

Microestructura del esmalte en los incisivos de Roedores. I. Variaciones con la edad

MARINA GARCIA, M.^a CARMEN ESCALA Y LUIS GALLEGO

Introducción

Desde hace más de un siglo se vienen realizando estudios sobre la estructura y naturaleza del esmalte dentario en diferentes grupos de Vertebrados. La mayor parte de ellos están dirigidos al conocimiento del esmalte en dientes de mamíferos y concretamente en los del hombre, por su utilidad inmediata (Glas, 1962; Carlstrom-Glas, 1963; Frazier, 1968; Sakuichiro and Al., 1972; Poole, 1961).

Tomes en 1850 dedicó un trabajo muy extenso al esmalte en los incisivos de los Roedores en el que, además de aportar numerosos datos, pudo observar que «la disposición de los prismas en grupos taxonómicos supuestamente conexos es muy similar». Fue, por tanto, la primera indicación de que la disposición de los citados prismas podía ser útil en sistemática, para diferenciar taxones superiores a la especie o el género. Korvenkontio (1934), Helmcke (1962) y Wahlert (1968), reafirmaron posteriormente esa idea, pero no añadieron nada nuevo aparte de algunos datos sobre especies no estudiadas por Tomes. Otros autores han estudiado más bien la evolución de la microestructura del esmalte en las distintas clases de Vertebrados y las modificaciones que ha ido experimentando a lo largo del tiempo (Kvan, 1946; Moss, 1964, 1967, 1969; Poole, 1956). Así se sabe que la estructura prismática del esmalte es una adquisición de los mamíferos (y no de todos ellos), ya que no la posee ningún otro grupo de Vertebrados, y esta estructura puede ser de diferentes tipos.

En cualquier caso, todos los autores citados han observado claras diferencias en la disposición de los prismas a nivel de taxones superiores. Schmidt y Keil, 1958; Shobusawa, 1952; Boyd, 1966, y Moss, 1969, observan además que la estructura prismática en los mamíferos actuales pre-

senta diferencias entre grupos próximos, sugiriendo la posibilidad de que esas diferencias sean específicas. Anteriormente, Carter, 1922, ya consideraba la posibilidad de separar mamíferos y reptiles fósiles por la estructura prismática o no del esmalte, mejor que por cualquier otro carácter óseo, con los que resulta particularmente difícil.

Lo que nosotros pretendemos en este trabajo y otros que le seguirán, es ver hasta qué nivel taxonómico es posible afinar en la determinación de los roedores, a base de estudiar los distintos parámetros cuantificables que se observan en el esmalte de un incisivo, bien sea el superior o el inferior. No hay duda que cuando se disponga del ejemplar entero, o del cráneo o restos de molares, etc., esta determinación podrá ser más fácil e incluso innecesaria, pero en restos procedentes de egagrópilas o en excavaciones paleontológicas es frecuente encontrar sólo incisivos aislados cuya determinación, lo más aproximada posible, puede ser muy útil en algunos casos.

Conocida la estructura prismática del esmalte en los incisivos de roedores, por los trabajos de otros autores, entre los que hay que destacar los de Tomes (1850), Korvenkontio (1934), Phillips-Oxberry (1972), Helmcke (1962), Wahlert (1968), los parámetros que investigaremos serán los que definió Korvenkontio en 1934: Anchura de los prismas; ángulo que forman; espesor de esmalte externo; espesor del esmalte interno; y, por último, el índice del esmalte. La definición de cada uno de ellos la veremos más tarde.

En este primer artículo, explicaremos la metodología seguida y las variaciones que experimentan los parámetros citados durante el crecimiento de los ejemplares.

Material y métodos

Se utilizaron los incisivos, superior e inferior derecho de 36 ejemplares de *Rattus norvegicus* var. albina, distribuidos en tres lotes de 12, cuyas edades respectivas eran, 5, 10 y 19 semanas.

Una vez extraídos los incisivos, se sometieron a un tratamiento de limpieza y desengrasado, después del cual se incluyeron en una resina sintética. A continuación se lijaron por ambas partes hasta obtener una sección sagital de la parte medial del incisivo, lo suficientemente fina como para ser observada al microscopio óptico normal. Para los tres procesos anteriores, limpieza, desengrasado e inclusión, se siguieron las técnicas de uso corriente, sin nada destacable. El lijado se hizo manualmente, no obstante, hay descritas una serie de máquinas que facilitan esta tarea (Fose, 1968, Fisher y Mackenzie, 1954, Sergeant y Pimplot, 1959).

El esmalte en los incisivos de los roedores sólo ocupa la porción externa de éstos, formando una delgada lámina. Vista al microscopio, una sección longitu-

dinal del incisivo presenta varias capas de fuera adentro con las siguientes características (Fig. 1).

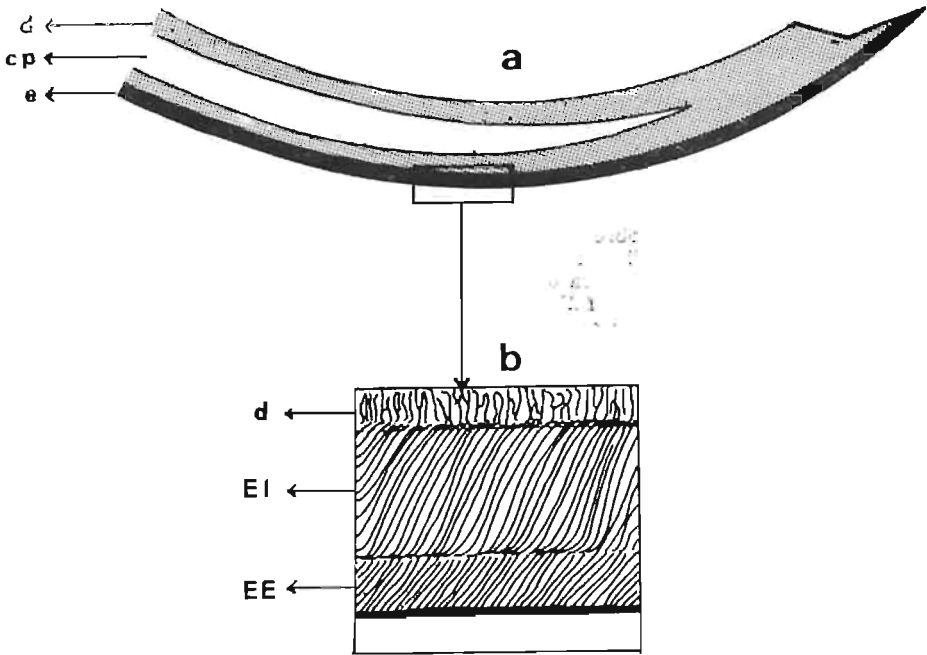


Fig. 1. a) Sección longitudinal de un incisivo inferior de Roedor.
b) Esquema ampliado de la zona del recuadro.

- d = Dentina.
- cp = Cavidad de la pulpa.
- e = Esmalte.
- EI = Esmalte interno.
- EE = Esmalte externo.

Esmalte externo.—Capa relativamente poco gruesa en la que se observan una serie de líneas sin ordenación definida. En esta primera capa sólo hemos medido su espesor en micras y en los cuadros lo representamos con las iniciales EE.

Esmalte interno.—Capa bastante más gruesa que la anterior, en la que aparecen una serie de líneas transversales más o menos inclinadas que siguen la dirección de los prismas del esmalte. Estas líneas o bandas se presentan rectas en la mayor parte de su recorrido, curvándose ligeramente en sus porciones superior e inferior. Debido a la acusada curvatura que presentan los incisivos de los roedores, el borde externo de esta capa es mayor que el borde interno, por lo que en la realidad esas bandas no son paralelas aunque puedan parecerlo en una observación superficial. Tomes (1850) considera los valores de 3,4 y 4,2 micras respectivamente para la anchura de una banda en su borde interno y externo en ejemplares de *Rattus norvegicus*.

Por nuestra parte, no hemos tenido en cuenta ese dato como veremos más

tarde, aunque sí hemos observado la presencia de *bandas suplementarias* en la mitad externa. Estas bandas suplementarias son más numerosas en el I. superior, sin duda debido a su mayor curvatura. En esta capa, es en la que realizaremos la mayor parte de nuestras medidas, que han sido: EI=espesor del esmalte interno en micras; Z=anchura de las bandas en micras y α el ángulo de las bandas.

El índice de esmalte IE, es la proporción de EE en el esmalte total y se calcula con la fórmula:

$$\frac{EE \times 100}{EE + EI}$$

la con la fórmula:

$$\frac{EE + EI}{EE + EI}$$

Dentina.—Inmediatamente debajo del EI y separada de éste por una línea generalmente bien definida. No la hemos tenido en cuenta para nada en nuestro estudio.

La medición de los distintos parámetros ha sido realizada por la mayoría de los autores directamente sobre el microscopio con ocular micrométrico o con platina giratoria. Únicamente Fosse (1968) ha utilizado fotografías en las que marcaba las zonas a medir. En nuestra opinión, éste método es el más acertado.

En primer lugar, evita la fatiga ocular que puede ser causa de muchos errores, cuando la serie a medir es larga y por otra parte, al poseer un archivo de fotos, convenientemente marcadas, es posible repetir y repasar las medidas pudiéndose detectar fácilmente simples errores de transcripción de datos.

Por tanto, en nuestro caso, se tomó una fotografía de cada incisivo preparado y se marcó como veremos a continuación (Fig. 2). Todas las fotografías, así como las preparaciones de las que se tomaron, están depositadas en el Departamento de Zoología de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Navarra.

La línea (1) de separación EI-D, delimita el campo de nuestras observaciones. En una perpendicular (2) a ella hasta el borde externo del incisivo, se pueden medir EE y EI.

Dos líneas paralelas a la primera (3 y 4), que delimitan el tercio central del EI, cortarán a todos los prismas a la misma altura y eliminarán las curvaturas superior e inferior de éstos. La línea (5), que une los puntos en que un prisma es cortado por las dos anteriores, nos forma un ángulo con la dentina que equivale al ángulo de inclinación de los prismas.

Sobre una perpendicular a la anterior (6), podremos medir el número de bandas que hay en una unidad concreta (en nuestro caso 50 micras). Esta medida por tanto dará el valor medio de la anchura de las bandas, sin tener en cuenta lo que se decía anteriormente sobre su mayor anchura en el borde externo que en el interno, ya que en las 50 micras que se consideran, unas bandas quedarán en la mitad externa inferior y otras en la mitad interna superior, con lo que quedan compensadas esas diferencias.

Por último, añadiremos que siempre que fue posible, se repitieron tres veces las líneas 2, 5 y 6 en una fotografía, de modo que de cada parámetro se hicieron 3 medidas, trabajando únicamente con la media de éstas.

Con todos los datos obtenidos, se realizó un test de Fisher, para ver las diferencias significativas, si las había, para cada parámetro en las distintas edades.

Resultados

Los datos obtenidos se exponen resumidos en la Tabla I y los resultados de las pruebas de significación en la Tabla II, en donde se compara, para cada parámetro, cada edad con las restantes.

Se considera significativa la diferencia cuando $p < 0,01$ y no significativa en los demás casos.

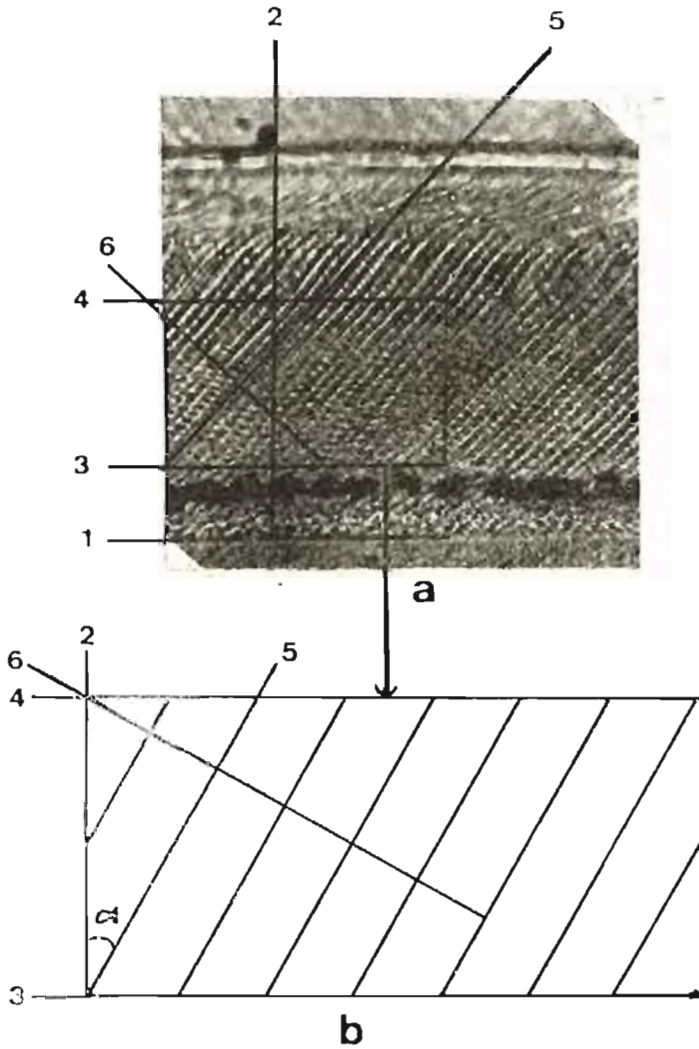


Fig. 2 a) Preparación de una fotografía para la obtención de los datos.
 b) Esquema ampliado de la zona del recuadro.
 El significado de los números verlo en el texto.

Discusión

Aunque los caracteres estudiados son los mismos, tanto en el incisivo superior como en el incisivo inferior, vamos a distinguirlos en la discusión y a realizar ésta por separado en uno y otro. Esto es lógico, puesto que como se ha indicado, el interés de nuestro trabajo es la determinación de ejemplares de los que se disponga de un solo incisivo, bien sea el superior o el inferior.

I. Superior

No se aprecian diferencias significativas en la anchura de las bandas, en el ángulo que forman con la dentina y en el índice de esmalte. Por lo tanto, parece que los tres son específicos y cabe pensar que están determinados genéticamente.

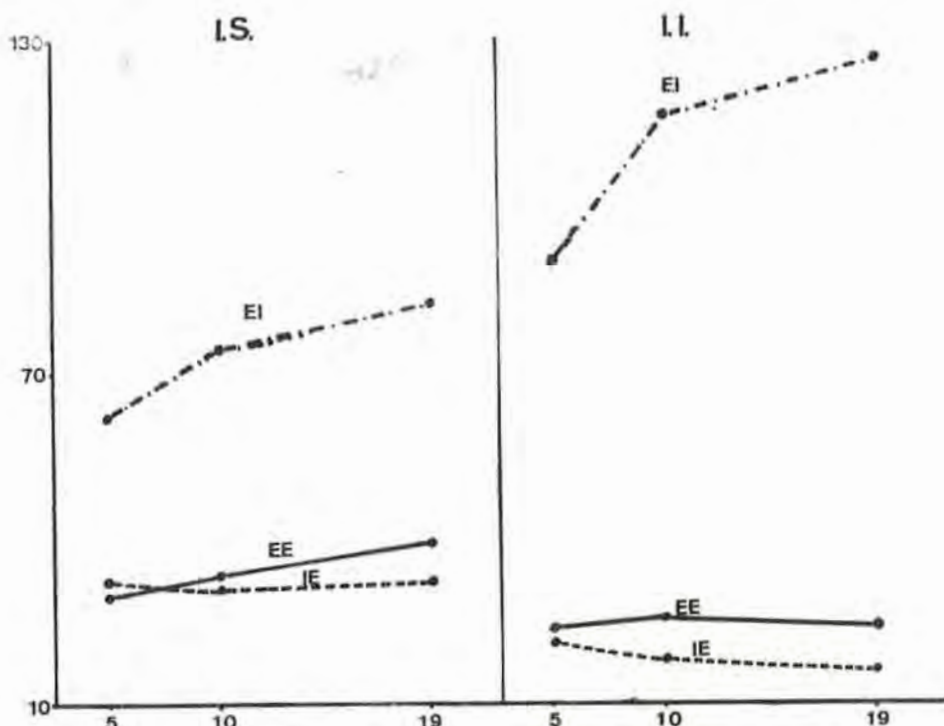


Fig. 3. Representación gráfica de los parámetros EE, EI e IE para 5, 10 y 19 semanas en I. superior e I inferior.

Tabla 1

Resumen de los datos obtenidos para cada parámetro en cada una de las edades, 5, 10 y 19 semanas.

| | I. superior | | | I. inferior | | |
|---------|-------------|-------|--------|-------------|--------|--------|
| | 5 | 10 | 19 | 5 | 10 | 19 |
| Med. | 3,48 | 3,51 | 3,42 | 3,20 | 3,20 | 3,20 |
| Máx. | 3,57 | 3,85 | 3,57 | 3,33 | 3,33 | 3,33 |
| Z Mín. | 3,33 | 3,23 | 3,23 | 3,03 | 3,13 | 3,63 |
| | 0,05 | 0,06 | 0,09 | 0,09 | 0,08 | 0,12 |
| Med. | 31,64 | 30,31 | 31,95 | 44,27 | 43,13 | 43,21 |
| Máx. | 35,50 | 35,00 | 34,50 | 49,00 | 47,50 | 46,00 |
| Mín. | 28,50 | 28,00 | 28,50 | 37,50 | 39,00 | 40,00 |
| | 2,64 | 2,16 | 1,67 | 3,04 | 2,46 | 1,83 |
| Med. | 29,78 | 33,40 | 38,70 | 23,75 | 25,23 | 24,03 |
| Máx. | 39,60 | 42,00 | 45,60 | 26,10 | 32,10 | 29,70 |
| EE Mín. | 26,40 | 28,80 | 34,80 | 15,40 | 19,00 | 15,40 |
| | 3,33 | 4,43 | 2,78 | 3,09 | 3,11 | 3,90 |
| Med. | 61,64 | 74,20 | 82,60 | 90,07 | 116,28 | 126,69 |
| Máx. | 72,00 | 82,80 | 121,20 | 101,10 | 134,40 | 135,00 |
| EI Mín. | 48,00 | 63,60 | 66,00 | 70,20 | 104,7 | 116,60 |
| | 7,44 | 5,62 | 14,61 | 8,10 | 9,12 | 6,32 |
| Med. | 32,67 | 30,96 | 32,26 | 20,75 | 17,83 | 15,93 |
| Máx. | 36,51 | 33,70 | 37,50 | 22,80 | 22,40 | 19,60 |
| IE Mín. | 29,27 | 26,97 | 24,63 | 17,90 | 13,70 | 10,20 |
| | 2,31 | 2,09 | 3,32 | 1,40 | 2,29 | 2,58 |

El EE y ET, varían con la edad (Tabla 1 y Fig. 3), lo que en principio parece lógico. Es de suponer que deberán aumentar durante una cierta edad, hasta que el crecimiento en espesor se estabilice. Al no aparecer diferencias significativas en el EI entre 10 y 19 semanas, parece que el espesor máximo de esta capa está próximo a alcanzarse. De todos modos, es interesante notar que ambos crecen proporcionalmente, ya que el IE no llega a presentar diferencias significativas en las tres edades consideradas, así pues, sólo el último de estos parámetros será específico.

Así, pues, los distintos espesores del esmalte podrán servir para tener idea aproximada de la edad del animal.

I. Inferior

En el incisivo inferior, la variación de los parámetros con la edad sigue caminos diferentes a los del incisivo superior. La anchura de las bandas se mantiene también sin diferencias significativas, igual que en el incisivo superior, por tanto puede considerarse como parámetro específico, aunque en este caso sean más anchas. El ángulo de las bandas aparece con valores próximos a 45°, mayores que en el superior, posiblemente debidos a la menor curvatura del incisivo inferior. Es interesante hacer notar que a medida que crece el individuo y por consiguiente el incisivo, los intervalos de variación del ángulo se van reduciendo (ver Tabla 1), si bien las medias son prácticamente iguales. Parece como si el parámetro se estabilizara a medida que crece el individuo. Esta aparente curiosidad puede tener gran interés, ya que lo único que ha sido diferente en unos u otros ejemplares, ha sido la dieta alimenticia. Los de 5 semanas han tomado alimento líquido durante casi toda su corta vida, mientras que los de 10 y 19 semanas, sólo tomaron dieta líquida una pequeña parte de su vida y los incisivos han funcionado activa y normalmente durante la mayor parte de ésta, Riesenfeld (1970) estudió las modificaciones de los molares según el alimento, mediante distintos experimentos con ratas de laboratorio y llega, entre otras, a la conclusión de que, «la dieta sólida más o menos dura, o líquida, hace que se presenten variaciones significativas en el tamaño y desarrollo normal de los molares», aunque éstos conservan por supuesto sus caracteres específicos.

Si tenemos en cuenta que la disposición de los prismas en el esmalte es similar a la de las líneas de fuerza que permiten realizar con mayor perfección el trabajo del incisivo, y que esas líneas de fuerza varían su inclinación según sea la curvatura del incisivo correspondiente, es lógico pensar que según sea la alimentación líquida (individuos de 5 semanas), o sólida (ejemplares de 10 y 19 semanas), varíen los intervalos del ángulo que forman, aunque las medias se mantengan sin diferencias significativas. Por tanto, cabría aplicar las conclusiones de Riesenfeld también al ángulo de las bandas, aunque esto no pase de ser una simple suposición por parte nuestra en el momento actual. Es decir, lo que está genéticamente determinado se conserva, pero puede ser susceptible de modificación según su uso, dentro de ciertos límites.

El EE, al contrario de lo que ocurre en el superior, no varía en el inferior con la edad, por lo que puede considerarse como carácter específico. El EI sí que aumenta de espesor con la edad del animal y por tanto el IE se hace más pequeño en los ejemplares más viejos.

Este distinto ritmo de crecimiento del espesor de los esmaltes en los

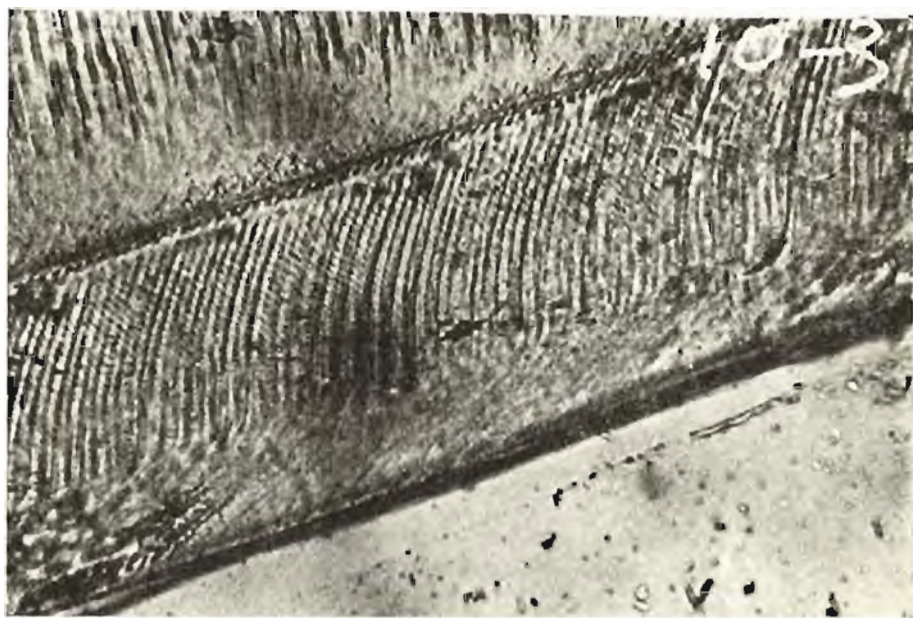


Fig. 4.—Microestructura del esmalte de *R. norvegicus* var. *albina*, en I. superior.

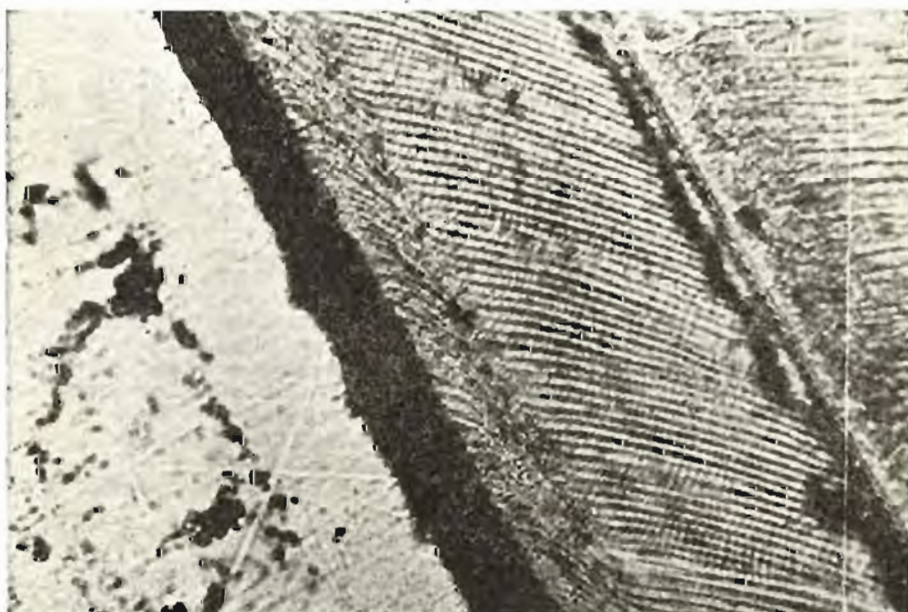


Fig. 4.—Microestructura del esmalte de *R. norvegicus* var. *albina*, en I. inferior.

incisivos superior e inferior, pueden verse representados en la gráfica de la Figura 3.

Table 2

Resultados de las pruebas de significación de cada edad con las restantes, para todos los parámetros.

| Z | I. superior | | | | | Z | E. nferior | | | |
|-------|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|------------|-------|-------|-------|
| | EE | EI | IE | EE | EI | | IF | | | |
| 10-19 | 10-19 | 10-19 | 10-19 | 10-19 | 10-19 | 10-19 | 10-19 | 10-19 | 10-19 | 10-19 |
| 5 | NN | NN | NS | SS | NN | NN | NN | NN | SS | SS |
| 10 | N | N | S | N | N | N | N | N | N | N |

Conclusiones

La formación y el crecimiento del esmalte parecen seguir ritmos diferentes en incisivo superior e inferior. En el primero, al menos hasta la edad de 19 semanas, el esmalte crece proporcionalmente tanto en su porción externa como interna, mientras que el índice de esmalte y la anchura e inclinación de las bandas no varían con la edad. Parece, por tanto, que estos tres últimos parámetros son específicos.

En el incisivo inferior los parámetros específicos son el EE, la anchura de las bandas y el ángulo que forman, si bien éste es posible que varíe de algún modo según el trabajo a que sean sometidos los incisivos. El EI aumenta de espesor con la edad, por lo que el IE disminuye proporcionalmente.

Resumen

En preparaciones microscópicas con cortes longitudinales de incisivos superiores e inferiores de *Rattus norvegicus* var. albina, se miden una serie de parámetros definidos por Korvenkontio, 1934: Espesor de esmalte externo (EE), espesor del esmalte interno (EI), anchura de las bandas (Z), ángulo que forman con la línea de separación dentina esmalte (), e índice del esmalte (IE).

Se utilizaron 36 ejemplares repartidos en tres lotes de 12 individuos cada uno con 5, 10 y 19 semanas de edad. Todas las medidas se realizaron sobre fotografías y siempre que fue posible, se repitieron tres veces en diferentes zonas de la fotografía.

Los resultados obtenidos muestran que el ritmo de crecimiento en incisivos superior e inferior es distinto. En el primero, no varían con la edad: la anchura de las bandas, el ángulo que forman y el índice de esmalte, mientras que el espesor del esmalte, tanto interno como externo, crece con la edad. En el inferior, no varían la anchura de las bandas y el ángulo que forman. Tampoco varía sig-

nificativamente el espesor del esmalte externo, mientras que el interno aumenta a medida que crece el animal. El índice de esmalte, por lo dicho anteriormente disminuye con la edad.

Summary

In microscopic preparations of upper and lower incisor of *Rattus norvegicus* var. *albina* with longitudinal cuts, a series of parameters determined by Korvenkontio, 1934, are measured: thickness of the external enamel (EE), thickness of the internal enamel (EI), width of the bands (Z), angle formed by the enamel dentine dividing line (α), and the enamel index (IE).

Thirty six specimens were used, divided in three groups of 12 each, of 5, 10 and 19 weeks of age. All measurements were taken on photographs and, whenever possible, they were repeated three times on different areas of the photographs.

The results show that the growth rhythm of the upper and lower incisors is different. In the upper, the width of the bands, the angle formed and the enamel index do not vary with the age, whereas the enamel thickness, both internal and external, grows with the age. In the lower, the width of the bands and the angle formed do not change; neither does, to a significant extent, the external enamel thickness, whereas the internal thickens as the animal grows. From the foresaid, it derives that the enamel index lessens with the age.

Bibliografía

- BOYD, A. (1966): The development of enamel structure in mammals. 276-280 pp. In Fleisch, H. H., J. J. Blackwood, and M. Owen (Eds.) *Third European Symposium on calcified tissues*. Springer Verlag.
- CARLSTRON, D., y GLAS, J. (1963): Studies on the ultrastructure of dental enamel. III. The birefringence of Human enamel. *J. Ultrastruc. Res.*, 8: 1-11.
- CARTER, J. T. (1922): On the structure of the enamel in the primates and some other mammals. *Proc. Zool. Soc. London*: 599-608.
- FISHER, H. D., y MACKENZIE, B. A. (1954): Rapid preparation of tooth sections for age determinations. *J. Wildl. Mgmt.* 18: 535-537.
- FOSSE, G. (1968a): A quantitative analysis of the numerical density and the distributional pattern of prism and ameloblasts in dental enamel and tooth germs. I. *Acta Odont. Scand.* 26: 273-284.
- (1968): A quantitative analysis of the numerical density and the distributional pattern of prism and ameloblasts in dental enamel and tooth germs. III. *Acta Odont. Scand.* 26: 545-572.
- FRAZIER, P. D. (1968): Adult Human enamel: An electron microscopic study of crystallite size and morphology. *J. Ultrastruc. Res.* 22: 1-11.
- GLAS, J.-E. (1962): Studies on the ultrastructure of dental enamel. II. The orientation of the apatite crystallites as deduced from X-ray diffraction. *Arch. Oral Biol.* 75: 91-104.
- HELMCKE, J. G., y RAU, R. (1962): La structure de l'enail des rongeurs. *Bull. G. I. R. S. Stom.* 5: 177-198.
- KORVENKONTIO, V. A. (1934-35): Mikroskopische Untersuchungen an Nagerincisiven unter Hinweis auf die Schmelzstruktur der Backenzähne. *Histologisch-physiologische Studie, Vanamo* 2: 1-280.
- KVAM, T. (1946): Comparative study of the ontogenetic and phylogenetic development of dental enamel. *Norske Tannlaegefor. Tid.*, Suppl., 56: 1-198.
- MOSS, M. L. (1969): Evolution of mammalian dental enamel. *Movitates* 2:360: 1-39.

- , JONES, S., y PIEZ, K. (1964): Calcified ectodermal collagens of shark enamel and teleost scale. *Science*, 145: 940-942.
- , HERMACK, K. A. (1967): Enamel structure in two upper Triassic mammals. *Jour. Dent. Res.* 46: 745-747.
- PHILLIPS, C. J., y OXBERRY, B. (1972): Comparative histology of molar dentitions of *Microtus* and *Clethrionomys*, with comments on dental evolution in Microtus rodents. *J. Mamm.*, 53: 1-24.
- POOLE, D. F. G. (1956): The structure of the teeth of some mammal-like reptiles. *Quart. J. Micros. Sci.* 97: 303-312.
- y BROOKS, A. W. (1961): The arrangement of crystallites in enamel prism. *Arch. Oral. Biol.* 5: 14-26.
- RIESENFELD, A. (1970): The effect of environmental factors on tooth development: An experimental investigation. *Acta Anat.* 77: 188-215.
- SAKIUCHIRO, M., NAKATA, T., y NISHIJIMA, S. (1972): Scanning electron microscopy of prismless enamel in human teeth. *Arch. Oral. Biol.* 17: 359-362.
- SCHMIDT, W. J., y KEIL, A. (1958): *Die gesunden und die erkrankten Zahngewebe des Menschen und der Wirbeltiere in Polarisationsmikroskop*. Carl Hanser Verlag, Munich; 388 pp.
- SERGEANT, D. E., y PILMLOTT, D. H. (1959): Age determination in moose from sectioned incisor teeth. *J. Wildl. Mgmt.* 23: 315-321.
- SHOBUSAWA, M. (1952): Vergleichende untersuchungen über die form der Schmelzprism dar Säugetiere. *Okijama Folia Anat.* 24: 371-392.
- TOMES, J. (1850): On the structure of the dental tissues of the order Rodentia. *Phil. Trans. Roy. Soc. London* 529-587.
- WAHLERT, J. H. (1968): Variability of rodent incisor enamel as viewed in thin section, and the microstructure of the enamel in fossil and recent groups. *Breviora* 309.

M. GARCÍA, M. C. ESCALA Y L. GALLEGO

Departamento de Zoología. Facultad de Ciencias.
Universidad de Navarra. Pamplona.

ESPAÑA (SPAIN)