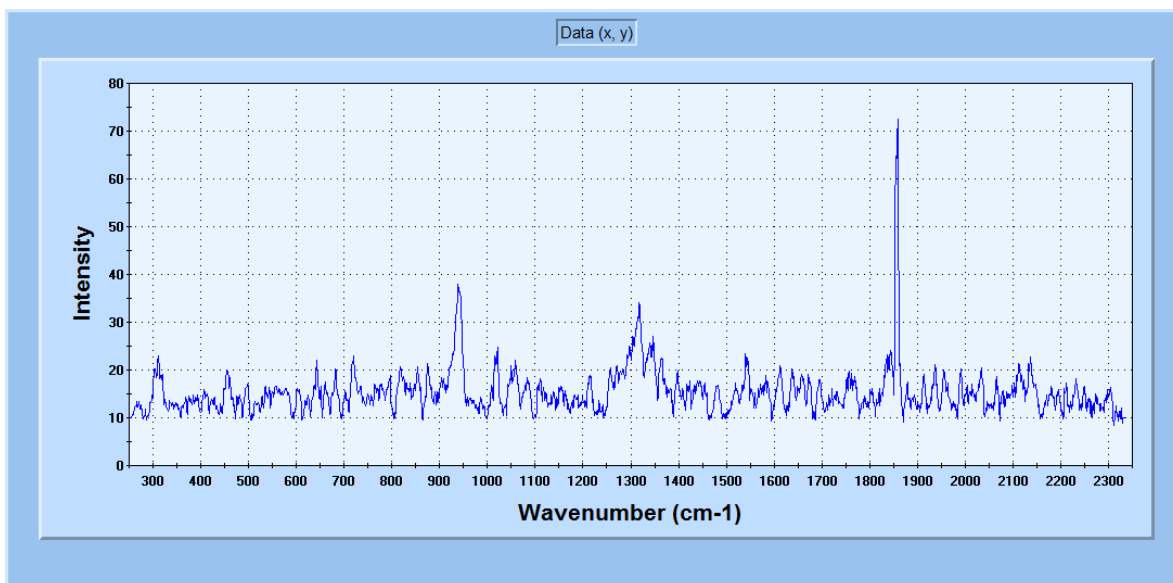


E15 N

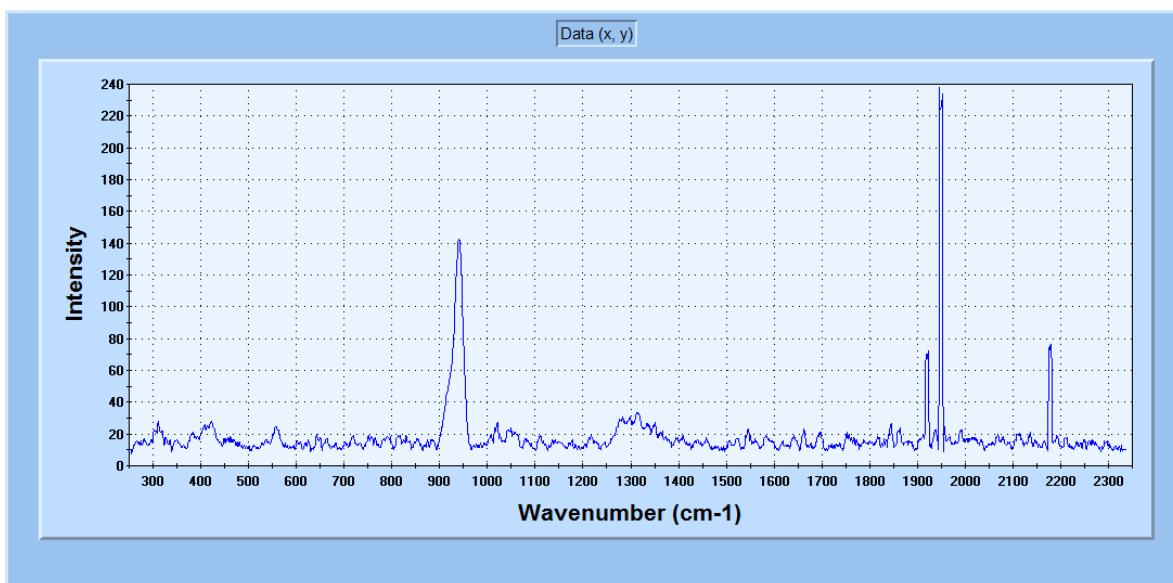


MUESTRA 16

E16 HM

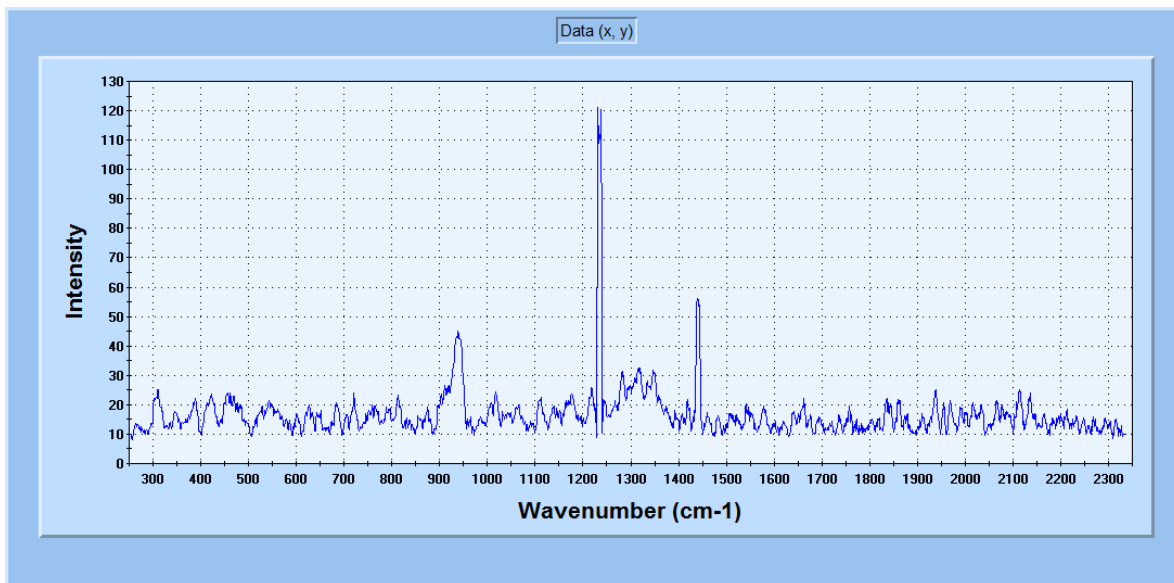


E16 N

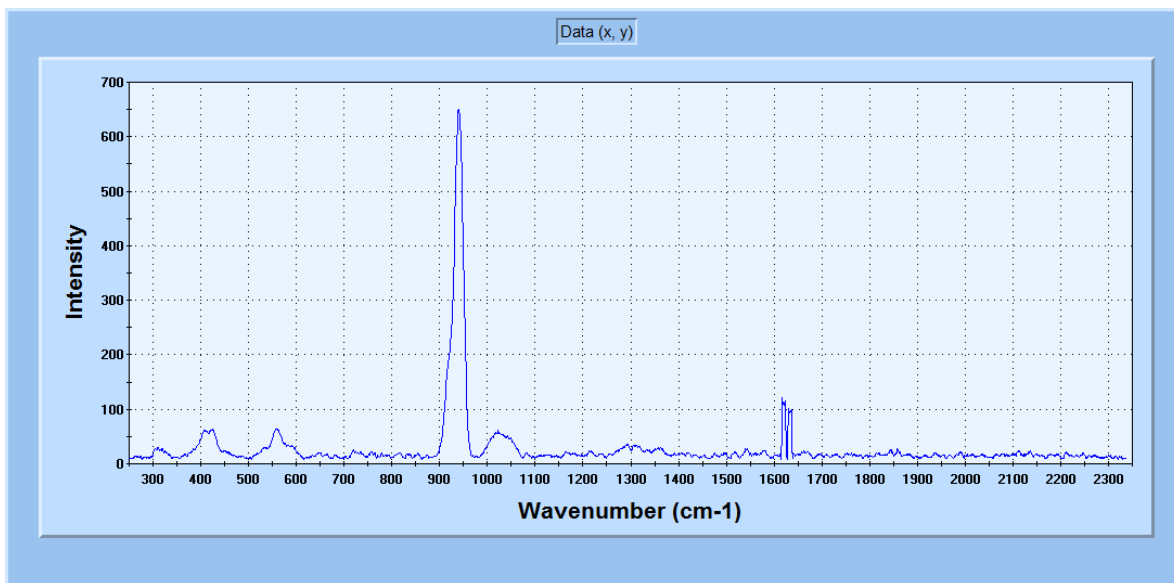


MUESTRA 20

E20 HM

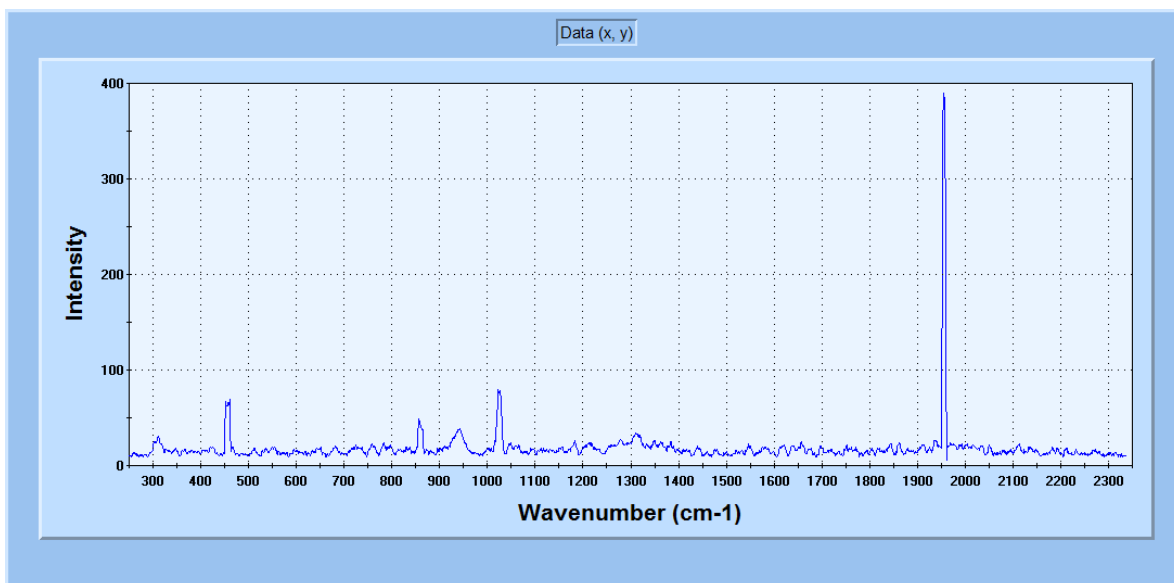


E20 N

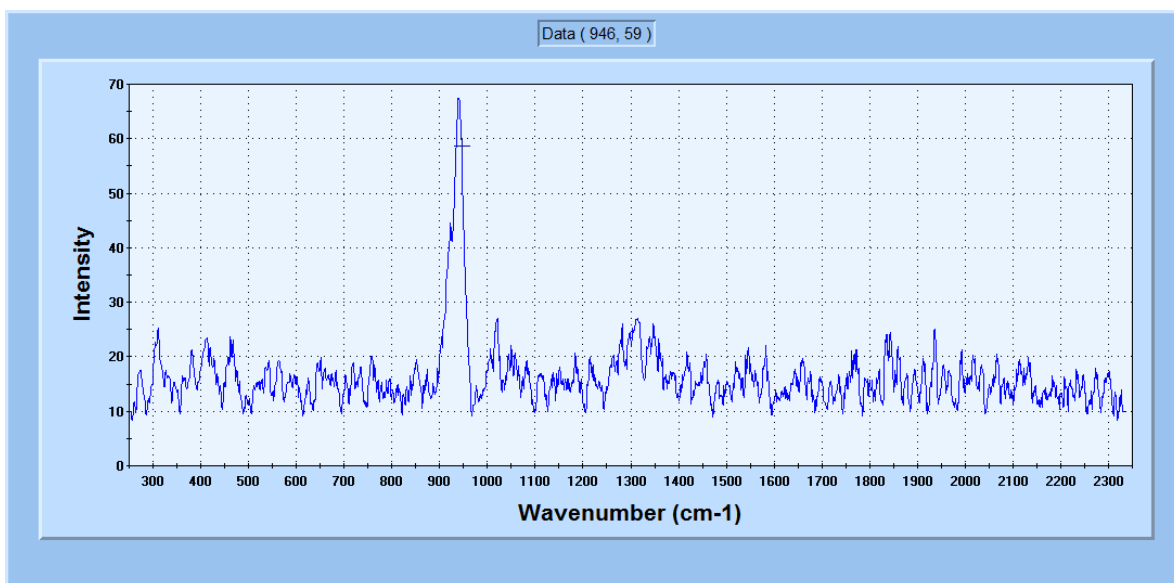


MUESTRA 21

E21 HM

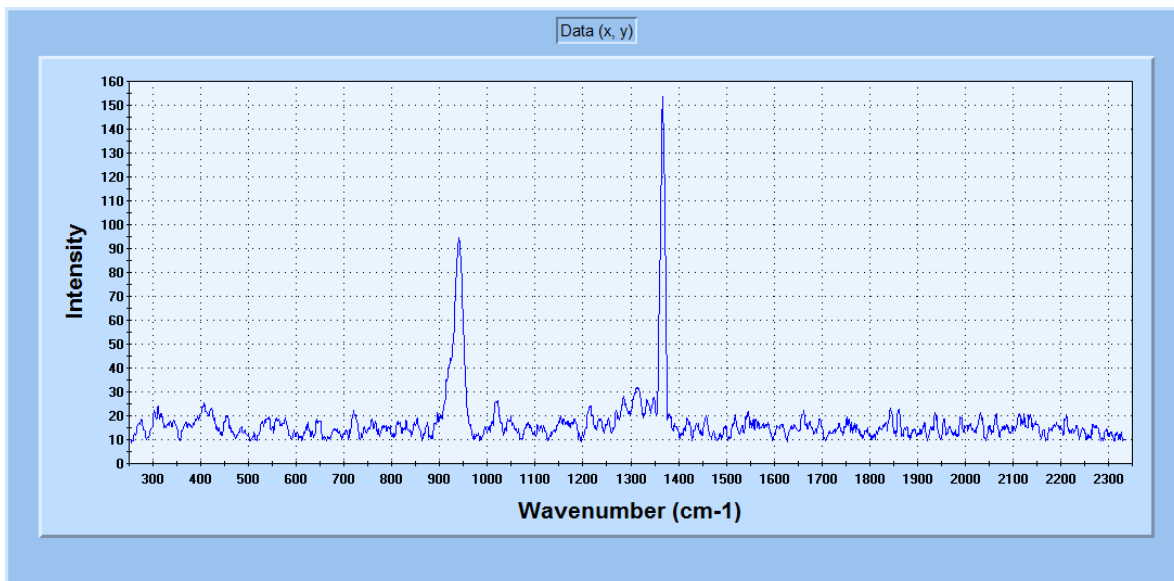


E21 N

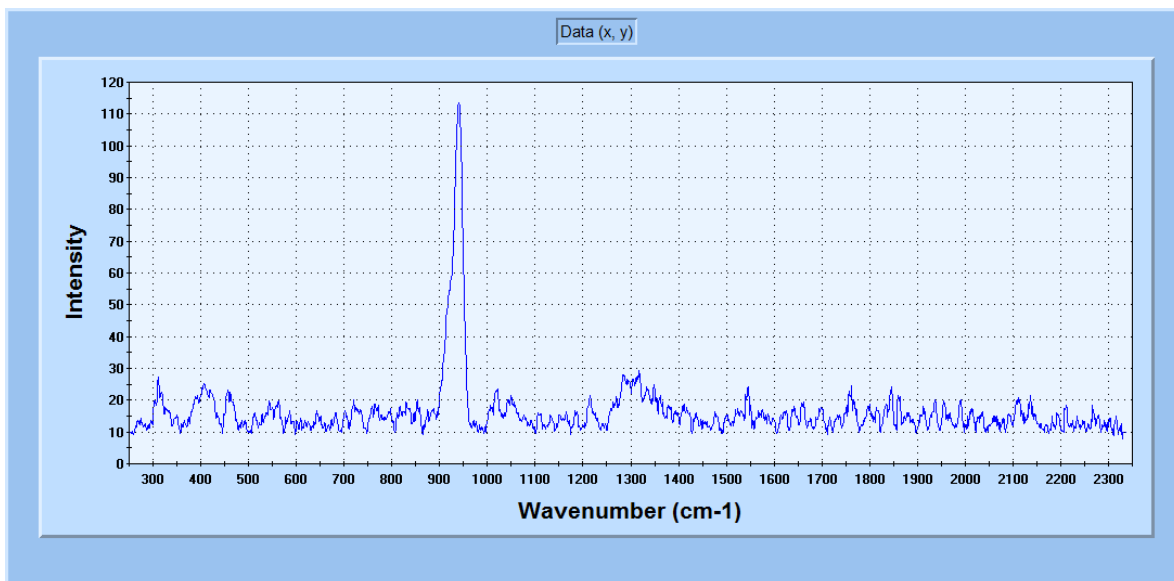


MUESTRA 22

E22 HM



E22 N

**DATOS DE ESPECTROS RAMAN**

Razón entre esmalte dental sano y el esmalte dental HM

MUESTRA	COLOR	EN	EHM	DIFERENCIA PERDIDA PORCENTUAL		RAZON
				EN - EHM	$\frac{EN - EHM}{EN}$	
1	Blanco cren	78.42	64.34	14.08	18.0%	1.22
2	Amarillo M	42.14	33.4	8.74	20.7%	1.26
3	EXCLUIDO - Mancha blanca con caries cavitada					
4	Amarillo M	52.73	41.85	10.88	20.6%	1.26
5	Blanco cren	242.3	39.07	203.23	83.9%	6.20
6	Blanco cren	103	85.43	17.57	17.1%	1.21
7	Pérdida de	61.22	22.22	39.00	63.7%	2.76
8	Blanco cren	147.8	59.26	88.54	59.9%	2.49
9	Blanco cren	70.41	69.32	1.09	1.5%	1.02
10	EXCLUIDO - Fluorosis					
11	Blanco cren	98.68	33.59	65.09	66.0%	2.94
12	Amarillo M	412.1	79.27	332.83	80.8%	5.20
13	Amarillo M	87.82	18.83	68.99	78.6%	4.66
14	EXCLUIDO - Fluorosis					
15	Amarillo M	50.09	46.45	3.64	7.3%	1.08
16	Amarillo m	58.71	24.43	34.28	58.4%	2.40
17	EXCLUIDO - Caries cavitada y mancha blanca					
18	EXCLUIDO - Restauración extensa sin esmalte HM					
19	EXCLUIDO - Fluorosis					
20	Pérdida de	230.6	34.09	196.51	85.2%	6.76
21	Pérdida de	35.83	26.03	9.80	27.4%	1.38
22	Pérdida de	51.87	33.56	18.31	35.3%	1.55



UNIVERSIDAD DE
COSTA RICA

SEP Sistema de
Estudios de Posgrado

SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO
TRABAJO FINAL DE INVESTIGACIÓN APLICADA
Acta 2862-2023

El día 21 de noviembre de 2023, Yesenia Sayuri Marciaga Camargo, carné universitario B38862; estudiante de la Maestría Profesional en Odontología: Odontopediatría,

Mención Honorífica Aprobó Reprobó

su Trabajo Final de Investigación Aplicada con el proyecto titulado: "Comparación de la cantidad de fosfatos en esmalte dental hipomineralizado y no hipomineralizado con Espectroscopía Raman"

TRIBUNAL EXAMINADOR

Nombre	Firma	No. Cédula
Dra. Tatiana Vargas Koudriavtsev Representante de la Decana Sistema de Estudios de Posgrado		1-1210 0400
Dr. Adrián Gómez Fernández Director		110 720581
Dra. Katherine Molina Chaves Asesora		1-0832 0817
Dra. Ariadna Aguilar Cubillo Asesora		111880926
Dr. Joseph Ulate Jiménez Representante del Director del Programa de Posgrado		10805 0353
POSTULANTE Yesenia Sayuri Marciaga Camargo Estudiante		PA 0807923

Observaciones:

Nota: En cada caso, firmarán el acta solamente los responsables de la actividad descrita.





UNIVERSIDAD DE
COSTA RICA

SEP Sistema de
Estudios de Posgrado

Autorización para digitalización y comunicación pública de Trabajos Finales de Graduación del Sistema de Estudios de Posgrado en el Repositorio Institucional de la Universidad de Costa Rica.

Yo, Yesenia Marcela Camargo, con cédula de identidad PA0807923, en mi condición de autor del TFG titulado "Comparación de la cantidad de fosfatos en el esmalte dental Hipomineralizado y no Hipomineralizado con Espectroscopia Raman "

Autorizo a la Universidad de Costa Rica para digitalizar y hacer divulgación pública de forma gratuita de dicho TFG a través del Repositorio Institucional u otro medio electrónico, para ser puesto a disposición del público según lo que establezca el Sistema de Estudios de Posgrado. SI NO *

*En caso de la negativa favor indicar el tiempo de restricción: _____ año (s).

Este Trabajo Final de Graduación será publicado en formato PDF, o en el formato que en el momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre, con el fin de permitir la consulta e impresión, pero no su modificación.

Manifiesto que mi Trabajo Final de Graduación fue debidamente subido al sistema digital Kerwa y su contenido corresponde al documento original que sirvió para la obtención de mi título, y que su información no infringe ni violenta ningún derecho a terceros. El TFG además cuenta con el visto bueno de mi Director (a) de Tesis o Tutor (a) y cumplió con lo establecido en la revisión del Formato por parte del Sistema de Estudios de Posgrado.

INFORMACIÓN DEL ESTUDIANTE:

Nombre Completo: Yesenia Marcela Camargo

Número de Carné: 838862 Número de cédula: PA0807923

Correo Electrónico: Yesenia.marclaga.c@gmail.com

Fecha: 21 de noviembre 2023 Número de teléfono: +5076234076

Nombre del Director (a) de Tesis o Tutor (a): Dr. Adrián Gómez Fernández

FIRMA ESTUDIANTE

Nota: El presente documento constituye una declaración jurada, cuyos alcances aseguran a la Universidad, que su contenido sea tomado como cierto. Su importancia radica en que permite abreviar procedimientos administrativos, y al mismo tiempo genera una responsabilidad legal para que quien declare contrario a la verdad de lo que manifiesta, puede como consecuencia, enfrentar un proceso penal por delito de perjurio, tipificado en el artículo 318 de nuestro Código Penal. Lo anterior implica que el estudiante se vea forzado a realizar su mayor esfuerzo para que no sólo incluya información veraz en la Licencia de Publicación, sino que también realice diligentemente la gestión de subir el documento correcto en la plataforma digital Kerwa.