



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---

---



**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**ANÁLISIS DE LA COMPOSICIÓN DE DIENTES CON  
FLUOROSIS DENTAL POR ESPECTROSCOPIA RAMAN.**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**C I R U J A N A   D E N T I S T A**

P R E S E N T A:

SHANTAL JIMENA HERNÁNDEZ GÓMEZ

TUTOR: Dr. JUAN CARLOS CUAUHTÉMOC HERNÁNDEZ  
GUERRERO

ASESORES: Dr. MARCO ANTONIO ALVAREZ PÉREZ  
Dra. MARÍA DOLORES JIMÉNEZ FARFÁN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## DEDICO

A mis tres hermanos, **Ilse, José Fidel y José Mauricio Hernández Gómez**, los amo.

A mis padres, **Maricela Gómez y Fidel Hernández** por su apoyo incondicional.

A mis abuelos, **Maura Rojas, Domingo Gómez y Rafaela Villegas** por cuidarme,  
abrazarme y quererme tanto.

A mis **tíos y primos**

A mis amigos **Karen Zepeda, Jhair Álvarez**, por cada momento, sonrisa, trabajo  
compartido.

## AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Nacional Autónoma de México**, por darme la oportunidad de ser universitaria.

A la **Facultad de Odontología** por permitirme desarrollarme como profesionista en la sociedad.

A mis **Maestros** por sus enseñanzas, regaños, consejos que me permiten ser mejor ser humano. En especial aquellos que confiaron en mí y que además me permitieron conocerlos como amigos.

Al **Departamento de Inmunología y Departamento de Bioingeniería de Tejidos**, por su apoyo incondicional, facilidad y trabajo en equipo.

A mis asesores el **Doctor Juan Carlos Cuauhtémoc Hernández**, gracias por confiar en mí y brindarme éste proyecto tan bonito, el **Doctor Marco Antonio Álvarez**, gracias por su apoyo y paciencia, gracias a la **Doctora Nancy Vargas Becerril** por el tiempo brindado al enseñarme un poco de su trabajo y gracias a la **Doctora Dolores Jiménez**.

Al **Doctor Francisco Sánchez Robles** por el trabajo fotográfico que me permitió potenciar el estudio, gracias.

A las personas que realizan investigación, camino difícil de seguir.

“Y sin embargo se mueven”

Evolución.

“Si existen las manzanas amarillas”

## ÍNDICE

1. DEDICATORIA.....	1
2. AGRADECIMIENTOS.....	2
3. ÍNDICE.....	3
4. RESUMEN.....	5
5. INTRODUCCIÓN	
5.1 FLUOROSIS DENTAL.....	6
5.2 GENERALIDADES DEL FLÚOR.....	7
5.3 PARTICIPACIÓN DEL FLÚOR EN LA CAVIDAD ORAL.....	8
5.4 INCORPORACIÓN DEL FLUOR AL ESMALTE .....	9
5.5 FORMACIÓN DE LOS CRISTALES DE ESMALTE.....	11
5.6 MINERALIZACIÓN, REMINERALIZACIÓN.....	12
5.7 SITUACIÓN MUNDIAL DE LA FLUOROSIS DENTAL.....	13
5.8 FLUOROSIS DENTAL EN MÉXICO.....	14
6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	17
7. JUSTIFICACIÓN.....	18
8. OBJETIVOS	
8.1 GENERALES.....	19
8.2 ESPECÍFCOS.....	19
9. HIPÓTESIS.....	19
10. MATERIALES Y MÉTODOS	
10.1 TIPO DE ESTUDIO.....	20
10.2 SELECCIÓN DE MUESTRA.....	20
10.3 TÉCNICA ESPECTROSCOPÍA RAMAN.....	21

10.4 EQUIPO.....	21
10.5 PROCEDIMIENTO.....	22
11. RESULTADOS .....	23
11.1 IMAGEN: Diente anterior con Fluorosis Dental grado 1.....	24
11.1.2 ESPECTRO 1: Diente anterior con Fluorosis Dental grado 1 zona 1.....	25
11.1.3 ESPECTRO 2: Diente anterior con Fluorosis Dental grado 1 zona 2.....	26
11.2 IMAGEN: Diente anterior con Fluorosis Dental grado 2.....	27
11.2.1 ESPECTRO 3: Molar con Fluorosis Dental grado 2 zona 1.....	28
11.2.2 ESPECTRO 4: Molar con Fluorosis Dental grado 2 zona 2.....	29
11.3 IMAGEN: Molar con Fluorosis Dental grado 3.....	30
11.3.1 ESPECTRO 5: Molar con fluorosis Dental grado 3 zona 1.....	31
11.3.2 ESPECTRO 6: Molar con Fluorosis Dental grado 3 zona 2.....	32
11.4 IMAGEN: Molar con Fluorosis Dental grado 4.....	33
11.4.1 ESPECTRO 7: Molar con Fluorosis Dental grado 4 zona 1.....	34
11.4.2 ESPECTRO 8: Molar con Fluorosis Dental grado 4 zona 2.....	35
TABLA 4. FRECUENCIA DE BANDAS.....	36
12. DISCUSIÓN.....	40
13. CONCLUSIONES.....	43
14. REFERENCIAS.....	44
15. ANEXOS	
1. CAMBIO DE AMELOBLASTOS.....	50
2. FORMACIÓN DE CRISTALES.....	51
3. ÍNDICE DE DEAN MODIFICADO ID .....	54
4. ÍNDICE COMUNITARIO DE FLUOROSIS DENTAL ICF.....	55
5. CÓDIGO ICDAS.....	56
6. ESPECTRO RAMAN DE [CaF] .....	57

## RESUMEN

La Fluorosis Dental es una condición dada por la ingesta excesiva de flúor provocando hipomineralización del esmalte dental, México según la OMS se encuentra entre los países con mayor riesgo de padecerla. En el estado de Durango se presentan las cifras más altas de severidad, sin embargo no existen estudios que nos permitan tener un diagnóstico exacto de lo que ocurre en el esmalte dental para brindar un mejor diagnóstico y entender la problemática y solución. Hoy en día las investigaciones realizadas son a nivel molecular con el fin de entender el comportamiento a la más mínima partícula, es por eso que se propone realizar Espectroscopía RAMAN para el análisis de esmalte dental con diferentes grados fluorosis basados en los criterios del Índice de Dean (ID). MATERIALES Y MÉTODOS: cuatro dientes procedentes del estado de Durango, México, se sometieron a un análisis RAMAN, cada uno con diferentes grados de Fluorosis Dental, a) Diente anterior con Fluorosis Dental grado 1, b) Diente con Fluorosis Dental grado 2, c) Molar con Fluorosis Dental grado 3 y d) Molar con Fluorosis Dental grado 4. Se analizaron dos áreas, zona 1) localizada en área oclusal y zona 2) en la parte del tercio medio del diente. Se utilizó el espectrómetro Thermo Scientific modelo DXR RAMAN Microscope con una fuente láser de 532-633 nm con potencia de 10-mW, con un sistema de iluminación de luz blanca corregida/ fluorescencia corregida. RESULTADOS: nuestros resultados indican las siguientes bandas de lectura correspondientes a la Amida I ( $1630-1700\text{ cm}^{-1}$ ), Amida II ( $1520-1620\text{ cm}^{-1}$ ), Amida III ( $1230-1300\text{ cm}^{-1}$ ),  $\text{PO}_4$ , ( $960-1033, 860-1070\text{ cm}^{-1}$ ),  $\text{CH}_2$  wag, ( $1453\text{ cm}^{-1}$ ) y Prolina ( $850\text{ cm}^{-1}$ ). CONCLUSIÓN: la espectroscopía RAMAN permitió obtener en las áreas analizadas los espectros que muestran las características de los elementos propios de hidroxiapatita, los cuales disminuyen al aumento de la severidad de la fluorosis. Así mismo; las bandas de los enlaces de amidas aumentan cuando existe una mayor severidad de Fluorosis Dental.

Palabras clave: flúor, Fluorosis Dental, Espectroscopía RAMAN, esmalte.

## 5. INTRODUCCIÓN.

### ANTECEDENTES.

#### 5.1 FLUOROSIS DENTAL

En 1888 Kuhns reporta una condición clínica similar a la que ahora se llama Fluorosis Dental, observada en México. Describió los dientes de una familia que vivía en la ciudad de Durango, México, como opaco descolorido y desfigurado. Años más tarde, una condición comparable fue reportada en estados Unidos de América por Black y Mekay quién observó manchas en muchos de sus pacientes, éstas manchas más adelante se conocerían como “esmalte moteado”.<sup>1,2</sup>

De 1920 a 1940 estudios epidemiológicos y de laboratorio sugirieron la asociación de la ingesta de fluoruro y los defectos que se presentan en el esmalte. Ésta condición fue nombrada Fluorosis Dental.<sup>3</sup>

La Fluorosis dental es un problema de distribución mundial, las investigaciones actuales reportan que existe una relación con la prevalencia en comunidades que tienen concentraciones altas de flúor en el agua.<sup>4</sup>

Thystrup y Fejeskov mostraron que los cambios histológicos que caracterizan a la fluorosis dental incluyen la hipomonerización del esmalte y el aumento en su porosidad, de ésta forma los dientes con fluorosis se ven similares a dientes en etapas tempranas de mineralización normal del esmalte con alto aumento en su porosidad.<sup>5</sup>

La patogénesis de la Fluorosis Dental no se atribuye, en lo fundamental, a cambios intracelulares o en el metabolismo celular de los ameloblastos, sino que se asocia a alteraciones en el medio ambiente extracelular durante la amelogénesis.<sup>6</sup>



La observación de la ultraestructura del esmalte con Fluorosis muestra un aumento en la distancia interprismática de los cristales de hidroxiapatita detectándose, cantidades similares de proteína comparada con el esmalte normal, pero se observa una alta proporción de matriz proteica inmadura. Los datos disponibles sugieren que la Fluorosis, aún en las formas más severas, se trata de un defecto en la mineralización del diente.<sup>7</sup>

La fluorosis dental puede ser proporcional a la edad, la cantidad y la exposición crónica al fluoruro y la susceptibilidad del huesped.<sup>8</sup>

Su prevalencia y severidad se relaciona con la cantidad de flúor ingerido, así como con la duración de la exposición.<sup>9</sup>

## 5.2 Generalidades del Flúor (F).

Es Flúor es el 13° elemento más abundante del planeta tierra con un número atómico de 9 y masa atómica de 18.9984, que adquiere un color amarillo pálido a temperatura y presión estándar.

El Flúor, pertenece al grupo 7 llamado Halógenos, los cuales presentan una forma molecular diatómica. Debido a que en su último nivel energético necesita un electrón más para estar completos [Fig. 1], por ello necesitan unirse con otro evidenciando su característica más importante, "No se presenta libre en su estado natural, solo se encuentra en combinación con otro elemento". Estos elementos reaccionan con la mayor parte de compuestos que contienen Hidrógeno en su estructura, siendo el flúor el elemento más electronegativo de todos.<sup>10</sup>

Al igual que otros halógenos, los fluoruros inorgánicos se disocian en solución acuosa para liberar el anión fluoruro monovalente (F<sup>-</sup>), el cual al estar libre solo se asocia con cationes.<sup>11</sup>

9	18,9984	-1
-188,2	<b>F</b>	-219,6
1,11		
1s <sup>2</sup> 2s <sup>2</sup> 2p <sup>5</sup>		
<b>Flúor</b>		

**Fig. 1:** elemento del Flúor en la tabla periódica.

El isótopo natural es el  $^{19}\text{F}$ , que tiene una vida media extremadamente corta (Leech, 1956; Sharpe, 1961). El isótopo que tiene el periodo más largo preparado para una reacción nuclear, es el  $^{18}\text{F}$  que tiene una vida media de 1.87 horas; sin embargo cuenta con muchas propiedades químicas únicas que comprenden propiedades fisiológicas y bioquímicas especiales afectando a su metabolismo y mecanismos de acción dentro del cuerpo humano.<sup>12</sup>

La naturaleza isotrópica del flúor ha tenido un impacto importante en nuestra comprensión del metabolismo, toxicidad y efectos terapéuticos del fluoruro.

El fluoruro no puede ser metabolizado por el cuerpo humano (Holland, 1979; Sternweis and Gilman, 1982; Whitford et al. 1987), pero debido a su reactividad interactúa en los tejidos de diferentes maneras.

El fluoruro es asimilado en el cuerpo gracias a los alimentos, productos dentales y sobre todo en el agua de consumo humano, la capacidad de absorción del flúor está relacionado con la cantidad ingerida y edad. Si es ingerido en las etapas de maduración participará de manera más directa y con mayores consecuencias en los tejidos óseos principalmente, participando en la mineralización, y en el esmalte dental provocando cambios estructurales a nivel molecular, dando lugar a la Fluorosis Dental.<sup>13</sup>

### **5.3 Participación del flúor en cavidad oral.**

El Flúor participa modificando la estructura del cristal de hidroxiapatita presente en los órganos dentarios.<sup>14</sup>

El efecto del flúor sobre las bacterias es inhibir la producción de ácido mediante su presencia en la saliva, la placa o la superficie del esmalte. El flúor es capaz de alterar la colonización y algunos signos vitales de las bacterias de la placa dentobacteriana a la fermentación, el crecimiento y la multiplicación, alterando sus procesos metabólicos, crecimiento, reproducción y por último llevando su muerte celular.<sup>15</sup>

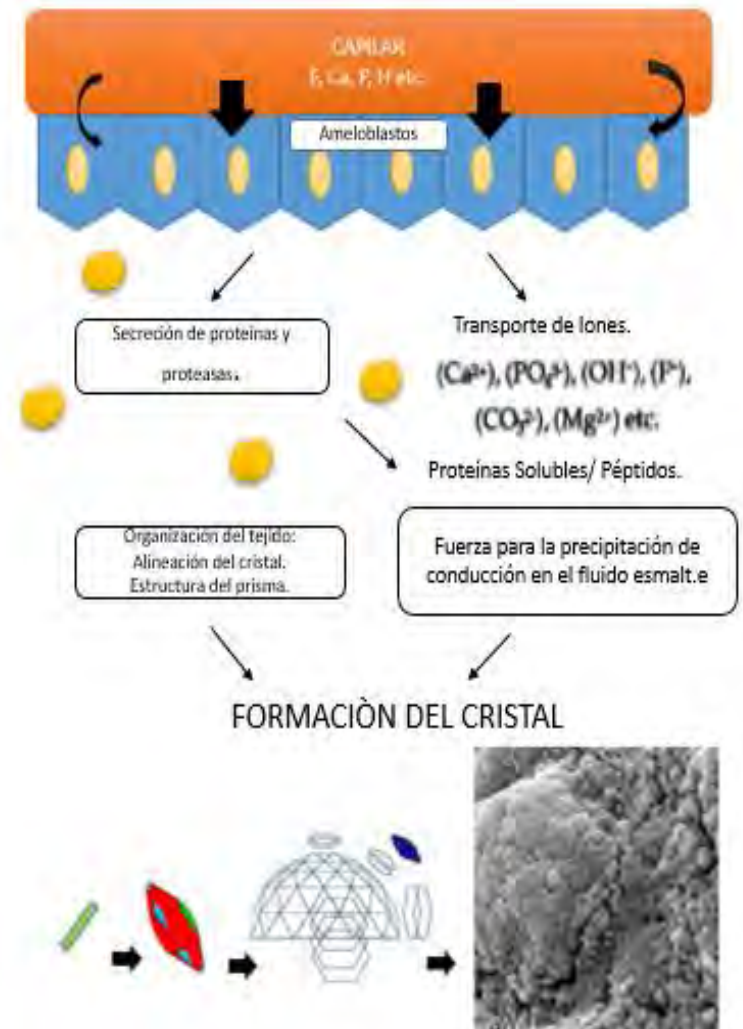
## 5.4 INCORPORACIÓN DEL FLÚOR AL ESMALTE DENTAL

La principal vía de incorporación del flúor al organismo humano es digestiva, absorbido rápidamente en la mucosa del intestino delgado y del estómago, por un simple fenómeno de difusión. Una vez absorbido el flúor pasará al torrente sanguíneo y se distribuye en los tejidos.

El esmalte es un tejido que comienza a formarse desde la sexta semana de vida, etapa de mayor desarrollo en los seres humanos, debido a que el cuerpo está en una total absorción de los elementos necesarios para su formación.<sup>16</sup>

Se tienen 2 vías en las que el flúor puede estar presente en el proceso de formación de esmalte: la primera es sistémica, el flúor llega a participar directamente a estimular a los ameloblastos por medio del torrente sanguíneo fetal para secretar un mayor número de matriz.<sup>17</sup> La segunda consiste en el proceso remineralización cuando existe el intercambio iónico entre el órgano dentario y su medio. Gracias al transporte que efectúa el plasma del flúor, éste puede llegar a todos los

tejidos existentes generando problemas no solo en tejidos dentarios, sino también afectar estructuralmente en tejidos óseos, debido a su afinidad con el calcio.<sup>18</sup> [Fig.2.]



**Fig.2:** en el esquema superior podemos analizar de una mejor manera las vías de absorción, empezando a tomar los minerales existentes en el torrente sanguíneo por medio de los ameloblastos y excretando la matriz formadora de los cristales, formando los prismas del esmalte

En la etapa de formación del esmalte tenemos 2 etapas, secretoria y de maduración, entre éstas dos hay un estado intermedio llamado "Transición".

La primera fase comprende la absorción de iones del plasma para luego ser metabolizados por el ameloblasto y expulsado como matriz formadora de esmalte. Éste tejido comprende una composición de 85% mineral, 35% orgánico y 2 % de agua. Se sabe que el ion flúor tiene un efecto sobre la célula, excitándola para la secreción de mayor cantidad de matriz, por tanto la cantidad de minerales absorbidos depende de la cantidad sistémica ingerida en alimentos pero sobre todo en el agua que se consume desde la concepción. Se concluye que no solo es flúor lo absorbido por las células formadoras del esmalte, sino de todos los minerales existentes en el torrente sanguíneo.<sup>19</sup>

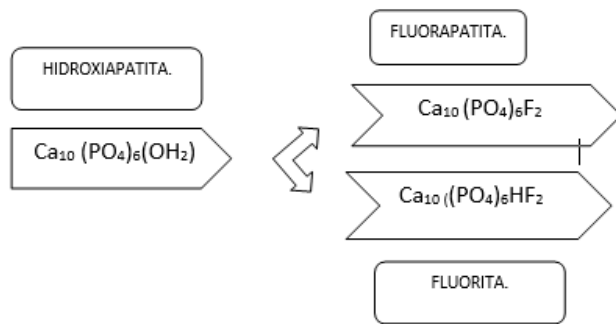
En la llamada transición hay acceso difusible, hay reducción del estrato intermedio de una sola capa de células reduciéndose a la mitad de su tamaño, sus núcleos se colocan céntricamente y los capilares invaden el órgano del esmalte para acercarse a la capa del estrato intermedio.<sup>20</sup> **Anexo 1.**

En la etapa de maduración, la matriz expulsada de iones minerales por los ameloblastos forma los cristales de apatita, etapa que crece en anchura y espesor para remplazar líquido que había sido sustituido a la matriz de proteína degradada. El tiempo varía de 2 semanas a varios años. El 95% del volumen de tejido es ocupado por cristales, pero es en la etapa post erupción cuando alcanza su maduración completa.<sup>21</sup>

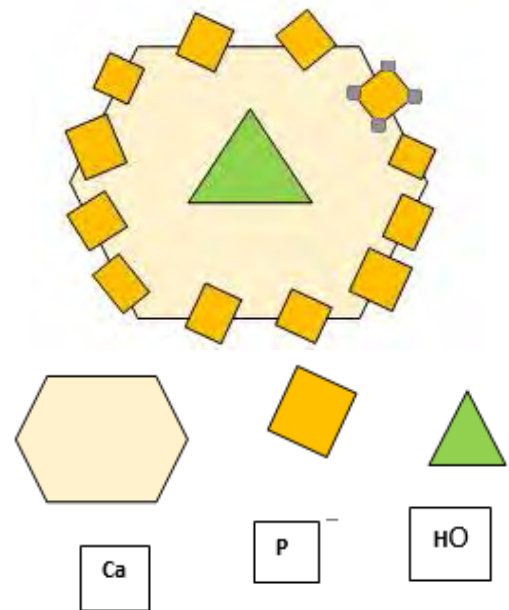
Cuando se tiene una mayor cantidad de flúor en la matriz expulsada se crean cristales más densos, de dimensiones de mayor tamaño y de mayor grado de cristalinidad, reduciendo el contenido de carbonato y aumentando el contenido mineral de la estructura prismática del cristal.<sup>22</sup>

### 5.5 FORMACIÓN DE LOS CRISTALES

La nucleación es la forma de inicio de crear el cristal, por medio de un sustrato (apatita), en el cual los cristales se agrupan en forma ordenadamente en forma hexagonal por medio de las proteínas como amelogeninas, enamelinas, ameloblastina y tuftelina que ayudaran a que la formación ordenada y sistematizada casi perfecta, para crear el esmalte dental. <sup>23</sup>**Anexo 2.**



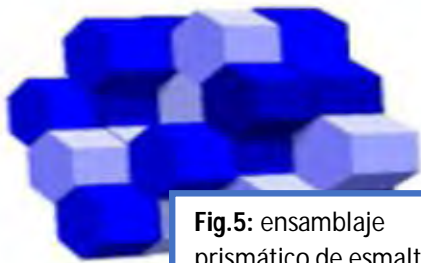
**Fig. 3:** la matriz ideal de los cristales que forman el esmalte dental es conocida como hidroxiapita sin embargo al momento de la formación del cristal, el flúor ocupa el lugar en la estructura molecular de hidrógeno, y se cambia por el ion flúor, creando la fluorapatita o hidroxiapatita según el lugar de hidrógeno ocupados por el flúor.



**Fig. 4:** los cristales formados empiezan a estructurar el prisma hexagonal característico del esmalte en proporción de Ca: 10, P: 6, HO: 2, siendo en su mayoría el Calcio la molécula dominante en la estructura. Conformado una estructura prismática.

En el esmalte dental solo el 10 % de los grupos hidroxilo pueden ser sustituidos por flúor encontrándose las mayores concentraciones de fluoruro en la superficie, alrededor de 1000 a 2000 ppm en áreas no floradas. Debajo de la superficie 20 a 100 ppm dependiendo de la ingestión durante el desarrollo.<sup>24</sup>

Los cristales de hidroxiapatita del esmalte están apilados en un eje longitudinal, [Fig.5] entre estos prismas se encuentra un espacio extracelular con gran cantidad de agua, moléculas y iones que fluyen constantemente.<sup>25</sup>



**Fig.5:** ensamblaje prismático de esmalte

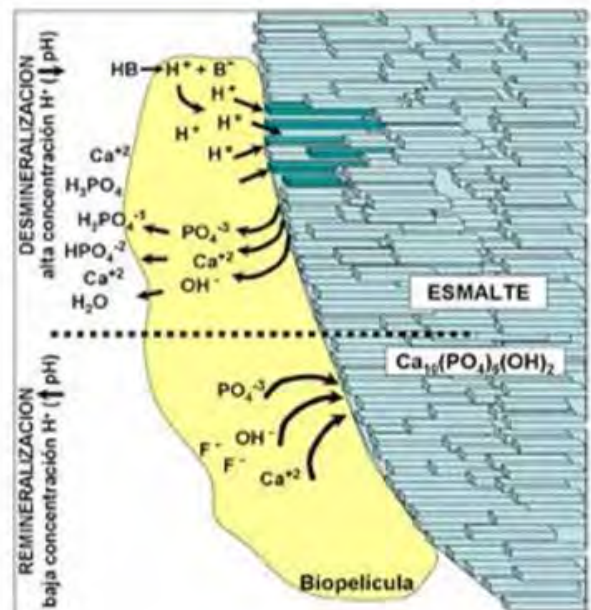
Es posible que el flúor ejerza su efecto a través de la alteración de la actividad del calcio y de enzimas que dependen del calcio, localizadas en el fluido que se encuentran rodeando los conglomerados de proteína- cristales en el espacio extracelular. Asimismo; flúor podría producir un retraso o evitar la degradación de proteína, amelogenina, y su remoción del esmalte, retrasando así la sustitución de la matriz orgánica por material inorgánico a través de la formación de cristales (apatita).

Por ende se afecta la maduración de tejido.<sup>26</sup>

### 5.6 MINERALIZACIÓN Y REMINERALIZACIÓN.

El diente se encuentra en un medio, por lo cual experimenta un fenómeno llamado "Solución saturada". [Fig: 6] Cuando el esmalte está rodeado por agua por mucho tiempo los iones son retirados uno por uno por las moléculas de agua (hidratación) por lo que los cristales perderán iones hasta alcanzar una concentración de iones en el agua circundante (saliva) creándose un ambiente iónico el cual no se tenía, lo que conlleva a un equilibrio para detener el proceso de perder iones.<sup>27</sup>

Por otro lado se tiene la contraparte de éste proceso, la remineralización, que ocurre cuando la solución que rodea el esmalte está sobresaturada de iones, los cuales comienzan a formar enlaces formando la nucleación de nuevos cristales. Los núcleos se precipitan en aquellos espacios de la superficie molecular del esmalte que, como producto de la desmineralización tienen una mayor área de contacto.<sup>28</sup>



**Fig.6:** Se ilustra el proceso de desmineralización y remineralización del esmalte dental en la cavidad oral, debido al ph, que condicionan los hidrogeniones para crear un ambiente ácido y desmineralizar el esmalte y cargas negativas para ser incorporados al esmalte en el proceso de remineralización.

Los cristales que se forman crecerán de manera isotrópica (en diferentes direcciones y a diferente velocidad) por deposición de iones en sus diferentes caras, entendiéndose así la visión clínica de la fluorosis severa, ya que los nuevos cristales crecerán sin una manera paralela a los prismas existentes propios del esmalte.<sup>29</sup>

El fluoruro controla el desarrollo de la lesión de caries, primordialmente por su efecto tópico en los procesos de remineralización. Disminuye la tasa de desmineralización y promueve la remineralización del esmalte siempre y cuando sea a la proporción correcta (0.5-1.0 ppm).<sup>30</sup>

El fluoruro así sea en muy baja concentración está presente en el proceso de desmineralización de la hidroxiapatita por su condición de sobresaturación, con respecto al esmalte lo cual favorece su flujo hacia los cristales reemplazando a los hidroxilos y atraerá iones de calcio para formar  $\text{Ca}_2\text{F}$  que se disuelve liberando el fluoruro.<sup>31</sup>

## **5.7 SITUACIÓN MUNDIAL DE LA FLUOROSIS DENTAL.**

Estados Unidos fue el país pionero en revelar estudios acerca de la Fluorosis Dental, en 1930 Dean determinó que el flúor reduce la caries dental y que además relaciona la presencia de la Fluorosis Dental en los individuos que viven en regiones donde el agua contiene grandes cantidades de flúor.<sup>32</sup>

En 1933 MacCormac, Simmonds y Becker trabajaron en estudios basados en evidencia de que los fluoruros actúan contra la caries dental si se añaden al agua potable.<sup>33</sup>

En 1969 la OMS crea el banco mundial de datos, en donde participan los países más industrializados de ese entonces para crear un reporte estadístico acerca de la situación mundial de éste problema de salud bucal. Los datos adquiridos dejaron ver que se comportaba de diferentes maneras dependiendo de diversos factores tales como la zona geográfica, la temperatura, el clima, la altitud de la localidad, la edad, el metabolismo, la dieta, los hábitos higiénicos, el tiempo de consumo, la concentración ingerida y frecuencia de ingestión.<sup>34</sup>

En países en desarrollo como Hong Kong, Malasia y Singapur pasaron de una alta prevalencia de caries a baja prevalencia en 1985 agregando el fluoruro al agua potable, mientras que en otros países muy

industrializados como Japón e Italia pasaron de modalidad baja a alta prevalencia. Los países que no adoptaron ésta medida de prevención fueron Canadá, Suecia, Suiza, Noruega Holanda y Dinamarca.<sup>34</sup>

En Colombia, Chile y Cuba se presentan prevalencias de 11.5%, 32%, y 1.8 % respectivamente y en México se ha reportado 37%.<sup>35</sup>14

## **5.8 FLUOROSIS DENTAL EN MÉXICO**

El sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales (SIVEPAB) reportó que en México, la caries y la Fluorosis dental son de las alteraciones más frecuentes en la cavidad oral, para disminuir la incidencia.<sup>36</sup>

En México el Programa Nacional de Fluoruración de la Sal (PNFS) se inició en el Estado de México aproximadamente en 1988. La Norma Oficial Mexicana (NOM) para la fluoruración de la sal fue publicada en 1995. 1 Actualmente cinco estados del país están excluidos del PNFS por la presencia de fuentes de abastecimientos de agua con concentraciones de flúor superiores a los óptimos, lo que es una contraindicación para el consumo de sal fluorada.<sup>37</sup>

En México hay zonas con alta concentración de flúor en el agua por encima de 1ppm, donde se han hallado diversos grados de fluorosis dental.<sup>40</sup> También hay otras regiones donde la concentración de flúor en el agua de acuerdo a los criterios de la OMS, no es alta y sin embargo existe fluorosis.<sup>38</sup>

La norma oficial mexicana NOM- 041- SSA - -1 – 1993, establece que la concentración óptima de flúor en el agua envasada de consumo humano debe ser de 0.7 ppm a 1 ppm.<sup>39</sup>

La encuesta Nacional de Caries dental (ENCD 2001) registró, adicionalmente a la caries la presencia de Fluorosis dental.2 Sin embargo no se han dado a conocer las cifras hasta el momento.<sup>40</sup>



**TABLA 1. Clasificación de los estados según el índice Comunitario de Fluorosis de las localidades visitadas en la Encuesta Nacional de Caries Dental 2001, altura de las localidades y participación estatal en el Programa Nacional de Fluoruración de la Sal.**

ESTADO	Promedio <sup>a</sup> (IC 95%) <sup>b</sup>	CLASIFICACIÓN <sup>c</sup>	ALTURA <sup>d</sup>	PNFS <sup>e</sup>
Durango	1.96 (1.19,2.00)	A	1, 130-2, 636	E
Zacatecas	1.19 ( 1.14, 1.25)	A	1,163-2, 426	E
Aguascalientes	1.10 (1.00, 1.15)	A	1, 791-2, 045	E
San Luis Potosí	1.00 (0.95, 1.04)	A	41-2, 027	PI
Jalisco	0.79 (0.76, 0.83)	B	1, 372-2, 058	PI
Guanajuato	0.72 (0.67, 0.76)	B	1, 560-2, 539	E
Querétaro	0.63 (0.58, 0.67)	B	794-2, 170	PI
Baja california	0.61 (0.57, 0.65)	B	2-1,078	E
Chihuahua	0.61(0.56, 0.65)	B	1,224-2,170	PI
Sonora	0.39 (0.34, 0.45)	C	1-1,199	PI
Puebla	0.36 (0.31, 0.40)	C	562-2,298	PI
Hidalgo	0.32 (0.26, 0.39)	C	639-2,389	PI
Baja California Sur.	0.25 (0.21, 0.29)	C	3-240	I
Coahuila	0.19 (0.14, 0.23)	C	223-2,096	PI
Oaxaca	0.17 (0.10, 0.23)	C	22-2494	I
Tlaxcala	0.15 (0.12, 0.18)	C	2212-2569	II

<b>Michoacán</b>	0.13 (0.09, 0.19)	C	10-2160	PI
<b>Tamaulipas.</b>	0.12 (0.06, 0.18)	C	9-150	I
<b>Sinaloa</b>	0.11 (0.04, 0.14)	C	7-546	PI
<b>Quintana roo</b>	0.09 (0.04, 0.14)	C	10-70	I
<b>Nuevo León</b>	0.09 (0.04, 0.15)	C	323-716	PI
<b>Campeche</b>	0.09 (0.03, 0.15)	C	7-90	I
<b>Nayarit</b>	0.07 (0.02, 0.12)	C	1-1250	I
<b>Distrito Federal</b>	0.05 (0.02, 0.07)	C	2240	I
<b>Veracruz</b>	0.04 (0.00, 0.08)	C	9-1240	I
<b>Colima</b>	0.04 (0.00, 0.10)	C	9-944	I
<b>Yucatán</b>	0.04 (0.00, 0.12)	C	9-20	I
<b>Morelos</b>	0.02 (0.00, 0.07)	C	803-2291	I

**TABLA 1.** <sup>a</sup>Diferencias significativas entre estados. Kruskal- Wallis test  $\chi^2=8529.9$ . <sup>b</sup>IC 95%: intervalo. <sup>c</sup>Clasificación del ICF según las categorías de relevancia del nivel de fluorosis dental como problema de salud pública. <sup>d</sup>Altura (m): altura sobre el nivel del mar, valor mínimo y máximo de las localidades visitadas en la ENCD 2001. <sup>e</sup> PNFS participación en el programa Nacional de Fluoruración de la sal. E: excluido. I: incluido. PI: parcialmente incluido.<sup>40</sup>

## 6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El flúor se ha utilizado ampliamente para reducir la caries dental, principalmente en los países industrializados. Sin embargo su uso excesivo o sin supervisión puede ocasionar Fluorosis Dental. La fluorosis dental fue citada por la Organización Mundial de la Salud como un problema de salud bucal. Por otra parte, la caries dental afecta a más de 90% de la población mexicana, mientras que la fluorosis se presenta con una frecuencia variable según el estado en el que el estudio se haya realizado. Durango, Chihuahua, Zacatecas, Aguascalientes, San Luis Potosí, e Hidalgo son los estados con mayores índices de Fluorosis Dental. <sup>41</sup>

El diagnóstico de la fluorosis dental se basa en criterios clínicos y se realiza a través de distintos índices (Dean, índice comunitario de Fluorosis Dental (IFC) e índice Thystrup y Fejeskov). Existen numerosos estudios acerca de la epidemiología de la fluorosis dental, así como los efectos que genera en distintos tejidos. Sin embargo, son escasos los estudios que abordan el tema de las alteraciones estructurales que presentan los órganos dentarios con diversos grados de fluorosis dental. La espectrometría de Raman es una técnica que se basa en la caracterización de la fase mineral en compuestos sintéticos y naturales de los tejidos. Por lo anterior se plantea la siguiente pregunta de investigación, ¿la severidad de la fluorosis dental determinada mediante el índice de Dean está relacionada con las alteraciones estructurales del esmalte dental determinado mediante espectrometría Raman?

## 7. JUSTIFICACIÓN

Hoy en día la investigación analiza procesos moleculares a su mínima expresión para poder determinar su correcta solución. La Espectroscopía RAMAN (ER) ha mostrado ser muy sensible y específica comparada con otros análisis espectroscópicos en el campo de la biomedicina. Se presenta la técnica (ER) como análisis de la composición de dientes con Fluorosis Dental (muy leve, leve, moderada y severa de acuerdo al Índice de Dean) técnica muy sensible y específica comparada con otros análisis espectroscópicos en el campo de la biomedicina. El problema con el uso de otras técnicas de espectroscopía es la presencia de altas cantidades de agua (como en los tejidos duros y blandos) puede alterar la intensidad de la banda espectral, lo cual no sucede con la ER. Entre las ventajas de éste método se tiene la no preparación de la muestra y el ser una técnica no- destructiva, no- invasiva,<sup>42</sup> para poder determinar las posibles variaciones en su estructura iónica.

## **8. OBJETIVOS.**

### **8.1 GENERALES.**

- Determinar los componentes iónicos en dientes humanos con diferentes grados de Fluorosis Dental mediante espectroscopia RAMAN.

### **8.2 ESPECÍFICOS.**

- Comparar los componentes iónicos en dos zonas distintas de dientes humanos con diferentes grados de Fluorosis Dental mediante Espectroscopía RAMAN.

## **9. HIPÓTESIS.**

El grado de severidad de la fluorosis dental está relacionado con variaciones en la composición iónica del esmalte dental.

## 10. MATERIALES Y MÉTODOS

### 10.1 TIPO DE ESTUDIO

Se realizó un estudio transversal descriptivo, en el que se evaluó la estructura molecular por medio de microscopia RAMAN, en los diferentes grados de severidad de Fluorosis Dental.

### 10.2 SELECCIÓN DE MUESTRA.

La población de estudio consistió en un total de 4 dientes extraídos de personas del estado de Durango, México. Cada diente fue seleccionado según el Índice de Dean (recomendado por la OMS).<sup>43</sup>

PUNTUACIÓN	CRITERIO	DESCRIPCIÓN.
0	NORMAL	La superficie del esmalte es suave y brillante, habitualmente de color blanco-cremoso pálido.
1	MUY LEVE	Pequeñas zonas blancas como el papel y opacas, dispersas irregularmente en el diente, pero que afectan a menos del 25% de la superficie dental labial.
2	LEVE	La opacidad blanca del esmalte es mayor que la correspondiente a la muy ligera, pero abarca menos del 50% de la superficie dental labial.
3	MODERADA	La superficie del esmalte de los dientes muestra un desgaste marcado; además el tinte pardo es con frecuencia una característica que la distingue.
4	SEVERA.	La superficie del esmalte está muy afectada y la hipoplasia es tan marcada que puede afectarse la forma general del diente. Se presentan zonas excavadas o gastadas y se halla un extendido tinte pardo; los dientes a menudo presentan un aspecto corroído.

**TABLA 2:** Categorías de fluorosis dental mediante el Índice de Dean, utiliza 5 etapas de afectación de la patología para clasificarla de acuerdo a su severidad.

### 10.3 TÉCNICA ESPECTROSCOPIA RAMAN.

La espectroscopia RAMAN tiene como fin analizar la información química y estructura molecular de la materia, se basa en el análisis de la luz dispersada por el material, tiene la ventaja de medir todo tipo de estados de agregación (sólido, líquido, y gaseoso), no se necesita la preparación de la muestra y es una técnica no destructiva.<sup>44</sup>

La obtención del espectro RAMAN es rápida, pero no se puede aplicar a metales ni aleaciones, por lo tanto solo obtendremos componentes orgánicos en el esmalte dental.<sup>45</sup>

Cuando la luz láser incidente golpea una muestra de tejido, algunos fotones se someten a un cambio en la energía, conocida como efecto RAMAN. Excitaciones moleculares y las interacciones entre las moléculas de la muestra causan éste cambio y conducen a la dispersión inelástica de fotones.<sup>46</sup>

Debido a que cada molécula tiene vibraciones únicas, el espectro RAMAN de un tejido consiste en una serie de picos o bandas características de la composición bioquímica de que el tejido permita la discriminación entre muestras biológicas con diferentes patologías como también proteínas, ácidos nucleicos y lípidos.<sup>47</sup>

Tiene un vasto campo de aplicaciones en la ciencia, y en el campo de la odontología, entre otras se utiliza para analizar el grado de polimerización, composición química además de cristalización de materiales como polímeros y emulsiones.<sup>48</sup>

En medicina se han realizado estudios de composición estructura del tejidos óseos, así como sus propiedades, obteniendo resultados para avances sobre osteoporosis, osteogénesis imperfecta y modelos genéticos.<sup>49(8)</sup>

### 10.4 EQUIPO.

Las muestras que se utilizaron en éste estudio fueron obtenidas por el departamento de patología de la Universidad Autónoma del Estado de Durango, el estudio fue realizado junto con el departamento de Bioingeniería de Tejidos de la División de Estudios de Posgrado e Investigación, Facultad de Odontología



**Fig.7:** espectrómetro RAMAN utilizado en éste estudio.

de la Universidad Nacional Autónoma de México.

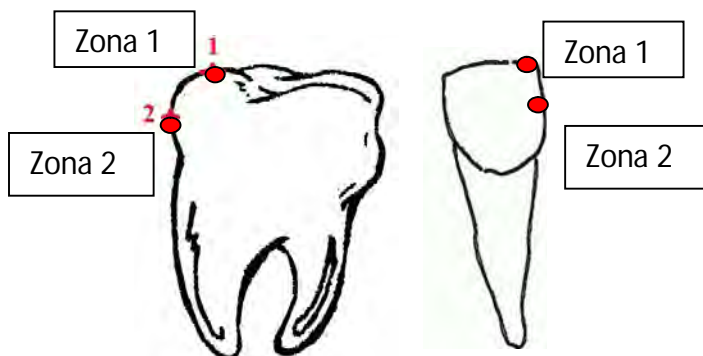
El análisis de espectroscopía RAMAN fueron tomados con un equipo Thermo Scientific modelo DXR RAMAN Microscope. Se utilizó un láser de 532- 633 nm con potencia de 10 mW y con iluminación de luz blanca/ fluorescencia ambas corregidas. [Fig. 7]

## 10.5 PROCEDIMIENTO.

De una muestra de 80 órganos dentales se seleccionaron 4, procedentes del estado de Durango, México, cada uno con diferentes grados de Fluorosis Dental, a) Diente anterior con Fluorosis Dental grado 1, b) Diente anterior con Fluorosis Dental grado 2, c) Molar con Fluorosis Dental grado 3 y d) Molar con Fluorosis Dental grado 4, del cual se tiene registrado los niveles más altos de Fluorosis Dental con prevalencia de severa casi en su totalidad, cada uno presenta un grado de Fluorosis Dental según el índice de Dean.

Las muestras fueron analizadas en el departamento de Física de la de la Universidad Nacional Autónoma de México en donde se posicionan dentro del equipo del espectrómetro Thermo Scientific modelo DXR RAMAN Microscope. Se utilizó un láser de 532- 633 nm con potencia de 10 mW y con iluminación de luz blanca/fluorescencia corregida.

En cada diente se seleccionaron dos áreas a estudiar, zona 1 localizada en zona oclusal y zona 2 ubicada en la parte de tercio medio del molar. [Fig. 8]. Las áreas elegidas se seleccionaron de acuerdo al nivel de fluorescencia que reflejaban al momento de incidir la luz en el espectrómetro RAMAN.



**Figura 8.** Modelos de los dientes utilizados que muestran las zonas en donde se incidió el láser para el análisis en las pruebas RAMAN.



Por medio del microscopio se selecciona la zona en el que incidirá el rayo láser. Seleccionada la zona se hace incidir el rayo láser a una longitud de onda de 633 nm, con una potencia de 10 mW en un intervalo de tiempo de 20 a 40 segundos. El efecto RAMAN, que se produce al incidir el láser en la zona de interés nos arrojará los resultados por medio de un espectro que describe las bandas encontradas y que es captado por el aparato. El procedimiento se repitió con cada diente y zona elegida dando como resultado 8 espectros cada uno con su imagen de la zona en donde se incidió el rayo láser.

## **11.RESULTADOS**

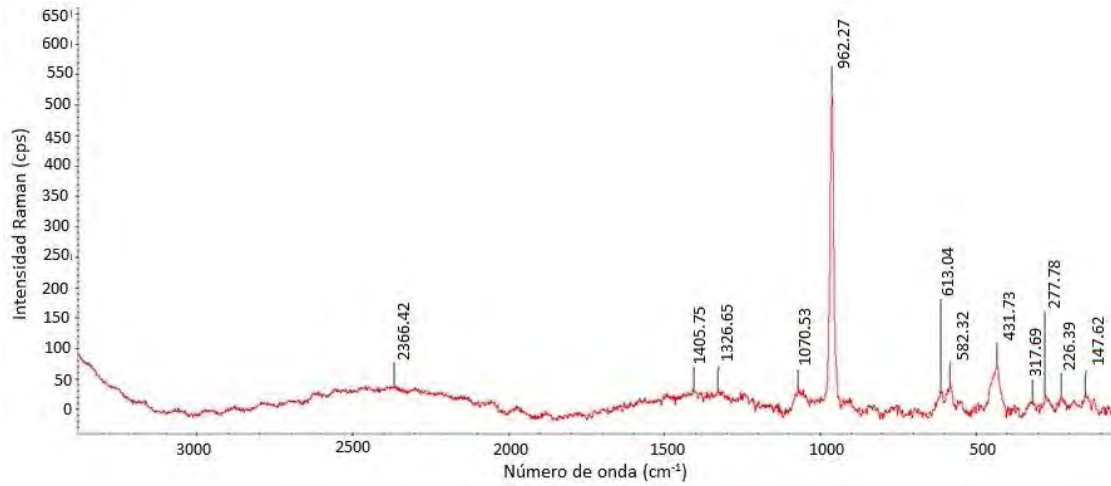
Los resultados presentados a continuación constan de: **1)** la imagen del diente en el cual se realizó el estudio; **2)** 2 espectros RAMAN obtenidos de cada diente, (espectro de zona 1 y espectro de zona 2); **3)** imagen del microscopio de fluorescencia corregida en donde se incide el láser para obtener el espectro y **4)** tabla de grupos funcionales con sus respectivas frecuencias obtenidas por el espectrómetro.

### 11.1 IMAGEN: Diente anterior con Fluorosis Dental grado 1



1) En la imagen 11.1: se observa un diente anterior con Fluorosis Dental sano a muy leve. Las diferencias de la fluorosis de un diente sano comparado con un diente con fluorosis dental muy leve son casi nulas, por ello en este estudio se decidió contemplar un solo diente para estos dos grados. Las características observadas en la figura corresponden a los criterios de un diente sano, la superficie del esmalte es suave y brillante, de color blanco-cremoso pálido.

## 11.1.2 ESPECTRO 1: Diente anterior con Fluorosis Dental grado 1 zona 1



2) Espectro RAMAN de diente anterior con grado de fluorosis dental sano - muy leve de fluorosis en zona 1.

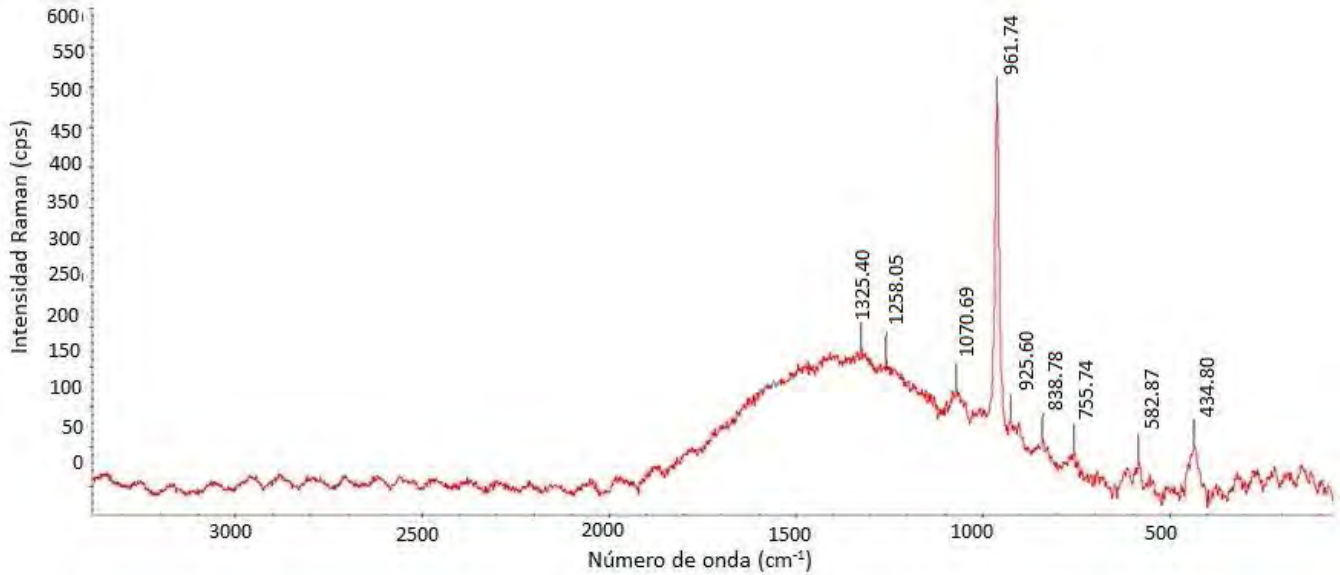


3) Sección donde se realizó el estudio RAMAN en el Diente anterior con grado de fluorosis dental sano - muy leve en zona 1.

4) Tabla 3. Frecuencias de bandas RAMAN obtenidos por el espectrofotómetro.

Elemento	Rango [ $\text{cm}^{-1}$ ]
$\text{PO}_4^{3-}$	960-1033
$\text{PO}_4^{3-}$	860-1070
Amida I	1630- 1700
Amida II	1520-1620
Amida III	1230-1300
$\text{CH}_2$ wag	1453
Prolina	850
$\text{CaHPO}_4$	200-1800

### 11.1.3 ESPECTRO 2: Diente anterior con Fluorosis Dental grado 1 zona 2



2) Espectro RAMAN del diente anterior con grado de fluorosis dental sano - muy leve zona 2.

4) Tabla 3. Frecuencias de bandas RAMAN



3) Sección donde se realizó el estudio RAMAN en diente anterior con grado sano- muy leve de fluorosis en zona 2.

Elemento	Rango [cm <sup>-1</sup> ]
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	960-1033
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	860-1070
Amida I	1630- 1700
Amida II	1520-1620
Amida III	1230-1300
CH <sub>2</sub> wag	1453
Prolina	850
CaHPO <sub>4</sub>	200-1800

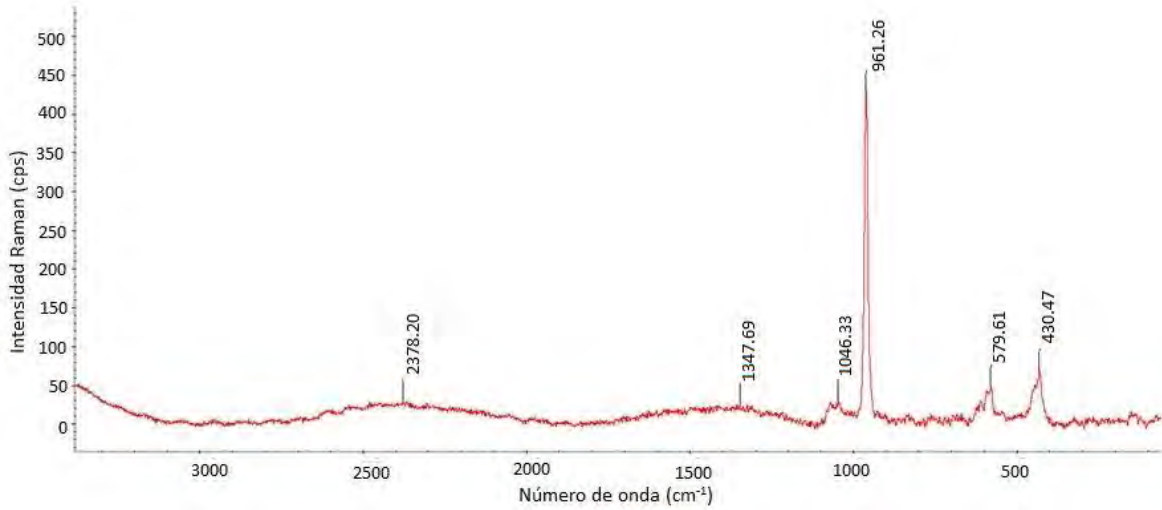
## 11.2 IMAGEN: Diente anterior con Fluorosis Dental grado 2



- 1) En la imagen 11.2 se observa la apariencia del esmalte fluorótico muestra clínicamente un incremento en las líneas de la periquimata que se observan como bandas blancas siguiendo las líneas incrementales de crecimiento, aparecen cúspides color blanco, negro opaco y nubosidades blanquizas que carecen de bordes bien definidos en relación con el esmalte no afectado. Histológicamente, ésta fase se presenta una capa superficial de esmalte hipomineralizado y una capa superficial que está mejor mineralizada. A través de la microscopía electrónica se observa una estructura de cristales del esmalte dental normal pero se presentan poros que son el resultado de espacios entre los prismas de esmalte La opacidad blanca del esmalte es mayor que la correspondiente a la muy ligera, pero abarca menos del 50% de la

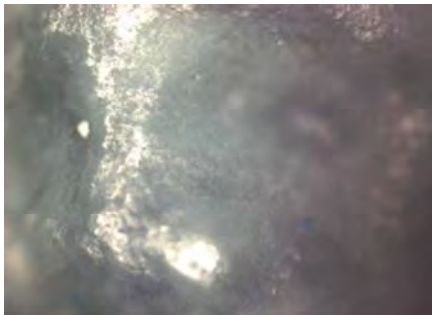
superficie dental labial.

### 11.2.1 ESPECTRO 3: Diente Anterior con Fluorosis Dental grado 2 zona 1



2) Espectro RAMAN de diente anterior con fase dos de fluorosis en zona 1.

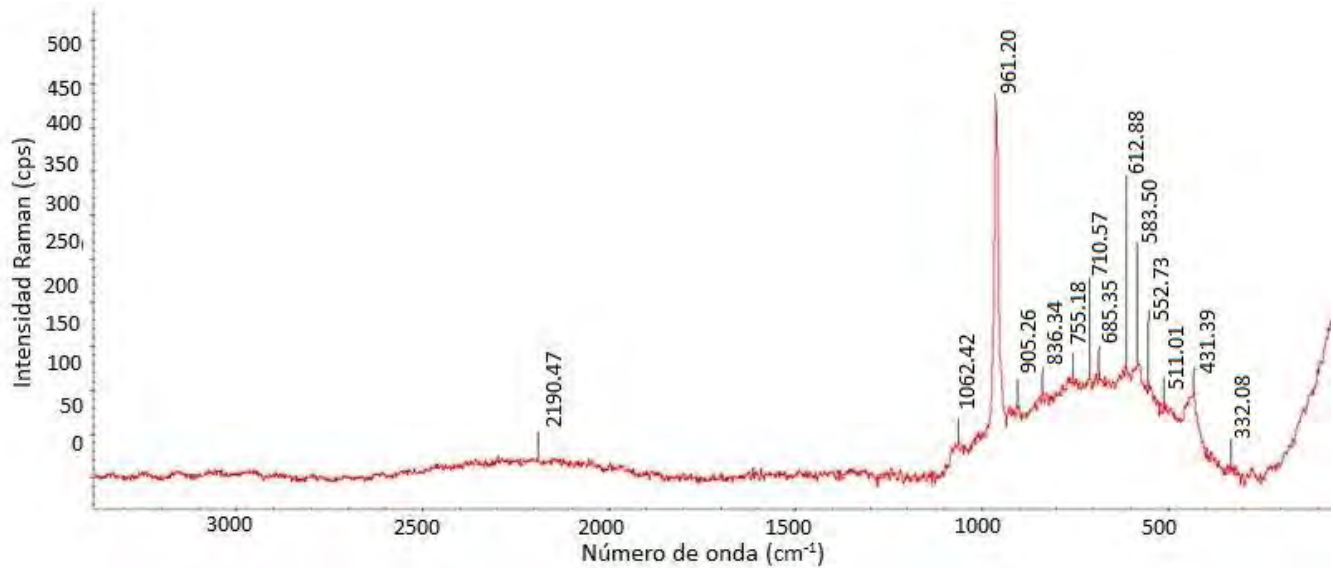
4) Tabla3. Frecuencias de bandas RAMAN



Elemento	Rango [cm <sup>-1</sup> ]
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	960-1033
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	860-1070
Amida I	1630- 1700
Amida II	1520-1620
Amida III	1230-1300
CH <sub>2</sub> wag	1453
Prolina	850
CaHPO <sub>4</sub>	200-1800

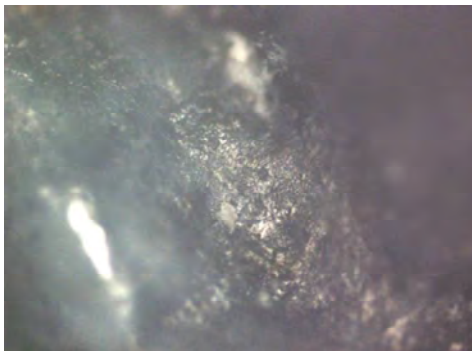
3) Sección donde se realizó el estudio RAMAN en diente anterior con fase dos de fluorosis en zona 1.

## 11.2.2 ESPECTRO 4: Molar con Fluorosis Dental grado 2 zona 2



2) Espectro RAMAN de molar con fase dos de fluorosis en zona 2.

4) Tabla 3. Frecuencias de bandas RAMAN



Elemento	Rango [ $\text{cm}^{-1}$ ]
$\text{PO}_4^{3-}$	960-1033
$\text{PO}_4^{3-}$	860-1070
Amida I	1630- 1700
Amida II	1520-1620
Amida III	1230-1300
$\text{CH}_2$ wag	1453
Prolina	850
$\text{CaHPO}_4$	200-1800

3) Sección donde se realizó el estudio RAMAN en el molar con fase dos de Fluorosis en zona 2.

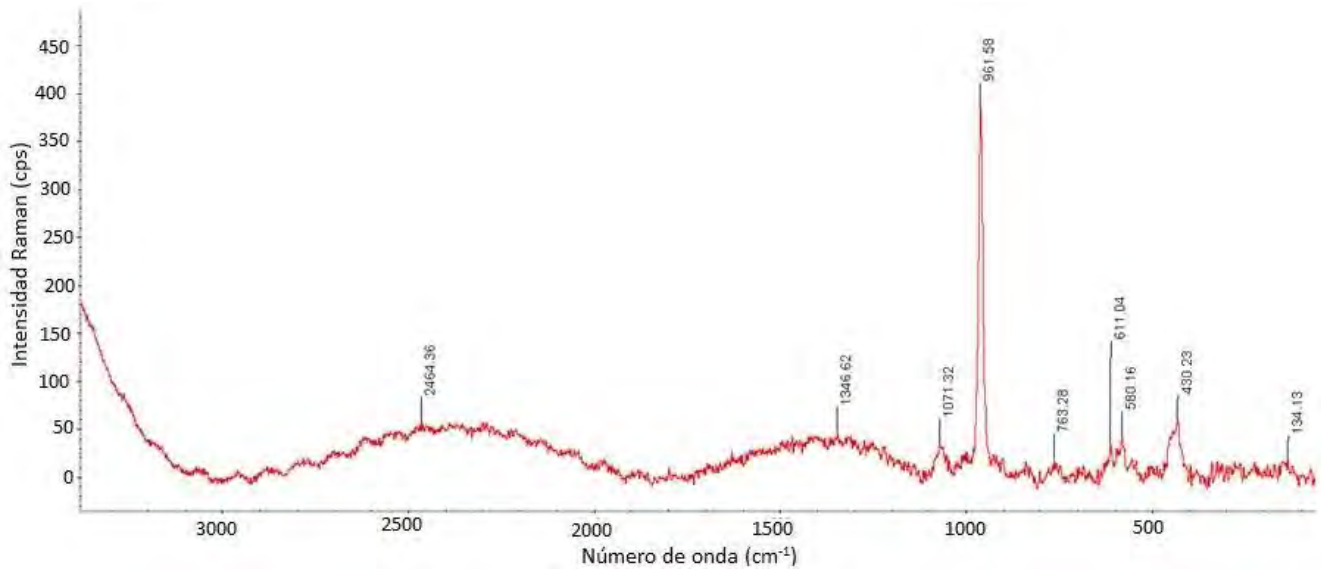
### 11.3 IMAGEN: Molar con Fluorosis Dental grado 3



1) En la imagen 11.3 se observa que al incrementarse la gravedad de la fluorosis el esmalte subsuperficial en su totalidad se muestra poroso. Después de la erupción del diente, las áreas porosas pueden pigmentarse en tonos amarillos o marrones.

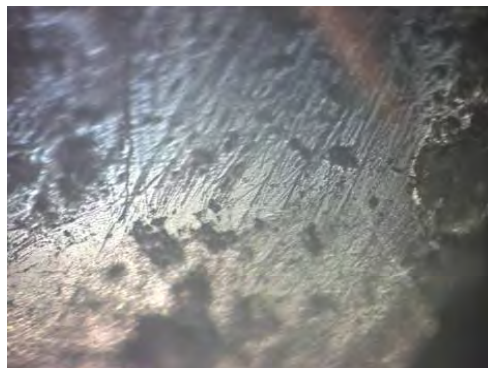


### 11.3.1 ESPECTRO 5: Molar con fluorosis Dental grado 3 zona 1



2) Espectro RAMAN de molar con fase tres de fluorosis en zona 1.

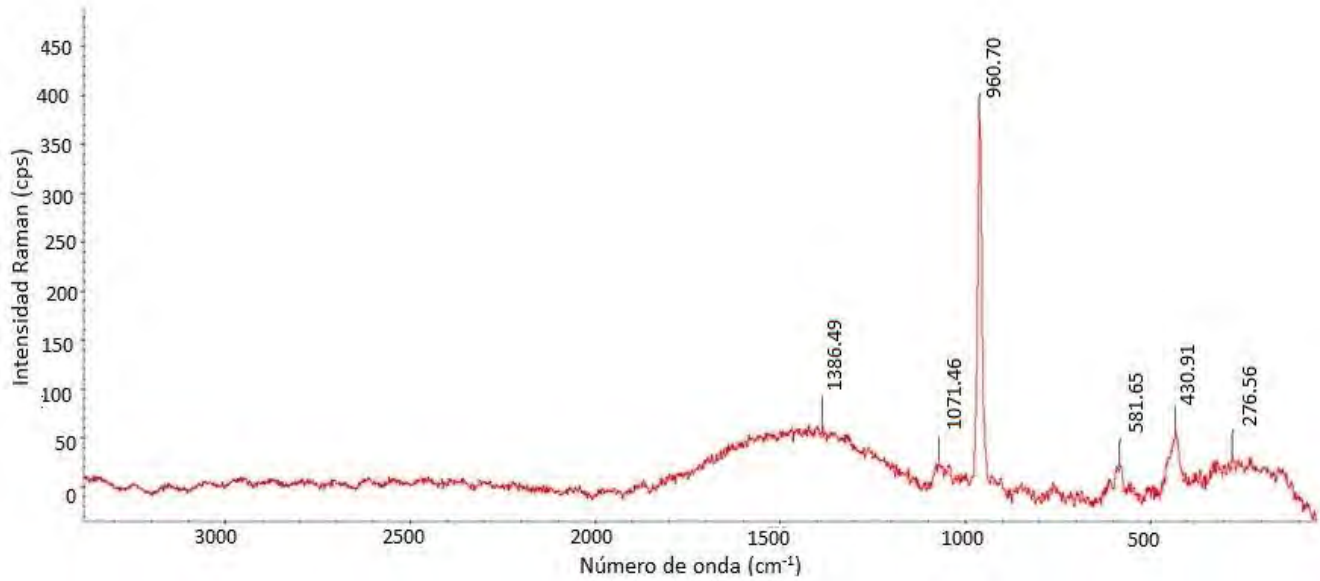
4) Tabla 3. Frecuencias de bandas RAMAN



3) Sección donde se realizó el estudio RAMAN en el molar con fase tres de Fluorosis en zona 2.

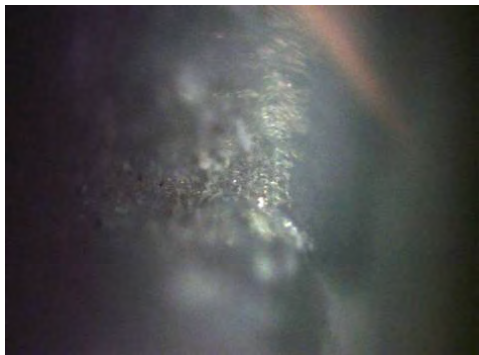
Elemento	Rango [ $\text{cm}^{-1}$ ]
$\text{PO}_4^{3-}$	960-1033
$\text{PO}_4^{3-}$	860-1070
Amida I	1630- 1700
Amida II	1520-1620
Amida III	1230-1300
$\text{CH}_2$ wag	1453
Prolina	850
$\text{CaHPO}_4$	200-1800

### 11.3.2 ESPECTRO 6: Molar con Fluorosis Dental grado 3 zona 2



2) Espectro RAMAN de molar con fase tres de fluorosis Dental en zona 1.

4) Tabla 3 Frecuencias de bandas RAMAN



3) Sección donde se realizó el estudio RAMAN en el molar con fase tres de fluorosis en zona 2.

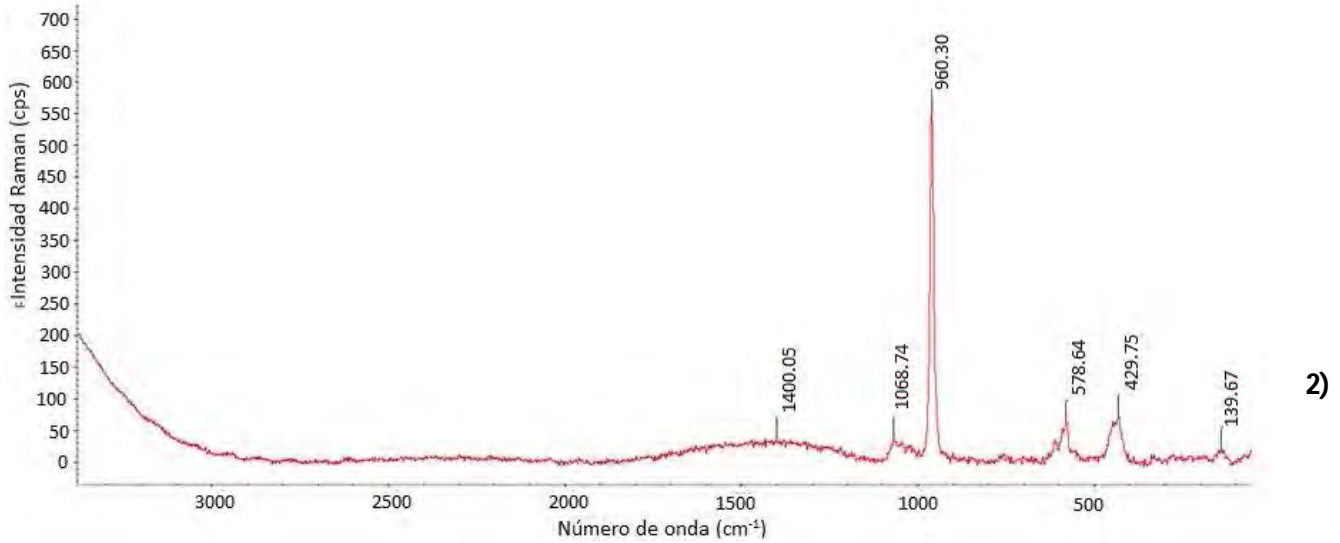
Elemento	Rango [cm <sup>-1</sup> ]
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	960-1033
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	860-1070
Amida I	1630- 1700
Amida II	1520-1620
Amida III	1230-1300
CH <sub>2</sub> wag	1453
Prolina	850
CaHPO <sub>4</sub>	200-1800

#### 11.4 IMAGEN: Molar con Fluorosis Dental grado 4



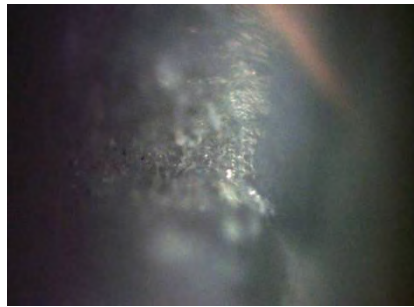
1) En la imagen 11.4 se observa el molar en la etapa más severa de Fluorosis Dental se produce la fractura mecánica de partes del diente, produciendo cambios importantes en la apariencia de los órganos dentarios y en la susceptibilidad de la caries dental.

### 11.4.2 ESPECTRO 7: Molar con Fluorosis Dental grado 4 zona 1



Espectro RAMAN de molar con fase cuatro de Fluorosis Dental en zona 1.

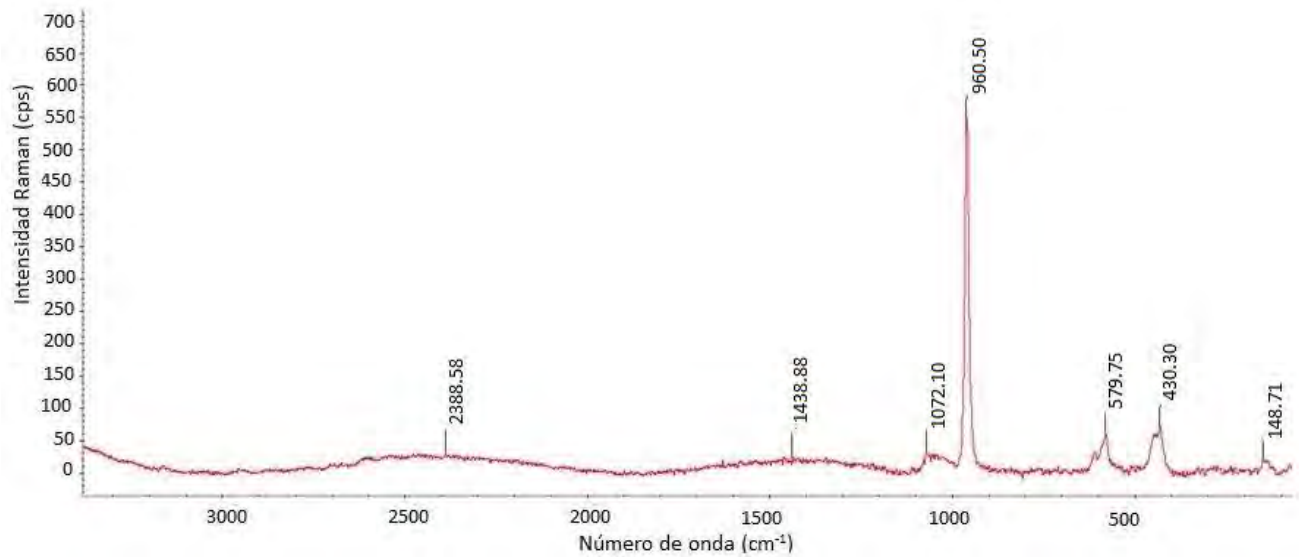
#### 4) Tabla 3. Frecuencias de bandas RAMAN



3) Sección donde se realizó el estudio RAMAN en el molar con fase cuatro de Fluorosis en zona 1.

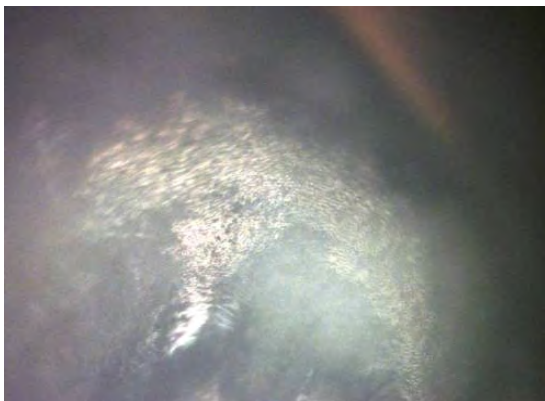
Elemento	Rango [cm <sup>-1</sup> ]
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	960-1033
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	860-1070
Amida I	1630- 1700
Amida II	1520-1620
Amida III	1230-1300
CH <sub>2</sub> wag	1453
Prolina	850
CaHPO <sub>4</sub>	200-1800

## 7.4.2 ESPECTRO 8: Molar con Fluorosis Dental grado 4 zona 2



**B)** Espectro RAMAN de molar con fase cuatro de fluorosis dental en zona 2.

**D)** Tabla 3. Frecuencias de bandas RAMAN



**C)** Sección donde se realizó el estudio RAMAN en el molar con fase cuatro de fluorosis en zona 2.

Elemento	Rango [ $\text{cm}^{-1}$ ]
$\text{PO}_4^{3-}$	960-1033
$\text{PO}_4^{3-}$	860-1070
Amida I	1630- 1700
Amida II	1520-1620
Amida III	1230-1300
$\text{CH}_2$ wag	1453
Prolina	850
$\text{CaHPO}_4$	200-1800

## TABLA DE FRECUENCIA DE BANDAS.

	DIENTE ANTERIOR 1 $cm^{-1}$		DIENTE ANTERIOR 2 $cm^{-1}$		MOLAR 3 $cm^{-1}$		MOLAR 4 $cm^{-1}$	
	ZONA I	ZONA II	ZONA I	ZONA II	ZONA I	ZONA II	ZONA I	ZONA II
	—						+	
DENTINA	AMIDA I	2366.42		2378.20		2464.36		2388.58
				2190.47				
	AMIDA II	1405.75						
	AMIDAIII	1326.65	1325.40	1347.69		1346.62	1386.49	1400.05
			1258.05					
	+						—	
	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	1070.53	1070.69	104.33	1062.42	1071.32	1071.46	1068.74
	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	962.27	961.74	961.26	961.20	961.58	960.70	960.30
				905.26				
	PROLINA.		838.78		836.34			
			755.74		755.18	763.28gyl		
				710.57				
				685.35				
		613.4		612.88	611.04			
		582.32	582.87	579.61	583.50	580.16	581.65	578.64
				552.73				
				511.01				
	<b>CaF<sub>2</sub></b>	431.73	434.80	430.47	431.39	430.23	430.91	429.75
		371.69		332.08				
	<b>CO<sub>3</sub><sup>2-</sup></b>	277.78				276.56		
		147.62					139.67	

**Tabla 4:** Frecuencias obtenidas por cada banda de energía de cada diente y zona, acomodadas por orden de menor intensidad a mayor intensidad, y clasificándolas en dos grupos correspondientes a matriz orgánica o matriz iónica analizadas por espectroscopía RAMAN

La información que se proporciona en los espectros representan la intensidad de la señal de acuerdo con la frecuencia, las cifras resultantes fueron analizadas matemáticamente junto con el análisis comparativo. Para poder realizar el análisis se desarrolló una tabla que nos permite analizar detenidamente lo que ocurre con los resultados. Como primer paso para su realización, se colocó cada frecuencia de intensidad de cada zona y diente que se presentan en los espectros anteriores, en segundo lugar, se clasifican en la parte inferior las bandas con menor frecuencia y aumentan la intensidad con forme se colocan las bandas en la parte superior de la tabla, en tercer lugar se identifican las bandas a las que pertenecen cada elemento comparando la frecuencia con la tabla .., de ahí sacamos los grupos fosfato, prolina, amidas etc., que fueron identificadas a base de la tabla 4 por último separamos dos grupos, las bandas que referían valores de  $139.62. \text{ cm}^{-1}$  a  $1070 \text{ cm}^{-1}$ , y el segundo grupo con bandas de  $1326.65 \text{ cm}^{-1}$  a  $2388.58 \text{ cm}^{-1}$ .

Acomodando el registro numérico de cada banda obtenida por cada severidad de la pieza dental y zona estudiada en una tabla, podemos observar el cambio molecular que se da principalmente en dos grupos, los propios minerales del esmalte como son fosfatos, apatita, con el otro grupo de representa bandas correspondientes a las amidas.

Los elementos que se mostraron en todos los espectros fueron dados principalmente por los grupos funcionales de  $\text{PO}_4$ , con una frecuencia de (  $960\text{-}1033$  y  $860\text{-}1070 \text{ cm}^{-1}$ ), Prolina con frecuencia ( $850 \text{ cm}^{-1}$ ) Amida I ( $1630 - 1700 \text{ cm}^{-1}$ ), Amida II ( $1520\text{-}1620 \text{ cm}^{-1}$ ), Amida III ( $1230\text{-}1300 \text{ cm}^{-1}$ ) y  $\text{CH}_2$  wag, ( $1453 \text{ cm}^{-1}$ ) cada una con diferente intensidad dependiendo del grado de Fluorosis presentada en cada diente.

		Diente 1		Diente 2		Diente 3		Diente 4	
		ZONA 1	ZONA 2	ZONA 1	ZONA 2	ZONA 1	ZONA 2	ZONA 1	ZONA 2
AMIDAS IONES MINERALES		3	2	2	1	2	1	1	2
TOTAL DE BANDAS POR CADA ZONA		8	6	4	13	6	5	5	4
		11	8	6	14	8	6	6	6

**Tabla 5.** Contabilización el número de bandas leídas por cada diente y grupo de todas las bandas que obtuvieron en los espectros, por cada diente y zona.

En la tabla 5 Se observa la cantidad de bandas obtenidas por cada zona y diente experimentado por espectroscopia RAMAN. De donde zona 1 del diente con Fluorosis Dental de normal a leve presenta mayor cantidad de elementos (11) comparado con zona 2 que presenta 6. Las tres amidas, I, II Y III juntas aparecen en la zona 1.

El diente con Fluorosis grado leve zona 2, fue el que presenta mayor número de bandas leídas con un total de 14.

En el molar 4 con grado de Fluorosis severo, muestra el número de bandas propias de la hidroxiapatita, que son iguales en zona 1 que en zona 2 con 6 bandas cada una.

Las zonas donde se leyeron más bandas en total de los 4 dientes fueron la zonas 1. Lo que explica que en las partes del diente más expuestas al medio bucal presentaran mayor mineralización.



ELEMENTO	RANGO DE CAMBIO DE FRECUENCIA $cm^{-1}$	DIFERENCIA DE RANGO DE INTENSIDAD.
$PO_4^{3-}$	1070.53 ± 1072.10	- 1.57 $cm^{-1}$
$PO_4^{3-}$	962.27 ± 960.50	- 1.77 $cm^{-1}$ .
PROLINA	838.78 ± 836.34	- 2.44 $cm^{-1}$
AMIDA I	2366.42 ± 2388.58	+ 22.16 $cm^{-1}$ .
AMIDA III	1326.65 ± 1438.88	+ 112.23 $cm^{-1}$ .

**Tabla 6.** Comparación de los elementos que aparecen en todas las zonas de los 4 dientes, entre la primera frecuencia dada en el diente con severidad nula a muy leve y con la frecuencia del diente con grado severo de fluorosis dental,

En la tabla 6 observamos los elementos que se presentaron en todas las zonas de los 4 dientes analizados. La primera banda obtenida del diente 1 en zona 1 y la última banda obtenida del diente cuatro zona 2, que muestra su rango de diferencia entre Fluorosis dental muy leve a Fluorosis Dental severa. En el elemento de  $PO_4^{3-}$  comparamos la banda inicial de 1070.53  $cm^{-1}$  con la final de 1072.10  $cm^{-1}$ , la intensidad de éste elemento disminuyó **1.57  $cm^{-1}$**

La banda de éste mismo elemento pero en diferente banda ( $PO_4^{3-}$ ) mostro una intensidad inicial de 962.27  $cm^{-1}$  la cual bajó a 960.50  $cm^{-1}$  teniendo una baja de intensidad de **1.77  $cm^{-1}$** .

La **Prolina** que aunque solo se muestra en dos bandas en zona 2 de los dientes uno y dos alcanzamos a notar una discrepancia mostrando 838.78  $cm^{-1}$  en el diente 1 zona 2 con 836.34  $cm^{-1}$  con diferencia de **2.44  $cm^{-1}$**  de intensidad en la que muestra una disminución.

Las Amidas presentaron un comportamiento diferente, la **Amida I** presentó una frecuencia inicial en la zona 1 del diente 1 de 2366.42  $cm^{-1}$  con respecto a la última banda de fluorosis severa de 2388.58  $cm^{-1}$ , en la que se muestra un aumento de la frecuencia de **22.16  $cm^{-1}$** .

En la banda de **Amida III** se inicia con una frecuencia en la zona 1 de Fluorosis muy leve 1326.65  $cm^{-1}$  comparada con la frecuencia final del diente que presenta Fluorosis Severa con frecuencia de 1438.88, que realizando la diferencia muestra un discrepancia de aumento de **112.23  $cm^{-1}$**

## 12.DISCUSIÓN

La Fluorosis Dental es una condición del desarrollo del esmalte causado por una exposición a niveles excesivos de concentraciones de flúor durante el periodo de maduración del esmalte que lo conduce a tener un menor contenido mineral (hipomineralización). El esmalte experimenta cambios en la estructura superficial que lo lleva a padecer susceptibilidad mecánica (fracturas) y acumulación de bacterias, estos dos factores tienen como consecuencia pérdida de mineral en el esmalte dental. <sup>50,51</sup>

Los usos de la espectroscopía RAMAN en el área odontológica son muy vastos, se encuentran análisis de los tejidos de soporte del diente, caries dental y periodontitis. <sup>52,53</sup>

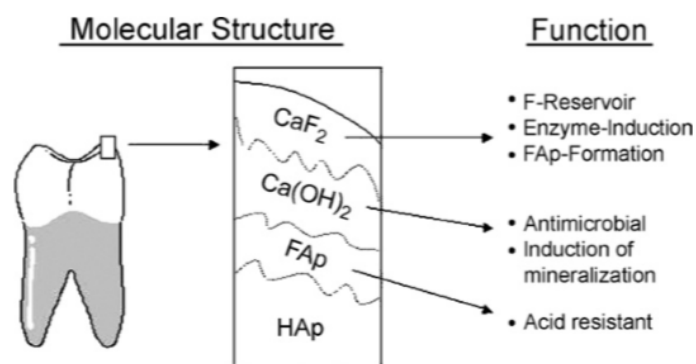
Se pueden identificar desórdenes en esmalte y dentina como amelogénesis imperfecta, o dentinogénesis imperfecta. <sup>54,55</sup>

Se tienen estudios del uso de espectroscopía RAMAN para el diagnóstico de caries dental, utilizando la intensidad de mineralización de los elementos propios de la hidroxiapatita y dentina, que ayudaran a identificar el grado de mineralización, concentración iónica de esmalte y concentración orgánica de la dentina. <sup>56,57,58</sup>

Identificación de la flora bacteriana como *Streptococos mutans*, Lactobacilos y Fusobacterias, así como la medición cuantitativa de las fracciones de concentración bacteriana en un porcentaje bajo o alto de especímenes microbianos para proponer un plan de tratamiento de acuerdo al nivel de infección. <sup>59,60</sup>

Identificación de compuestos químicos, especialmente el grupo funcional de los compuestos orgánicos, para encontrar y sustituir nuevos materiales dentales que ayuden a prolongar la permanencia en boca, con una mayor aceptación bucal. <sup>61,62</sup>

En la tabla 4 se puede observar 8 bandas que aparecen sin ninguna pertenencia a algún grupo funcional, que van desde  $139.67\text{ cm}^{-1}$  a  $430.30\text{ cm}^{-1}$ , sin embargo de acuerdo a los estudios realizados por H. Tsuda<sup>61</sup> se cree pertenecen al grupo funcional  $\text{CaF}_2$ , éste compuesto presenta en estudios Raman una intensidad de banda de  $322\text{ cm}^{-1}$  ANEXO 7. La técnica Raman puede detectar directamente el  $\text{CaF}_2$ , su



**Fig. 9:** tres modelos de capas estructurales de la fluoruración del esmalte en relación con los mecanismos de caries.

intensidad es muy débil por lo que solo se alcanza a observar en algunas muestras, apesar de su sensibilidad, más bien pobre detección de 3 % o inferior a esto<sup>63</sup>. El  $\text{CaF}_2$  de acuerdo a Hans U.V Gerth<sup>64</sup>, se localiza en la superficie del diente con una función específica, inhibir el crecimiento bacteriano bloqueando las enzimas enolasa y ATPasa<sup>65,66</sup> se acumula en la superficie del esmalte y es depositado después de la fluoruración tópica.<sup>67,68</sup> Hay fuertes bandas en apatita carbonatada  $\text{CO}_3^{2-}$  con frecuencia de  $(240 - 300\text{ cm}^{-1})$  cerca de la banda de la  $\text{CaF}_2$  y de hecho las muestras de esmalte a veces tienen un pico ancho. El  $\text{CO}_3^{2-}$  puede significar interferencia con  $\text{CaF}_2$  el estudio fue realizado in situ, por lo que los niveles de  $\text{CO}_3^{2-}$  y  $\text{CaF}_2$  disminuirán al no estar el esmalte en su medio bucal, por lo que no les es permitido leerse con claridad en el estudio RAMAN, [Fig . 9] En éstas dos bandas se observa un comportamiento lineal, igual que al de la banda de  $(\text{PO}_4^{3-})$  lo que nos hace observar su decremento conforme aumenta la severidad de Fluorosis Dental.

En comparación con el estudio de González- Solis<sup>69</sup>, y el estudio de Zavala- Alonso que tienen como fin el estudio de RAMAN en dientes con FD, no se muestran tres bandas que en el presente estudio se han reportado, que son pertenecientes a las Amidas. Amida I ( $1630 - 1700\text{ cm}^{-1}$ ), Amida II ( $1520-1620\text{ cm}^{-1}$ ) y Amida III ( $1230-1300\text{ cm}^{-1}$ ). Su comportamiento también es lineal solo que al contrario de grupos iónicos experimentaron un incremento en cuanto la severidad de FD aumenta. Pudimos comparar éstas bandas con el estudio de Tramini,<sup>70</sup> el cual consiste en espectroscopia ER de dentina, explica que

las amidas pertenecen a enlaces peptídicos, propios de la colágena tipo I, 90 % de la fracción de estructura de la dentina<sup>71</sup>. La banda amida I es representativa de la estructura secundaria de las proteínas.

Se han reportado en México dos estudios usando espectroscopía Raman enfocados en FD <sup>63,64</sup>, mientras que en Europa se cuentan con estudios enfatizados en usar ER para uso de diagnóstico de caries dental<sup>73, 74, 75</sup>, lo que pone en controversia los resultados que se obtienen con Raman, se tiene que fluorosis dental es una condición dada por un medio bucal, determinado, y caries dental representa la pérdida del mineral por condiciones bacteriológicas, sin embargo el resultado de ambos procesos será la desmineralización. Éste proceso es lo que capta la Epectroscopía RAMAN, el grado de mineralización en el esmalte, no las condiciones por la cual se produjo, sin embargo podemos identificar bandas que aparecen cuando se analiza Fluorosis dental que son bandas dadas por elementos iónicos, y bandas características en los estudios cuando se analiza el proceso de caries dental, que son las bandas de amidas. Es importante el análisis en conjunto de estas bandas para poder llegar a conclusiones generales.

### 13.CONCLUSION

La espectroscopia RAMAN permitió el análisis y la comparación a nivel de composición molecular de dientes con diferentes grados de fluorosis.

De los datos obtenidos de las bandas energéticas como resultado del RAMAN se lograron apreciar 2 grupos diferentes los cuales se ven afectados por la fluorosis.

El primer grupo corresponde a los iones minerales propios del esmalte dental (Hidroxiapatita  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH}_2)$ ), como los son  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{CaHPO}_4$  y  $\text{CaF}_2$ . Estos iones disminuyen conforme aumenta la severidad de Fluorosis dental lo cual permite proponer al RAMAN como una técnica de análisis .

El segundo grupo pertenece a las amidas I, II, III, correspondientes a la matriz orgánica de la dentina. Por medio de RAMAN se visualizó que el comportamiento de la intensidad de las amidas sufre un proceso contrario con respecto a la parte inorgánica, aumentan su intensidad asociada a la severidad de la Fluorosis dental.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ortíz- Burgos (1996). Fluorosis dental de la Población escolar de Salamanca Guanajuato. Rev ADM. 53(6): 289 – 294.
2. Antoinette Harding M. (2103). Water fluoridation and oral Health. Acta Medica Académica. 42 (2): 1311-139.
3. Soto- Rojas. (2004). A review on the prevalence of dental fluorosis in México. Rev Panam. Salud Pública. 15 (1):9 – 18.
4. Molina – Frechero.(2007). Incremento de la prevalencia y severidad de Fluorosis Dental en escolares de la Delegación Xochimilco en México, D.F. Rev Acta Pediátrica de México. 28 (4): 149 – 153.
5. Irigoyen- Camacho (2006). Prevalencia Fluorosis dental en escolares de una zona con baja concentración de flúor en agua, en la Delegación Tláhuac, D.F. Rev Ciencias Clínicas. 7 (1): 5-11.
6. Irigoyen – Camacho. (2006). Prevalencia de Fluorosis dental en escolares de una zona con baja concentración de flúor en agua, en la Delegación Tláhuac, D.F. Rev Ciencias Clínicas. 7 (1): 5 – 11.
7. Fejerkov O. (1990). The nature and mechanism of dental fluorosis in man. J Dent Res. (69): 692 - 700.
8. Franco AM. (1996) Fluorosis y Caries Dental en Escolares de 7 a 16 años. Encuentro Nacional y I Latinoamericano de Investigación Colombiano.
9. Galicia Chacón. (2009).Prevalencia de fluorosis dental y consumo de fluoruros ocultos en escolares del municipio de Nezahualcóyotl. Gac Med Méx. 145 (4): 263
10. Public Healt. (1991). REVIEW OF FLURIDE, BENEFITS AND RISK 1991.
11. A.G Sharpe.( 1993). QUÍMICA ORGÁNICA. Ed. Reverte. España.
12. Seyhan Ege. (2000). QUÍMICA ORGÁNICA ESTRUCTURA Y REACTIVIDAD.ED. Reverte. 2000
13. Alvarado Vazquez. (2002). Fluorides and dental fluorosis in students from Tula de Allende Hidalgo, México. 2 (3): 24-31.
14. Peckham Stephen. (2014). Water Fluoridation: A critical Review of the Physiological Effects of Ingested Fluoride as a Public Heath Intervention. The Scientific Word Journal.

15. Beltran- Valladores P. (2005). Prevalencia de fluorosis dental y fuentes adicionales de exposición a fluorosis dental y fuentes adicionales de exposición a fluoruro como factores de riesgo a fluorosis dental en escolares de Campeche México. *RIC57* (4): 532-539.
16. Rosin-Gared K. (2013). The cariostatic mechanism of fluoride. *Acta Médica Académica*. 42(2):179-188.
17. Taranowski Catherine. (2004). Earliest Mineral and Matrix Changes in Force Induced Musculoskeletal Disease as Revealed by Raman Microspectroscopic Imaging. *J Bone Mine Res* 19:64-71.
18. Thylstrup Fejersov O. (1978). Clinical appearance and Surface distribution of dental fluorosis in permanent teeth in relation to histological change. *Community Dent Oral Epidemiol*. 6: 315 – 328.
19. Aoba T. Frjerskov O. (2002). Dental Fluorosis: Chemistry and Biology. *Crit Rev Oral Bio Med*. 13 (2): 155-170.
20. Simer J.P. Fichman AG. (1995). Molecular mechanisms of dental enamel formation. *Crit Rev. Oral Biol Med*. 6 (2):84-108.
21. Collin Robinson (2014). Enamel maturation: a brief background with implications for some in enamel displasias. *Frontiers in Physiology*. 5 Article 388.
22. Koutsoukos P.G. y Nancollas G.H. (1981). The Morphology of Hydroxyapatite Crystals Grown in Aqueous Solution at 37°C, *J Crystal Growth*. 55:369-375
23. Valencia Roberto. (2013). Características estructurales de los Cristales del Esmalte Humano: mecanismos de Remineralización. *Rodyb* 2(3):1-7.
24. González M. y Feagin F. (1973). Electron microscopy of enamel surface after reactions of apatite accretion, *J. Oral Path.* 2: 142-49
25. Josephsen, K., Takano, Y., Frische, S., Praetorius, J., Nielsen, S., Aoba, T., et al. (2010). Ion transporters in secretory and cyclically modulating ameloblasts: a new hypothesis for cellular control of preeruptive enamel maturation. *Am. J. Physiol. Cell Physiol*. 229, 1299–1307. doi: 10.1152/ajpcell.00218.2010
26. Li Xiaoke. (2014). The remineralization of enamel: a review of the literature. *Journal of*

- Dentistry42 (1): 12-20.
27. Espinosa R. (2014). Efecto de los sistemas fluorados en la remineralización de las lesiones cariosas incipientes del esmalte, estudio in situ. 3 (1). 14-21.
  28. Carrillo Sánchez C. (2014). Desmineralización y remineralización. El proceso en balance y la caries dental.
  29. Mann A, Dickinson M. (2006). Nanomechanics, chemistry and structure at the enamel surface. In: Duckworth RM, editor. The teeth and their environment. Monographs in Oral Science; 19:105-31.
  30. Soto- Rojas A. (2004). A review of the prevalence of dental fluorosis in México. J Public Health. 15 (1).
  31. Castellanos JE. (2013). La remineralización del esmalte bajo el entendimiento actual de la caries dental. Univ Odontol. 32(69):49-59.
  32. Molina – Frechero. (2005). Prevalencia de fluorosis dental en escolares de una delegación política de la Ciudad de México. Rev Mexicana de Pediatría. 72 (1): 13 – 16.
  33. N Adeyemi Jolaoso I. (2014). Does fluoride in drinking water delay tooth eruption? Journal of Public Health Dentistry. 74:241- 247.
  34. Frechero Molina. (2006). Fluorosis endémica en una población asentada a la altitud de 2, 100 m. 73 (5): 220-224.
  35. Palacios -Rodríguez. (2012) Fluorosis en niños de dos escuelas primarias del municipio de Ecatepec en el estado de México. Investigación noctur 4 (1): 39 – 42.
  36. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Norma Oficial Mexicana NOM-F- 8- 1988 y de 1997- 1998. Alimentos- sal yodada y sal yodada fluorada. Especificaciones. Diario Oficial de la Federación, viernes 23 de Diciembre 1988.
  37. 2 Programa de Salud Bucal. Encuesta Nacional de Caries Dental 2001. México, Distrito Federal; Secretaria de Salud, Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de enfermedades, 2006.
  38. Secretaría de Salud. Entidades federativas donde no se debe distribuir sal yodada-fluorada. <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/m040ssa193.html>.
-



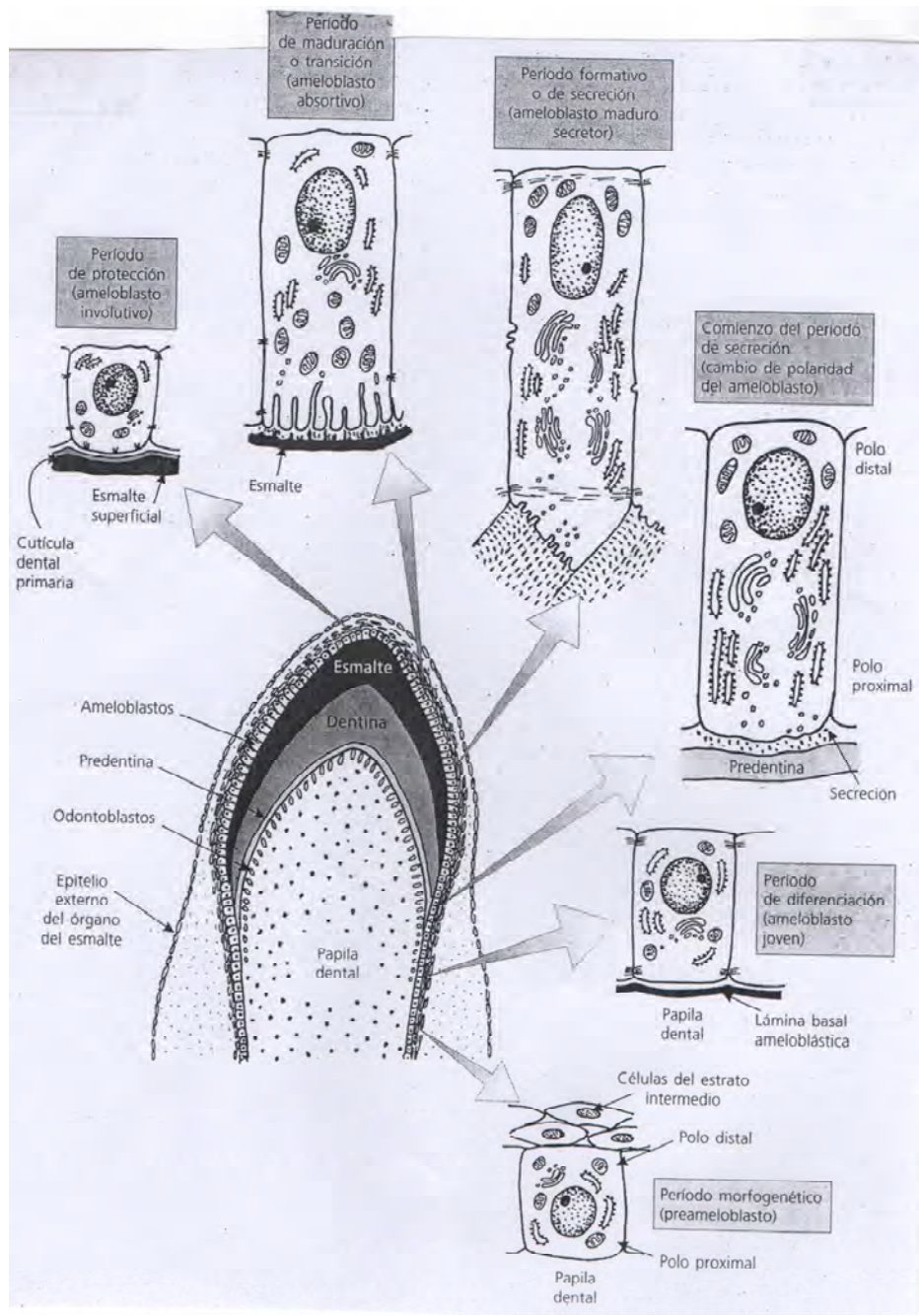
39. Secretaría de Salud. Norma oficial Mexicana NOM- 041- SSA1- 1993. Bienes y servicios, Agua purificada envasada. Especificaciones sanitarias.
40. Betaconcourt- Linares A. (2013). Prevalencia de fluorosis dental en localidades mexicanas ubicadas en 27 estados y el D.F a seis años de la publicación de la Norma Oficial Mexicana para la fluoración de la sal. *RIC*. 65 (3): 237-224.
41. Jiménez Farfan. (2001). Fluorosis dental en niños radicados en el suroeste de la Ciudad de México. *Rev Mexicana de Pediatría*. 68 (2): 52 – 55.
42. Sánchez-Castillo J, Gómez-Castellanos A. (1973). El problema de la fluorosis en México. *Rev Asoc Dent Mex*; 30(2):37–39.
43. Medina Solis. (2008). Dental fluorosis prevalence and severity Deans Index base don six teeth and on 28 teeth.
44. 10. Mandair Grujit S. (2015). Contributions of Raman espectroscopy to the understanding of bone strength. *Bone Key Reports 4 Article 620*.
45. Morris MD, Finney WF. (2004). Recent developments in Raman and infrared spectroscopy and imaging of bone tissue. *Spectroscopy*; 18:155–159.
46. Movasaghi, Z., Rehman, S., and Rehman, I.U. (2008) Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. *Appl. Spectros. Rev.*, 43: 134–179.
47. Venkatakrishna, K., Kurien, J., Pai, M.K., Valiathan, M., Nagesh Kumar, N., Murali Krishna, C., Ullas, G., and Kartha, V.B. (2001) Optical pathology of oral tissue: A Raman spectroscopy diagnostic method. *Curr. Sci.*, 80 (5): 665–669.
48. Li, X.Z., Bai, J., Lin, J., Liu, H., and Ding, J. (2001) .Serum fluorescence and Raman spectra for diagnosis of cancer. *Proc. SPIE*, 432: 124–130.
49. Krafft, C. and Sergo, V. (2006) Biomedical applications of Raman and infrared spectroscopy to diagnose tissues. *Spectroscopy*, 20: 195–218.
50. Renugopalakrishnan, V., Garduno-Juarez, R., Guerrero, J.C.H., Lavin, P.N.C., and Ilangovan, K. (1999) .An integrated, holistic experimental and theoretical approach applied to the derivation of the 3D structure of bovine amelogenin implicated in amelogenesis imperfecta, a molecular disease characterized by a single point mutation. *Rev. Soc. Quim. Mex.*, 43 (1): 24–29.

51. Alvarez JA, Rezende KM. (2009).Dental Fluorosis: exposure, prevention and management. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* (14): 103-107.
52. Alias, A., Mohd Hashim, S.R., Mihaly, J., Wajir, J., and Abdul Aziz, F. (2009) .An exploratory study of human teeth enamel by using FT-Raman spectroscopy. *Journal of Nuclear and Related Technologies*, 6 (1): 141–146.
53. Kozloff, K.M., Carden, A., Bergwitz, C., Forlino, A., Uveges, T.E., Morris, M.D., Marini, J.C., and Goldstein, S.A. (2004) Brittle IV mouse model for osteogenesis imperfecta IV demonstrates postpubertal adaptations to improve whole bone strength. *J. Bone Miner. Res.*, 19 (4): 614–622.
54. 43. Crawford, P.J.M., Aldred, M., and Bloch-Zupan, A. (2007) Amelogenesis imperfect. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 2: 17. doi:10.1186/1750-1172-2-17.
55. Mohanty, B., Dadlani, D., Mahoney, D., and Mann, A.B. (2013) Characterizing and identifying incipient carious lesions in dental enamel using micro-Raman spectroscopy. ***Caries Res.***, (47): 27–33.
56. Bulatov, V., Feller, L., Yasman, Y., and Schechter, I. (2008) Dental enamel caries (early) diagnosis and mapping by laser Raman spectral imaging. *Instrum. Sci. Technol.*, (36): 235–244.
57. Ager, J.W., Nalla, R.K., Breeden, K.L., and Ritchie, R.O. (2005) Deep-ultraviolet Raman spectroscopy study of the effect of aging on human cortical bone. *J. Biomed. Optic.*, (10): 034012.
58. Ko, A.C.T., Choo-Smith, L.P., Hewko, M., and Sowa, M.G. (2006) Ko, A.C.T., Choo-Smith, L.P., Hewko, M., and Sowa, M.G. (2006) Detection of early dental caries using polarized Raman spectroscopy. *Optic. Express*, 14 (1): 203–215. *Optic. Express*, 14 (1): 203–215.
59. Liljemark, W.F. and Bloomquist, C. (1996) Human oral microbial ecology and dental caries and periodontal diseases. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, 7 (2):180–198.
60. Berger, A.J., Zhu, Q., and Quivey, R.G. (2003) Raman spectroscopy of oral bacteria. *European Conference on Biomedical Optics*. Munich, Germany, June 22.
61. H. Tsuda, J.Arends. (1997).Raman Spectroscopy in Dental Research: a short review of recent estudies. *Adv Dent Res* 11 (4):539-547.

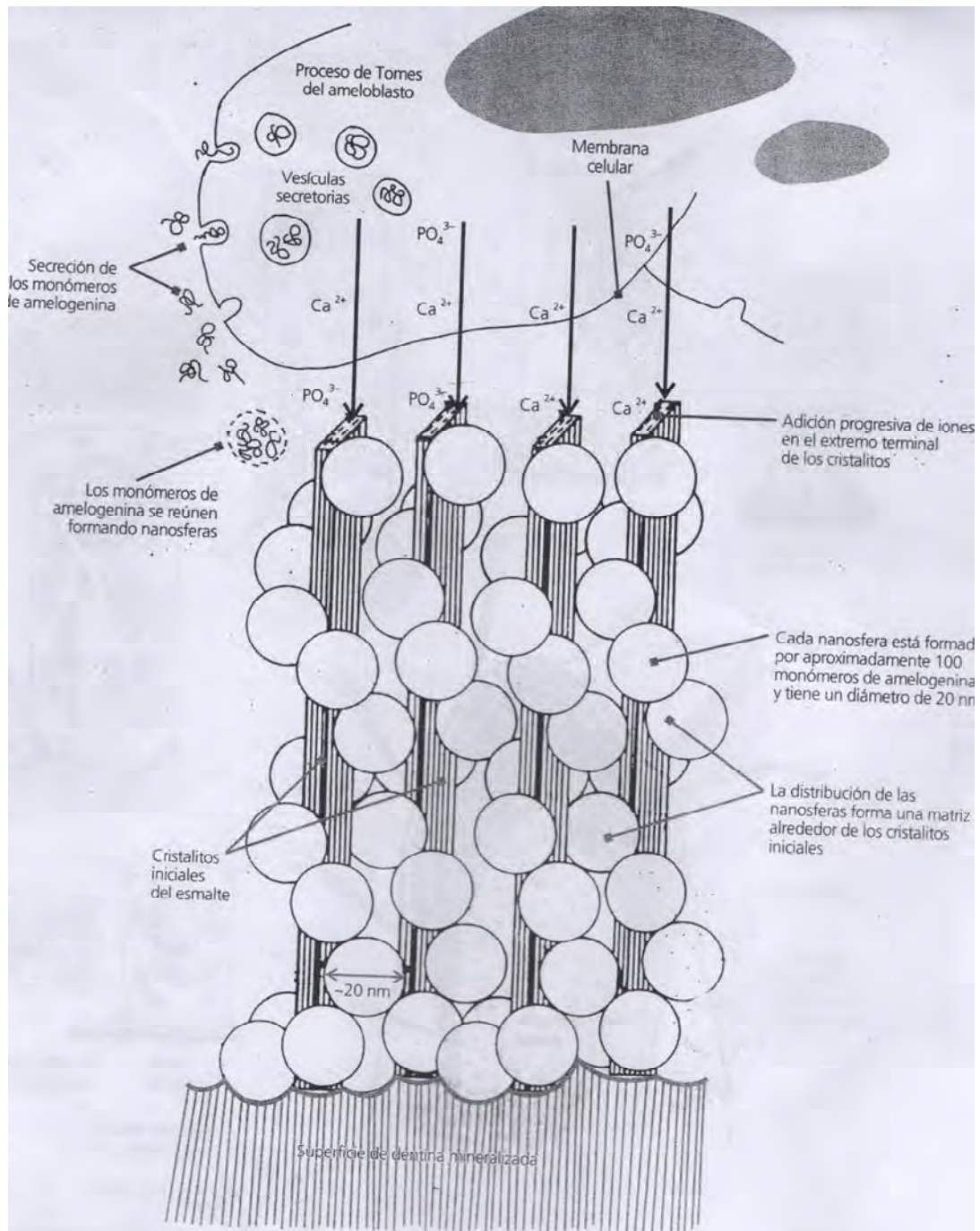
62. Seah, R.K., Garland, M., Loo, J.S., and Widjaja, E. (2009). Use of Raman microscopy and multivariate data analysis to observe the biomimetic growth of carbonated hydroxyapatite on bioactive glass. *Anal. Chem.*, 81 (4): 1442–1449.
63. Wang, Y. and Spencer, P. (2002) Analysis of acid-treated dentin smear debris and smear layers using confocal Raman microspectroscopy. *J. Biomed. Mater. Res.*, 60 (2): 300–308
64. Hans U.V. Gerth. (2007). A three layer structure model of fluoridated enamel containing  $\text{CaF}_2$ ,  $\text{Ca}(\text{oOH})$  and  $\text{FA}_p$ . *Dental Materials.* (23): 152-1528.
65. Dorozhkin SV, Epple M. (2002). Biological and medical significance of calcium phosphates. *Angew Chem Int .Ed*; (41): 3130-46.
66. Tsuda H, Jongebloed. (1993). Combined Raman and SEM study on  $\text{CaF}$  forms on/in enamel by APF treatments. *Caries Res* (27): 445-454.
67. Marquis RE. (1977) Inhibition of streptococcal adenosine triphosphate by fluoride. *J Dent Res.* (56)701-704.
68. White DJ, Browman WD, Faller RV, Mobley MJ, (1988). F MAS NMR and solution chemical characterization of the reactions of fluoride with hydroxyapatite and powdered enamel." *Acta Odontol Scand* (46): 375-389.
69. González-Solis Jose. (2014 ). Early detection of dental fluorosis using Raman spectroscopy and principal component analysis. *Lasers Med Sci.* DOI 10.1007/s10103-014-1638-9.
70. Tramini, P., Bonnet, B., Sabatier, R., and Maury, L. (2001) A method of age estimation using Raman microspectrometry imaging of the human dentin. *Forensic Sci. Int.*, 118: 1–9
71. Zavala- Alonso V. (2012). Analysis of the molecular structure of human enamel with fluorosis using micro- Raman spectroscopy. *Journal of Oral Science.* 54 (1): 93-98.
72. Ko, A.C.T., Choo-Smith, L.P., Hewko, M., and Sowa, M.G. (2006) Detection of early dental caries using polarized Raman spectroscopy. *Optic. Express*, 14 (1): 203–215.
73. Kutsch, V.K. and Yong, D.A. (2011) New directions in the etiology of dental caries disease. *J. Calif. Dent. Assoc.*, 39 (10): 716–721.
74. de Carvalho, F.B., Barbosa, A.F.S., Zanin, F.A.A., Junior, A.B., Junior, L.S., and Pinheiro, A.L.B. (2013) .Use of laser fluorescence in dental caries diagnosis: A fluorescence × bimolecular vibrational spectroscopic comparative study. *Braz. Dent. J.*, 24 (1): 59–63.

# 15. ANEXOS

**ANEXO 1:** la imagen muestra el ciclo vital de los ameloblastos, tomada del libro Gómez de Ferraris. "Histología Embriología Bucodental". 3ª ed. Panamericana; 2009.



**ANEXO 2: matriz orgánica y cristales iniciales de esmalte. Cada nanosfera de amelogenina contiene unos 100 monómeros, que le ayudan a los cristales a tomar un ensamblaje ordenado.**



## ANEXO 3: DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DEAN MODIFICADO

El registro será de acuerdo a los criterios establecidos en el índice de Dean modificado.

### CRITERIOS ESTABLECIDOS EN EL ÍNDICE DE DEAN MODIFICADO.

CONDICIÓN	CÓDIGO	DESCRIPCIÓN
NO AFECTADO	0	El esmalte es liso, lustroso y transparente a nivel incisal, de color blanco- crema ( color de la dentina subyacente).
CEUSTIONABLE	1	El esmalte muestra pequeñas alteraciones de la translucidez caracterizado por pequeños flecos o manchas muy pequeñas del tamaño de la cabeza de un alfiler localizadas generalmente, pero no siempre en el tercio incisal.
MUY LEVE	2	Se observan pequeñas áreas opacas difusas de color blanco o líneas blancas que siguen los periniquimatas del esmalte, distribuidas en todo el diente pero nunca involucrado más de 25% de la superficie
LEVE	3	Las opacidades blanquecinas se extienden más del 25% pero menos del 50% de la superficie.
MODERADA	4	La totalidad del área afectada por fluorosis es más del 50%. En algunas circunstancias el esmalte hipocalcificado capta pigmentación de la comida o del aire tomando una coloración marron.
SEVERA	5	Éste código se aplica a cualquiera de las presentaciones previas y la presencia de fosetasúnicas o confluentes. La presencia de coloración marron no es suficiente criterio severo.
EXCLUIDO	9	Diente primario. Diente permanente no erupcionado o parcialmente erupcionado, con restauración (corona, resina compuesta, etc.) o bracket de ortodoncia que impide la inspección visual de toda la superficie.

Centro Nacional de Prevención y Control de Enfermedades. Secretaria de Salud. Guía para el estudio Epidemiológico de Caries y Fluorosis Dental en Escolares ENDCF. México. 2001: 5.

**Tomando en cuenta las consideraciones especiales señaladas en la guía para la encuesta nacional de caries y fluorosis dental 2011.**

**CONSIDERACIONES ESPECIALES EN LA DETECCIÓN DEL FLUOROSIS DENTAL.**

1.	Examine solo las superficies bucales de dientes completamente erupcionados (cuando el diente ha alcanzado el plano oclusal).
2.	Mantenga la superficie bucal húmeda con saliva. Si se toma más de 10 segundos en llegar a un código, moje la superficie con saliva pasando la mucosa labial sobre el diente.
3.	No tome mucho tiempo en asignar el código de severidad. La mayoría de las veces la primera impresión es la correcta.
4.	En caso de duda, codifique la categoría menos severa.
5.	El diente es excluido de codificación si la superficie bucal está cubierta por una restauración, destruida por caries dental o banda de ortodoncia.
6.	La fluorosis tiende a ser bilateral, pero no necesariamente en el mismo nivel de severidad. Es posible tener niveles diferentes de severidad en dientes homólogos.
7.	La presencia de coloración, no es criterio de severidad.
8.	La foseta determina fluorosis severa, independientemente de la proporción del esmalte afectado. Las fosetas aparecen luego que el diente ha emergido en la cavidad bucal. La foseta recién formada presenta paredes en su circunferencia y un fondo áspero al examinar el fondo de la foseta con la punta en una gran zona de esmalte fluorótico que puede presentar coloración marrón. No se olvide, si no logra detectar pared no identifique como foseta.
9.	Evite llamar fosetas aquellas que tienen menos de 1mm de diámetro a no ser que hayan otras fosetas similares en el esmalte.
10.	Recuerde que algunas condiciones como la amelogenesis imperfecta, puede tener apariencia clínica similar a la de fluorosis severa.

Centro Nacional de Prevención y Control de Enfermedades. Secretaría de Salud. Guía para el estudio Epidemiológico de Caries y Fluorosis Dental en Escolares  
ENDCF. México. 2001: 5.

Deben examinarse 10 dientes indicadores ( incisivos, caninos, y premolares superiores permanentes) en cada escolar, por las superficies vestibulares, desde los bordes incisales y las puntas de las cúspides hasta el margen gingival, y desde la cara mesial a la distal. Si hay duda ante la presencia de fosetas, éstas deben examinarse con una sonda periodontal (sonda tipo WHO, HUPCP11.5B), con el objeto de establecer el grado severo si éstas miden más de 1mm. se registra un criterio de Dean en cada uno de los dientes examinados, y la falta de un diente se anota con código 9 en la casilla correspondiente.

DIENTES	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	VALOR
CRITERIOS DEAN											

Se atribuye un valor a cada escolar, el cual se basa en los dos dientes más afectados en relación a los criterios establecidos por Dean, si los dos dientes no están afectados por igual, debe registrarse el grado correspondiente al menos afectado de ambos. O bien se ordenan los criterios de mayor a menor gravedad y el registro que se atribuye es el de la penúltima lesión más grave.



## ANEXO 4: DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE COMUNITARIO DE FLUOROSIS (ICF)

Con los datos obtención de los criterios del índice de Dean, se obtendrán el índice comunitario de fluorosis, con el que se determina qué tan importante es este problema en la población.

Después de que se ha atribuido un valor a cada escolar, se realiza la ponderación.

CONDICIÓN	CÓDIGO	PONDERACIÓN
SANO	0	0
CUESTIONABLE	1	0.5
MUY LEVE	2	1
LEVE	3	2
MODERADO	4	3
SEVERO	5	4

Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades. Manual para el uso de fluoruros dentales en la República Mexicana. Secretaría de salud, 2003: 1-67.

Para obtener el índice comunitario de fluorosis, se realiza el cálculo de la media aritmética de los criterios del índice de Dean, es decir la sumatoria de la población de los escolares dividido entre el total de los escolares examinados.

$$\frac{\sum \text{de individuos con fluorosis} \times \text{ponderación}}{\text{número total de individuos examinados}}$$

## ANEXO 5: CRITERIO ICDAS

El sistema Internacional de Detección y Valoración de Caries (ICDAS) categoriza las lesiones según hallazgos visuales con una alta correlación histológica, de acuerdo con la gravedad o profundidad de la lesión. El diagnóstico de caries dental para la toma de una decisión de tratamiento correcta es un proceso que involucra al menos tres pasos:

- A) La detección de la lesión de caries dental.
- B) La valoración de su severidad.
- C) La valoración de la actividad.

En términos generales el punto de corte diagnóstico de severidad para una decisión de tratamiento operatorio se determina en poblaciones/ individuos de riesgo alto cuando la lesión involucre estructura más allá del tercio externo de la dentina.

Así, es claro que aquellas lesiones que histológicamente afectan la dentina más allá del tercio externo (lesiones cavitacionales: ICDAS 5 y 6), la mayoría de las sombras subyacentes de dentina (ICDAS 4) y un porcentaje variable de microcavidades (ICDAS 3) presentan infección de la dentina y requieren tratamiento operatorio.

Por otro lado, las lesiones tempranas (no cavitacionales) presentan desmineralización del esmalte y pueden presentar desmineralización de la dentina hasta el tercio externo, sin pérdida de tejido y sin invasión microbiana. Aquí se agrupan las opacidades visibles sin necesidad de secar (ICDAS 2, típica lesión de mancha blanca), con correlación histológica de desmineralización que puede llegar hasta el tercio externo de dentina, y las opacidades visibles después de secar o primer cambio detectable en esmalte (ICDAS 1), con desmineralización hasta la mitad externa del espesor del esmalte. En estas lesiones se recomienda tratamiento no operatorio. En las lesiones de mancha blanca y algunas microcavidades que se consideren sin dentina infectada, considerando que se ha dañado el eje de los prismas, se recomiendan los selladores o la aplicación tópica profesional periódica de fluoruro .

## ANEXO 6: ESPECTRO RAMAN DE $\text{CaF}_2$

# Raman Spectroscopy $\text{CaF}_2$ Substrates



Selected Calcium Fluoride substrates. Working with Raman spectra it is necessary that the substrate does not interfere with the results. Crystran Raman Grade Calcium Fluoride offers many advantages.

- Wide transmission range from deep UV to mid IR
- Complete flexibility on your choice of laser between 130nm to 10 $\mu\text{m}$
- One single Raman peak only at 321 $\text{cm}^{-1}$  specific to  $\text{CaF}_2$
- No other Raman peaks to confuse the results
- Minimal fluorescence
- Durable and insoluble

