

IMPORTANCIA DEL ANALISIS MICROESTRUCTURAL DEL ESMALTE DE LA DENTICION DECIDUA PARA LA RECONSTRUCCION DE LA CRONOLOGIA DEL DESARROLLO DENTARIO: UNA PERSPECTIVA ANTROPOLOGICA

MICROSTRUCTURAL ANALYSIS OF THE ENAMEL OF THE DECIDUOUS DENTITION FOR THE RECONSTRUCTION OF DENTAL DEVELOPMENT CHRONOLOGY: AN ANTHROPOLOGICAL PERSPECTIVE

Selene PETRONE^{1,3}, Rocío GARCÍA MANCUSO^{1,3}, Ana María INDA¹, Susana Alicia SALCEDA^{2,3}

1. Cátedra de Citología, Histología y Embriología "A". Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata. CP 1900, La Plata, Buenos Aires, Argentina. 2. Museo de La Plata, División de Antropología. Paseo del Bosque s/n. CP 1900, La Plata, Buenos Aires, Argentina. 3. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

RESUMEN.

El proceso de mineralización de los dientes deciduos está definido por un ciclo en la actividad de secreción de las células formadoras del esmalte (ameloblastos), que alterna periodos de crecimiento, rápido y lento, y tiene como consecuencia la formación de bandas incrementales en el esmalte. Estos marcadores representan un registro temporal que puede ser una herramienta importante para el estudio del patrón y el tiempo de formación de las coronas dentarias, y de eventos de estrés ocurridos durante el crecimiento. El enfoque histológico ha sido aplicado sobre distintas muestras, tanto fósiles como arqueológicas y contemporáneas, brindando información sobre el crecimiento que no es posible obtener mediante otras técnicas. En los últimos años se han producido avances importantes en el campo de la histología que permitieron una aproximación más precisa a los procesos que regulan la formación de los tejidos duros del cuerpo, integrando información proveniente de distintas escalas de análisis. De esta manera, el presente trabajo tiene como objetivo revisar las principales premisas que subyacen al análisis de la microestructura dentaria en estudios antropológicos, la potencialidad y las problemáticas técnico-metodológicas de este enfoque, y finalmente, exponer líneas actuales de investigación en histología dentaria de individuos en crecimiento.

Palabras clave: dentición decidua, esmalte, histología, marcadores de crecimiento, información documental.

ABSTRACT.

Mineralization process of the deciduous teeth is defined by a periodic cycle of enamel forming cells (ameloblasts) secretory activity, which alternates fast and slow periods of growth, and has as consequence the formation of incremental enamel lines. Those markers represent a temporal record that can be an important tool for the study of time and pattern formation of the dental crown and stress events that happened during growth. Histological approaches have been applied over fossils, archaeological and contemporary samples, providing information about growth that other methods can't provide. Over the last few years, significant progress has been made in the histological field that allowed a more precise approach to the processes that regulates the formation of the hard tissues, integrating information from different scales of analysis. In this way, the aim of this article is to offer a review of the major premises that underlie the dental microstructural analysis in anthropological studies, the potentiality and the technical-methodological issues of this approach, and finally, present current lines of research in dental histology in growing individuals.

Key words: deciduous dentition, enamel, histology, growth markers, documental information.

Recibido 05 de Diciembre, 2016 - Aceptado 20 de Marzo, 2017

* Correspondencia a: Petrone Selene, 60 y 120 (Facultad de Ciencias Médicas), CP1900. Tel: 2215052877.
E-mail: petroneselene@gmail.com

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas ha cobrado importancia el estudio de restos de individuos fetales e infantiles provenientes tanto de contextos antiguos como recientes. Esto ha contribuido a la sistematización de las técnicas de identificación y recolección de elementos de pequeñas dimensiones, como huesos y piezas dentarias, en proceso de formación [1,2,3,4,5].

La formación y erupción de la dentición decidua está caracterizada por una cronología bien conocida [6,7] lo que ha contribuido a resolver una de las principales problemáticas del trabajo con restos óseos humanos de individuos subadultos que es la estimación de la edad de muerte. El desarrollo de las piezas dentarias aparece entonces como un indicador que permite realizar estimaciones más precisas, ya sea a partir de métodos macroscópicos basados en la asignación de estadios de formación [6,7,8,9] o métrica de las piezas dentarias [10,11,12], y de la cuantificación histológica de marcadores de crecimiento [13,14,15,16]. En este sentido, en los últimos años, el enfoque histológico ha sido aplicado sobre distintas muestras, tanto fósiles como arqueológicas y contemporáneas, brindando información sobre el crecimiento que no es posible obtener mediante otras técnicas [17].

De esta manera, el presente trabajo tiene como objetivo revisar las principales premisas que subyacen al análisis de la microestructura dentaria en estudios antropológicos, la potencialidad y las problemáticas técnico-metodológicas de este enfoque, y finalmente, exponer las líneas actuales de investigación en histología dentaria de individuos en crecimiento.

Formación del esmalte dentario: marcadores de crecimiento microestructurales

El desarrollo de los dientes deciduos o temporarios se inicia en el periodo fetal y se extiende hasta los 11 años de edad. Está caracterizado por tres períodos o etapas: un primer periodo de formación y mineralización de la corona y la raíz; uno de maduración radicular y finalmente un periodo de resorción de la raíz y exfoliación [6,18]. El esmalte es el tejido más externo de los dientes y el más duro del organismo, esto se debe a que está conformado por cristales de hidroxiapatita ((Ca₅(PO₄)₃(OH))), altamente mineralizados, que se organizan en prismas y se disponen en hileras de manera circunferencial al eje longitudinal del diente [19, 20]. En el esmalte se observan unidades estructurales conocidas como líneas de crecimiento del esmalte, producto del cambio de recorrido de los prismas, de distintos grados de mineralización y de defectos en la formación del esmalte [18,21,22].

La mineralización de las coronas de la dentición decidua tiene su inicio en el periodo intrauterino y termina poco después del nacimiento, siendo los dientes incisivos los primeros en comenzar su formación, entre la semana 13 y la 17 de la gestación [23,24,25]. Este proceso de mineralización de la corona está definido por un ciclo periódico en la actividad de secreción de las células formadoras del esmalte (ameloblastos), que alterna periodos de crecimiento rápido y lento, y tiene como consecuencia la formación de bandas incrementales en el esmalte. Dada la ausencia de remodelación del esmalte dentario una vez formado, estos marcadores microestructurales se preservan en el tejido adamantino y representan un registro temporal

que puede ser una herramienta importante para el estudio del patrón y el tiempo de formación de las coronas dentarias y de eventos de estrés ocurridos durante el crecimiento [26,27,28,29].

Las líneas de crecimiento del esmalte pueden observarse en un corte longitudinal de la pieza dentaria a través de microscopía óptica, microscopía electrónica de barrido y también se han hecho avances en estudios de microscopía confocal [14,20,22,25]. Dichas líneas de crecimiento se agrupan en dos categorías: 1) Estrías transversales y 2) Estrías de Retzius (regulares e irregulares)(Figura 1).

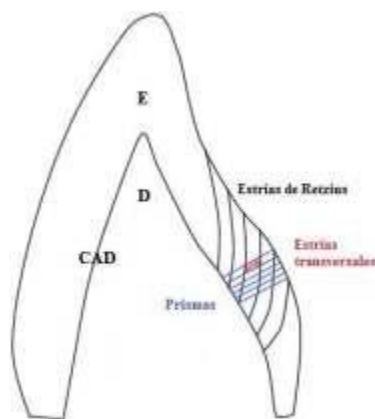


Figura 1. Esquema de diente anterior en corte longitudinal donde se grafican los marcadores microestructurales del esmalte. E= esmalte; D= dentina; CAD= conexión amelodentinaria. Las líneas azules representan el recorrido de los prismas del esmalte, las rojas indican las estrías transversales diarias que son el producto del crecimiento diario del esmalte. Las líneas negras ilustran las estrías semanales o de Retzius que van desde la CAD hacia la superficie externa del esmalte. Dibujo original de Seline Petrone.

Las estrías transversales o diarias son el resultado de cambios metabólicos relacionados con el ciclo circadiano (24 horas) que regula la actividad fisiológica de las células secretoras del esmalte [30,31]. Estos marcadores representan la cantidad de esmalte formado en aproximadamente un día y aparecen como

finas estrías transversales a lo largo del recorrido de los prismas, desde la conexión amelodentinaria hacia la superficie externa del esmalte. Estas estrías son características del tejido adamantino de todos los primates y de algunos otros grupos de mamíferos, aunque presentan variaciones interespecíficas en el intervalo en el cual aparecen (4-5 micras en humanos) [14,32,33].

Dicha periodicidad en la actividad secretora de los ameloblastos fue demostrada por medio de estudios experimentales. A partir de la administración de inyecciones de compuestos como fluoruro de sodio o marcadores fluorescentes, que dejan líneas reconocibles en el esmalte en crecimiento, se pudo relacionar el número de estrías transversales con un periodo de tiempo conocido [34,35,36].

Las estrías de Retzius comprenden estrías regulares e irregulares. Las regulares aparecen en microscopía óptica como bandas oscuras dispuestas sucesivamente alrededor del cuerno de la dentina, hasta la superficie oclusal, y por ambos lados de la corona hasta la región cervical del diente. Estas estrías regulares representan la cantidad de esmalte formado en un periodo que varía entre 6 y 11 días en humanos, a su vez se conoce que el número de estrías diarias entre estrías de Retzius contiguas es igual en todos los dientes de un mismo individuo [29,36]. La expresión externa de las estrías de Retzius en la superficie de las coronas de los dientes permanentes son las denominadas periquimatías, que permiten obtener información de crecimiento a partir del análisis de la superficie de los dientes (Figura 2) [13,26,37,38]. Sin embargo, en dientes deciduos estas estructuras no son observables, dado que existe una

capa de esmalte aprismático (banda de esmalte que carece de prismas y rodea toda la corona) que impide que las estrías de Retzius se expresen en superficie (Figura 3) [18,39].

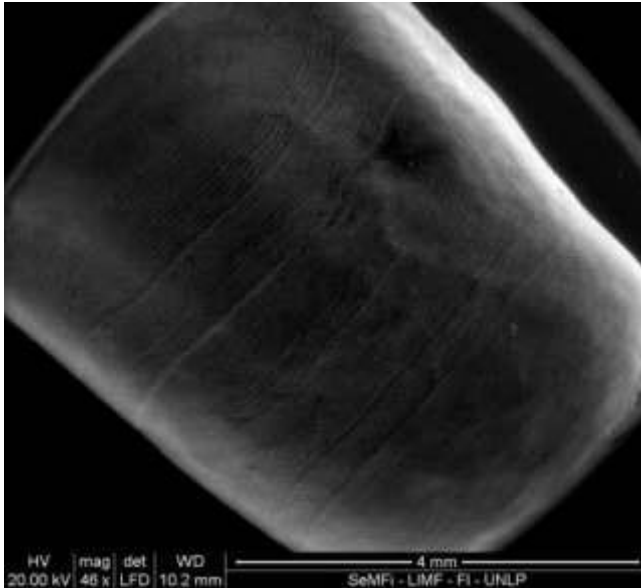


Figura 2. Incisivo central superior permanente de clínica privada donde se pueden observar periquimatías en la cara labial de la corona. Fotografía tomada con microscopía electrónica de barrido.

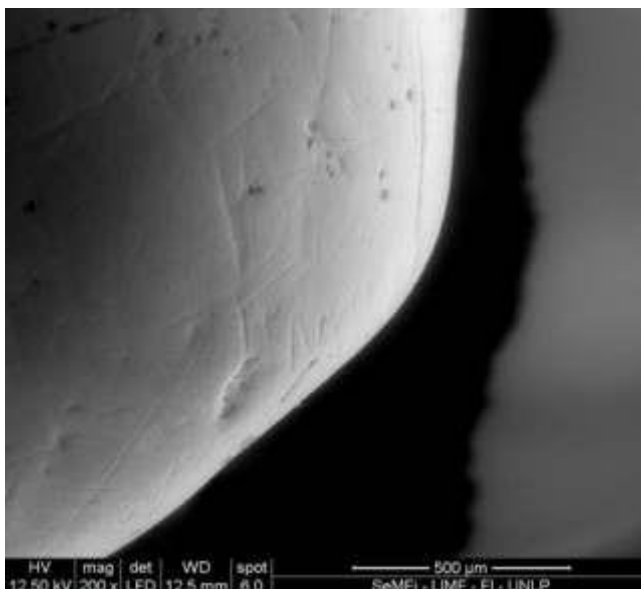


Figura 3. Canino superior deciduo exfoliado de clínica privada, sin presencia de periquimatías en superficie. Fotografía tomada con microscopía electrónica de barrido.

Las estrías de Retzius irregulares, aparecen en microscopía óptica como bandas acentuadas fácilmente identificables en cortes longitudinales [40]. La estría irregular que coincide con el evento del nacimiento se denomina línea neonatal [41,42]. Ésta divide el esmalte prenatal del postnatal en todos los dientes deciduos, y en algunos casos, en el primer molar permanente. Ha sido descrito que la línea neonatal es producto del estrés fisiológico relacionado con el nacimiento, y en particular su aparición ha sido atribuida a la disminución del calcio en sangre en los días posteriores al nacimiento [43]. Esta línea se caracteriza por ser una estría hipomineralizada con un marcado cambio en la dirección de los prismas. Representa una referencia cronológica de gran importancia para estimar tiempo de formación de la corona antes del nacimiento, y la edad de muerte en individuos con sus dientes todavía en formación [25,44,45].

Otro tipo de estrías irregulares, también conocidas como bandas de Wilson, son producto de eventos de estrés fisiológico durante la formación de las coronas dentarias. Estas interrupciones en la deposición del esmalte dentario causadas por procesos infecciosos y/o déficits nutricionales, informan sobre el momento y la frecuencia con la cual se produjo el estrés durante el crecimiento, por lo que han sido ampliamente utilizadas como indicadores de estrés metabólico en poblaciones actuales y arqueológicas [38,46,47,48].

Marcadores microestructurales en la interpretación del proceso evolutivo humano

Las primeras descripciones de los marcadores microestructurales del esmalte y la dentina fueron realizadas en el campo de la paleontología y anatomía

comparada por Owen (1840-1845), Andresen (1898), von Ebner (1902-1906) y Retzius (1837) [29]. Luego, numerosos investigadores estudiaron la microestructura de las piezas dentarias de distintas especies, para comprender la naturaleza del ritmo metabólico de los mamíferos en general y los primates en particular. En la segunda mitad del siglo XX se realizaron avances importantes, no sólo en la identificación de líneas incrementales en el esmalte, sino en su cuantificación y en el establecimiento de frecuencias de aparición en distintas especies [49,50,51].

En antropología, el trabajo pionero en la utilización de técnicas histológicas sobre dientes, fue el de Bromage y Dean [52] para la estimación de la edad de muerte de homínidos fósiles en desarrollo. Para ello, los autores utilizaron réplicas de alta resolución de piezas dentarias de *Australopithecus afarensis*, *Australopithecus africanus*, *Paranthropus robustus* y *Homo habilis*. A través de estas réplicas estimaron la edad de muerte de los individuos estudiados mediante la cuantificación de periquimatías en la superficie de las coronas dentarias. A partir de estos resultados se estableció que el patrón de desarrollo dental de los homínidos tempranos en general se parece más al de los simios que al de humanos modernos [53]. La cuantificación de líneas de crecimiento en el esmalte permitió determinar que el tiempo de formación de las coronas dentarias en homínidos era más corto que en humanos, lo que generó enormes controversias en la comunidad científica del momento. Algunos investigadores interpretaron estas diferencias como reflejo de un tiempo de desarrollo somático general más breve en homínidos, lo que impulsó nuevos debates en el campo

de la evolución, al establecer un periodo de maduración extendido en *Homo sapiens*, resaltando la importancia del proceso de aprendizaje en humanos [54].

Biólogos y antropólogos han estudiado el patrón de crecimiento y el desarrollo de distintas especies de primates, como modo de aproximación a la historia evolutiva humana. Se realizaron comparaciones del ritmo y el patrón de crecimiento de los tejidos dentarios y la erupción dentaria, en homínidos y humanos modernos, en relación con distintas variables relacionadas con el ciclo de vida (duración del ciclo estral, duración de la gestación, intervalo entre nacimientos, edad de destete, maduración sexual, masa corporal y esperanza de vida). De esta manera, se ha logrado comprender con mayor profundidad la ontogenia y la filogenia de nuestra especie [32,55,56,57,58,59,60,61,62].

De gran importancia para el desarrollo de la histología dentaria fue el encuentro denominado "Enamel Structure and Development, and its Application in Hominid Evolution and Taxonomy", que se realizó en París en 1996 y en el que participaron investigadores pioneros en el análisis de la microestructura dentaria aplicada al estudio del proceso evolutivo humano. Este encuentro, tuvo como objetivo, no sólo exponer las principales líneas de investigación desarrolladas hasta el momento, sino discutir las distintas interpretaciones de la microestructura y la microanatomía de las piezas dentarias [26,27,63,64,65,66,67,68].

A partir de los trabajos mencionados anteriormente, los análisis microscópicos, han sido aplicados en distintos campos de estudio, con el fin de lograr un

mayor conocimiento de la relación entre los procesos de crecimiento y desarrollo y su correlato con la formación dentaria. En este sentido, se han producido avances en el campo de la biología evolutiva a partir de la discusión de las problemáticas y limitaciones de métodos tradicionales, como el análisis radiográfico, y la aplicación de nuevas tecnologías [54,62,63,69,70]. La mayor comprensión de los mecanismos que controlan y regulan la formación de los tejidos dentarios [21,31,60], ha permitido una aproximación al patrón y tiempo de crecimiento de las distintas especies de homínidos, identificando cambios evolutivos importantes en el ciclo de vida de las especies [53].

Aplicación de estudios histológicos a muestras arqueológicas, históricas y recientes

Los estudios histológicos no son frecuentes en colecciones osteológicas humanas debido a cuestiones relativas al manejo y conservación de restos óseos y dentarios [71]. Sin embargo, el trabajo pionero de Huda y Bowman [13] representó un avance importante en la aplicación de la técnica histológica en muestras históricas. El objetivo de este trabajo fue identificar los restos mezclados de individuos de entre 1 y 4 años, enterrados en el exterior de la iglesia de Saint Bride, que podían ser identificados individualmente. En este caso, la estimación de la edad de muerte a partir de métodos tradicionales basados en la erupción dentaria y la asignación de estadios de formación, no ofreció resultados satisfactorios. Por ello, se llevó a cabo un análisis microestructural del esmalte dentario, comparando la edad de muerte estimada por la cuantificación de los marcadores de crecimiento y la información presente en las placas de los ataúdes,

pudiendo llegar a la identificación individual, renovando la confianza en la validez de los estudios histológicos en esmalte dentario.

Aunque existen pocas colecciones osteológicas humanas sobre las cuales se han desarrollado este tipo de estudios, una notable excepción son los trabajos de Luca Bondioli, Roberto Macchiarelli, Charles Fitzgerald y Shelley Saunders sobre los restos de la necrópolis romana de Isola Sacra (siglo I-III d.c) [40,72]. El análisis histológico de las piezas dentarias, realizado por estos investigadores, ha permitido aproximarse al estado de salud de individuos infantiles, mediante la identificación de marcadores microestructurales de estrés fisiológico ocurridos durante el crecimiento [40]. El hallazgo de momentos de alta prevalencia de líneas acentuadas indicaría periodos de mayor vulnerabilidad durante el desarrollo, donde la frecuencia de eventos de estrés relacionados con procesos infecciosos o déficits nutricionales, pueden asociarse a las prácticas culturales de cuidado y modo de alimentación durante el primer año de vida [72].

Por otro lado, los trabajos de Patrick Mahoney, sobre restos provenientes de los cementerios medievales de Canterbury y St. Gregory han resultado un aporte importante para determinar la tasa y la duración de depositación del esmalte en dientes deciduos, contribuyendo a la precisión en la estimación de la edad de muerte en individuos infantiles, y a la comparación de la formación del esmalte deciduo de primates en un contexto evolutivo [15,73,74,75].

En los últimos años han cobrado importancia los estudios sobre piezas dentarias provenientes de instituciones de salud donde es posible acceder a la

historia clínica de los individuos. De esta manera, se han realizado estudios de enfermedades y factores ambientales que afectan el crecimiento y tienen su correlato en el tejido dentario.

Uno de los principales marcadores no incrementales del esmalte dentario es la línea neonatal, sobre la cual se observó que presenta variaciones en el espesor, lo que llevó a los investigadores a preguntarse cuáles eran las causas de estas diferencias. Canturk y colaboradores [25] encontraron que en los casos de partos por cesárea la línea neonatal era más gruesa que en nacimientos por parto natural. Por otro lado, Zanolli y colaboradores [42] y Eli y colaboradores [76], propusieron que el espesor de la línea neonatal se relaciona también con la duración de la gestación y no sólo con el modo de parto. En estos estudios, se manifiesta cómo el acceso a los registros médicos permite explorar la relación entre distintas variables y el patrón de calcificación de la línea neonatal.

La variación en las dimensiones de piezas dentarias, ha sido estudiada desde una perspectiva histológica, y a través de estudios experimentales con ratones. Los resultados obtenidos de estos últimos sugieren que trastornos sistémicos (como por ejemplo subnutrición o inhibición en la producción de hormonas) ocurridos durante el crecimiento y la formación de los dientes, tienen como consecuencia la modificación en las dimensiones de molares [77,78,79]. En este marco, los estudios sobre muestras con información clínica contribuyen a la comprensión de estos procesos en humanos. Por ejemplo, Seow y colaboradores [80] realizaron un análisis comparativo de incisivos centrales exfoliados de niños nacidos

prematuramente y a término; observaron que el esmalte prenatal de los prematuros era aproximadamente un 20% más delgado que el esmalte de niños nacidos a término. Asimismo, la formación del esmalte postnatal no compensó la falta de formación de esmalte prenatal, en el grosor total, lo que se tradujo en menores dimensiones de las coronas dentarias, y también, en un mayor porcentaje de hipoplasias que las de individuos nacidos a término. En este sentido, el hecho de acceder a datos clínicos resultó importante para comprender cómo diferentes factores impactan en la amelogénesis y dimensiones dentarias.

Otros estudios se centran en la identificación de líneas acentuadas en el esmalte y su relación con trastornos sistémicos y patologías específicas que podrían haberlos producido. En particular Teivens y colaboradores [47], estudiaron histológicamente piezas dentarias de individuos infantiles con diagnóstico de síndrome de muerte súbita del lactante, con el objetivo de contrastar la información proveniente del análisis histológico con los registros médicos antemortem y los datos de la autopsia. Los autores encontraron que aquellos individuos con registros de infecciones recurrentes y tratamientos con antibióticos presentaron numerosas líneas acentuadas, mientras que en los individuos con ausencia de eventos específicos en su historia clínica, la única estría acentuada fue la línea neonatal.

Los trabajos realizados sobre dientes deciduos exfoliados representan un aporte valioso para la antropología, por el mayor acceso a las piezas dentarias de hospitales o clínicas, lo que no sucede con la dentición de individuos fetales o infantiles en el

contexto forense, arqueológico o de cementerios contemporáneos. Utilizando dientes exfoliados, Birch y Dean [16] propusieron ecuaciones de regresión a partir de cortes delgados, para estimar tiempos de formación de coronas dentarias en cada tipo de diente; luego utilizaron estas ecuaciones para asignar una cronología precisa a eventos de estrés ocurridos durante la formación dentaria. La importancia de este trabajo radica en que, a partir de comparar la información histológica con el historial médico pudieron establecer que por ejemplo, la aplicación de una vacuna, puede dejar una línea acentuada en el esmalte. Al mismo tiempo observaron que, información registrada en la historia clínica no pudo identificarse en los cortes, lo que evidencia que no todos los eventos de estrés ocurridos durante la formación dentaria tienen su correlato en la microestructura del esmalte. Aunque no se conoce con certeza a qué se debe la susceptibilidad diferencial del esmalte en distintos dientes, individuos y especies, a presentar defectos en su formación por perturbaciones durante la fase secretora de la amelogenénesis, se ha podido determinar que en poblaciones con altos grados de malnutrición y enfermedades infecciosas, las líneas de estrés aparecen con una mayor frecuencia. La etiología específica de los mismos no ha podido explicarse, por lo que se los denomina “marcadores inespecíficos de estrés” [46], aunque la posibilidad de contrastar información histológica de piezas dentarias con registros médicos de los individuos, puede aportar al avance del conocimiento en este campo.

Técnica histológica: posibilidades y limitaciones en la implementación de protocolos

Para describir y cuantificar la estructura del esmalte a nivel histológico, la técnica que ha mostrado mejores resultados es la obtención de corte delgado para observación al microscopio óptico, y más allá de que se trata de una técnica destructiva, los estudios histológicos ofrecen valiosa información sobre el crecimiento que no puede obtenerse por otras técnicas [27,73,81,82,83]. Este tipo de análisis requiere un protocolo estándar para la obtención de cortes, que permita la correcta visualización de los marcadores de crecimiento y la comparación de los resultados observados. El protocolo estándar implementado en histología dentaria consiste, de manera sintética, en 1) Inclusión 2) Corte 3) Desbaste y pulido (Tabla 1) [84].

LIMPIEZA	-Sonicado en agua destilada/alcohol etílico. -Secado a T° ambiente.
INCLUSION	-Inclusión de la muestra en resina epoxi. -Colocación inmediata en un sistema de vacío para eliminar las burbujas de la resina. -Secado a T° ambiente o en una fuente de calor.
CORTE	-Se realiza un corte longitudinal con un disco diamantado. El espesor ideal es de aproximadamente 0,4 mm.
DESBASTE Y PULIDO	-Sonicado para eliminar rastros del proceso de corte. -Desbaste y pulido con abrasivos y pastas diamantadas para homogeneizar la superficie.
MONTAJE	-Se pega la muestra al portaobjetos con cianocrilato.
SEGUNDO CORTE	-Para lograr el grosor de 100-150 micras.
TERMINACION	-Pulido o grabado ácido.

Tabla 1. Síntesis del protocolo estándar propuesto por Caropreso *et al.* 2000 para la obtención de corte delgado de tejidos duros para microscopía óptica.

Los estudios histológicos de los tejidos dentarios se realizan sistemáticamente desde la década del ochenta, aunque en los últimos años se ha problematizado la importancia de detallar los pasos, materiales, equipamiento utilizado, con el fin de lograr la replicabilidad y la comparación de los resultados

[82,85]. Sumado a que existen importantes dificultades en la obtención de los cortes, relacionadas principalmente con las características propias de las muestras (estadio de desarrollo e integridad de las piezas dentarias) y con el equipamiento disponible [14,17,29,86,87,88]. Los materiales tradicionalmente utilizados para la obtención de cortes delgados de piezas dentarias, incluyen resinas epóxicas y máquinas de corte y pulido específicas [68,84]. Sin embargo, estudios recientes proponen explorar posibilidades de trabajo con otro tipo de materiales como insumos odontológicos de fácil accesibilidad y manipulación (resinas y adhesivos de foto-curado) [86]. Estas alternativas, no sólo presentan ventajas en cuanto a la disminución del tiempo y de los pasos necesarios para obtener los cortes, sino que constituyen mejoras significativas en la calidad de los mismos. Asimismo, han comenzado a explorarse nuevas tecnologías aplicadas al estudio microscópico de los dientes, como las réplicas de alta resolución, y el acelerador de partículas denominado sincrotrón, que produce imágenes microtomográficas 3D de alta calidad. Este último ha permitido obtener información cronológica precisa de manera no destructiva, aunque en la actualidad el acceso a este tipo de equipamiento es restringido y sólo ha sido utilizado sobre restos fósiles en contados casos [62,89,90].

Es en este contexto que la explicitación de protocolos de trabajo empleados por los investigadores, con sus aciertos y errores, y la exploración de nuevos materiales de fácil acceso en histología, juegan un papel fundamental en el avance del conocimiento en antropología y otras disciplinas

afines, permitiendo obtener información microestructural confiable que documente la variación existente en el proceso de desarrollo y formación dentaria.

Enfoques integradores en el estudio de la dentición

En los últimos años se han producido avances importantes en el campo de la histología que permitieron una aproximación más precisa a los procesos que regulan la formación de los tejidos duros del cuerpo (determinada por factores genéticos y ambientales), integrando el análisis microestructural óseo y dentario con información proveniente de otros enfoques y escalas de análisis.

En este sentido, surgen investigaciones que realizan una aproximación a las prácticas y evolución de la alimentación durante las primeras etapas de la vida, analizando la tasa de depositación y el espesor de esmalte prenatal, en conjunto con la secuencia de erupción dentaria [75]. Asimismo, técnicas como la determinación de la composición química del esmalte, a través de análisis isotópicos y de elementos traza, han comenzado a aplicarse sobre muestras arqueológicas para estudiar los cambios en la alimentación [91].

Otro enfoque que se ha desarrollado en el último tiempo, es el estudio de la formación del tejido óseo y dentario como procesos coordinados y regulados por bioritmos que se relacionan con la masa corporal y la ontogenia de las distintas especies. Ejemplo de ello es el trabajo de Bromage y colaboradores [92], que confirmaron, a partir de la técnica de marcación de hueso en desarrollo, que el hueso lamelar es un tejido incremental al igual que el esmalte dentario.

Esta relación entre los ritmos de depositación ósea y dentaria también fue estudiada por Mahoney y colaboradores [93], que encontraron una correlación entre la periodicidad de las estrías de Retzius, el grosor del esmalte y la formación de hueso primario. En este sentido, se vuelve necesario avanzar en el conocimiento sobre los mecanismos fisiológicos subyacentes, que controlan la depositación de los tejidos, y en la aplicación de nuevas técnicas que permitan comprender los procesos de manera integrada.

Conclusión

Considerando los avances teóricos y metodológicos producto de estos enfoques integradores, queda de manifiesto que el futuro de la antropología dental, y particularmente de la histología dentaria, se dirige

hacia estudios interdisciplinarios que aúnen información proveniente de distintos campos (arqueología, paleontología, odontología, genética, histología, paleopatología) para comprender los fenómenos que subyacen a la formación de los tejidos dentarios. Al mismo tiempo, se pretende determinar en qué grado los factores biológicos y culturales influyen sobre este proceso con el objeto de explicar la variabilidad existente en las piezas dentarias, desde un abordaje poblacional y evolutivo [85,94,95]. En este marco, aparece como punto importante la generación de un consenso metodológico en la implementación de protocolos de trabajo que permita la comparación y discusión de resultados obtenidos a partir de muestras de distintos contextos espaciales y temporales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bello SM, Thomann A, Signoli M, Dutour O, Andrews P (2006) Age and sex bias in the reconstruction of past population structures. *Am J Phys Anthropol* 129: 24-38.
2. Manifold BM (2013) Differential preservation of children's bones and teeth recovered from early medieval cemeteries: possible influences for the forensic recovery of non-adult skeletal remains. *Anthropol Rev* 76: 23-49.
3. Saunders SR (2008) Juvenile skeletons and growth related studies. En: *Biological anthropology of the human skeleton* (2da edición), Katzemberg MA, Saunders S (eds) New Jersey: John Wiley & Sons, Inc pp. 117-147.
4. Mays S, Vincent S, Campbell G (2012) The value of sieving of grave soil in the recovery of human remains: an experimental study of poorly preserved archaeological inhumations. *J Archaeol Sc* 39: 3248-3254.
5. Garizoain G, Petrone S, García Mancuso R, Plischuk M, Desántolo B, Inda AM, Salceda SA (2016) Análisis de preservación ósea y dentaria en dos grupos etarios: su importancia en el estudio de conjuntos esqueléticos. *Intersecciones Antropol* 17: 353-362.
6. AlQahtani SJ, Hector MP, Liversidge HM (2010) Brief communication: The London atlas of human tooth development and eruption. *Am J Phys Anthropol* 142: 481-490.
7. Moorrees CFA, Fanning EA, Hunt EE (1963) Formation and resorption of three deciduous teeth in children. *Am J Phys Anthropol* 21: 205-213.
8. Moorrees CFA, Fanning EA, Hunt EE (1963) Age variation of formation stages for ten permanent teeth. *J Dent Res* 42: 1490-1502.
9. Demirjian A, Goldstein H, Tanner JM (1973) A new system of dental age assessment. *Hum Biol* 45: 211-227.
10. Cardoso HF (2007) Accuracy of developing tooth length as an estimate of age in human skeletal remains: the deciduous dentition. *Forensic Sci Int* 172: 17-22.
11. Irurita Olivares J, Alemán Aguilera I, Viciano Badal J, Luca S, Botella López M (2014) Evaluation of the maximum length of deciduous teeth for estimation of the age of infants and young children: proposal of new regression formulas. *Int J Leg Med* 128: 1354-1352.

12. Liversidge HM, Dean MC, Molleson T (1993) Increasing human tooth length between birth and 5.4 years. *Am J Phys Anthropol* 90: 307-313.
13. Huda TFJ, Bowman JE (1995) Age determination from dental microstructure in juveniles. *Am J Phys Anthropol* 97: 135-150.
14. Antoine D, Hillson S, Dean MC (2009) The developmental clock of dental enamel: a test for the periodicity of prism cross-striations in modern humans and an evaluation of the most likely sources of error in histological studies of this kind. *J Anat* 214: 45-55.
15. Mahoney P (2011) Human deciduous mandibular molar incremental enamel development. *Am J Phys Anthropol* 144: 204-214.
16. Birch W, Dean MC (2014) A method of calculating human deciduous crown formation times and of estimating the chronological ages of stressful events occurring during deciduous enamel formation. *J Forensic Leg Med* 22: 127-144.
17. Reid DJ, Dean MC (2006) Variation in modern human enamel formation times. *J Hum Evol* 50: 329-346.
18. Gómez de Ferraris ME, Campos Muñoz A (2009) Histología, embriología e ingeniería tisular bucodental. Editorial Médica Panamericana.
19. Nanci A (2008) Ten Cate's Oral Histology: Development, structure, and function. Mosby Elsevier.
20. Tanevich A, Durso G, Batista S, Abal A, Llompart G, Llompart J, Martínez C, Licata L (2013) Microestructura del esmalte en dientes deciduos: los tipos de esmalte y la resistencia a la abrasión. *UNR Journal* 6: 1713-1718.
21. Simmer JP, Fincham AG (1995) Molecular mechanisms of dental enamel formation. *Crit Rev Oral Biol Med* 6: 84-108.
22. Cui F-Z, Ge J (2007) New observations of the hierarchical structure of human enamel, from nanoscale to microscale. *J Tissue Eng Regen Med* 1: 185-191.
23. Lunt RC, Law DB (1974) A review of the chronology of calcification of deciduous teeth. *J Am Dent Assoc* 89: 599-606.
24. Aka PS, Canturk N, Dagalp R, Yagan M (2009) Age determination from central incisors of fetuses and infants. *Forensic Sci Int* 184: 15-20.
25. Canturk N, Atsu SS, Aka PS, Dagalp R (2014) Neonatal line on fetus and infant teeth: an indicator of live birth and mode of delivery. *Early Hum Dev* 90: 393-397.
26. Risnes S (1998) Growth tracks in dental enamel. *J Hum Evol* 35: 331-350.
27. Shellis RP (1998) Utilization of periodic markings in enamel to obtain information on tooth growth. *J Hum Evol* 35: 387-400.
28. Dean MC (2000) Incremental markings in enamel and dentine: what they can tell us about the way teeth grow. En: *Function and evolution of teeth development*, Teaford MF, Smith MM, Ferguson MWJ (eds) Cambridge University Press, Cambridge, New York, pp. 119-130.
29. Fitzgerald CM, Rose JC (2008) Reading between the lines: dental development and subadult age assessment using the microstructural growth markers of teeth. En: *Biological Anthropology of the human skeleton*, Katzemberg MA y Saunders SR (eds) Wiley-Liss, New York, pp. 237-264.
30. Hastings MH (1991) Neuroendocrine rhythms. *Pharmacol Ther* 50: 35-71.
31. Lacruz RS, Hacia JG, Bromage TG, Boyde A, Lei Y, Xu Y, Miller JD, Paine ML, Snead ML (2012) The circadian clock modulates enamel development. *J Biol Rhythms* 27: 237-245.
32. Dean C (2000) Progress in understanding hominoid dental development. *J Anat* 197: 77-101.
33. Hillson S (2005) *Teeth*. Cambridge University Press, Cambridge, New York.
34. Shinoda H (1984) Faithful records of biological rhythms in dental hard tissues. *Chem Today* 162: 34-40.
35. Bromage TG (1991) Enamel incremental periodicity in the pig-tailed macaque: a polychrome fluorescent labeling study of dental hard tissues. *Am J Phys Anthropol* 86: 205-214.
36. Smith TM (2006) Experimental determination of the periodicity of incremental features in enamel. *J Anat* 208: 99-113.
37. McFarlane G, Littleton J, Floyd B (2014) Estimating striae of Retzius periodicity nondestructively using partial counts of perikymata. *Am J Phys Anthropol* 154: 251-258.
38. Temple DH (2014) Plasticity and constraint in response to early-life stressors among late/final jomon

- period foragers from Japan: evidence for life history trade-offs from incremental microstructures of enamel. *Am J Phys Anthropol* 155: 537-545.
39. Fava M, Watanabe IS, Fava de Moraes F, Costa LRdRSd (1997) Prismless enamel in human non-erupted deciduous molar teeth: a scanning electron microscopic study. *Rev Odontol Univ São Paulo* 11.
 40. FitzGerald CM, Saunders SR (2005) Test of histological methods of determining chronology of accentuated striae in deciduous teeth. *Am J Phys Anthropol* 127: 277-290.
 41. Sabel N, Johansson C, Kühnisch J, Robertson A, Steiniger F, Norén JG, Klingberg G, Nietzsche S (2008) Neonatal lines in the enamel of primary teeth: a morphological and scanning electron microscopic investigation. *Arch Oral Biol* 53: 954-963.
 42. Zanolli C, Bondioli L, Manni F, Rossi P, Macchiarelli R (2011) Gestation length, mode of delivery, and neonatal line-thickness variation. *Hum Biol* 83: 695-713.
 43. Seow WK (1986) Oral complications of premature birth. *Aust Dent J* 31: 23-29.
 44. Kodaka T, Sano T, Higashi S (1996) Structural and calcification patterns of the neonatal line in the enamel of human deciduous teeth. *Scanning Microsc* 10: 737-743.
 45. Smith P, Avishai G (2005) The use of dental criteria for estimating postnatal survival in skeletal remains of infants. *J Archaeol Sc* 32: 83-89.
 46. Goodman AH, Rose JC (1990) Assessment of systemic physiological perturbations from dental enamel hypoplasias and associated histological structures. *Am J Phys Anthropol* 33: 59-110.
 47. Teivens A, Mornstad H, Noren J, Gidlund E (1996) Enamel incremental lines as recorders for disease in infancy and their relation to the diagnosis of SIDS. *Forensic Sci Int* 81: 175-183.
 48. Żądzińska E, Lorkiewicz W, Kurek M, Borowska-Strugińska B (2015) Accentuated lines in the enamel of primary incisors from skeletal remains: a contribution to the explanation of early childhood mortality in a medieval population from Poland. *Am J Phys Anthropol* 157: 402-410.
 49. Boyde A (1963) Estimation of age at death of young human skeletal remains from incremental lines in dental enamel. En: *Primate life history and evolution*. Rousseau JD (ed) Wiley-Liss.
 50. Fukuhara T (1959) Comparative anatomical studies of the growth lines in the enamel of mammalian teeth. *Acta Anat Nipp* 34: 322-332.
 51. Gustafson G, Gustafson A (1967) Microanatomy and histochemistry of enamel. En: *Structural and chemical organization of teeth*, Miles AEW (ed) Academic Press, London, pp. 75-134.
 52. Bromage TG, Dean MC (1985) Re-evaluation of the age at death of immature fossil hominids. *Nature* 317: 525-527.
 53. Ramirez Rozzi F (1996) Líneas de crecimiento en el esmalte dentario. Aplicación a los homínidos del Plio-Pleistoceno. *Rev Arg Antrop Biol* 1: 181-197.
 54. Smith BH (1986) Dental development in *Australopithecus* and early *Homo*. *Nature* 323: 327-330.
 55. Mann A, Lampl M, Monge J (1990) Patterns of ontogeny in human evolution: evidence from dental development. *Am J Phys Anthropol* 33: 111-150.
 56. Bogin B (1999) Evolutionary perspective on human growth. *Annu Rev Anthropol* 28: 109-153.
 57. Bogin B, Smith BH (1996) Evolution of the human life cycle. *Am J of Hum Biol* 8: 703-716.
 58. Leigh SR (2001) Evolution of human growth. *Evol Anthropol* 10: 223-236.
 59. Smith BH (1992) Life history and the evolution of human maturation. *Evol Anthropol* 1: 134-142.
 60. Dean CM (2006) Tooth microstructure tracks the pace of human life-history evolution. *Proc Biol Sci* 273: 2799-2808.
 61. Bromage TG, Hogg RT, Lacruz RS, Hou C (2012) Primate enamel evinces long period biological timing and regulation of life history. *J Theor Biol* 305: 131-144.
 62. Smith TM, Tafforeau P, Le Cabec A, Bonnin A, Houssaye A, Pouech J, Moggi-Cecchi J, Manthi F, Ward C, Makaremi M (2015) Dental ontogeny in Pliocene and early Pleistocene hominins. *PloS one* 10: e0118118.
 63. Beynon AD, Clayton CB, Ramirez Rozzi FV, Reid DJ (1998) Radiographic and histological methodologies in estimating the chronology of crown development in modern humans and great apes: a review, with some applications for studies on juvenile hominids. *J Hum Evol* 35: 351-370.
 64. Dean MC, Shellis RP (1998) Observations on stria morphology in the lateral enamel of *Pongo*, *Hylobates* and *Proconsul* teeth. *J Hum Evol* 35: 401-410.

65. Dirks W (1998) Histological reconstruction of dental development and age at death in a juvenile gibbon (*Hylobates lar*). *J Hum Evol* 35: 411-425.
66. FitzGerald CM (1998) Do enamel microstructures have regular time dependency? Conclusions from the literature and a large-scale study. *J Hum Evol* 35: 371-386.
67. Ramírez Rozzi F (1998) Can enamel microstructure be used to establish the presence of different species of Plio-Pleistocene hominids from Omo, Ethiopia?. *J Hum Evol* 35: 543-576.
68. Reid DJ, Beynon AD, Ramirez Rozzi FV (1998) Histological reconstruction of dental development in four individuals from a medieval site in Picardie, France. *J Hum Evol* 35: 463-477.
69. Bromage TG (1987) The biological and chronological maturation of early hominids. *J Hum Evol* 16: 257-272.
70. Smith TM (2008) Incremental dental development: methods and applications in hominoid evolutionary studies. *J Hum Evol* 54: 205-224.
71. Aranda C, Del Papa M (2009) Avances en las prácticas de conservación y manejo de restos humanos en Argentina. *Rev Arg Antropol Biol* 11: 89-94.
72. FitzGerald C, Saunders S, Bondioli L, Macchiarelli R (2006) Health of infants in an Imperial Roman skeletal sample: perspective from dental microstructure. *Am J Phys Anthropol* 130: 179-189.
73. Mahoney P (2012) Incremental enamel development in modern human deciduous anterior teeth. *Am J Phys Anthropol* 147: 637-651.
74. Mahoney P (2013) Testing functional and morphological interpretations of enamel thickness along the deciduous tooth row in human children. *Am J Phys Anthropol* 151: 518-525.
75. Mahoney P (2015) Dental fast track: prenatal enamel growth, incisor eruption, and weaning in human infants. *Am J Phys Anthropol* 156: 407-421.
76. Eli I, Sarnat H, Talmi E (1989) Effect of the birth process on the neonatal line in primary tooth enamel. *Pediatr Dent* 11: 220-223.
77. Ahn Y, Sanderson BW, Klein OD, Krumlauf R (2010) Inhibition of Wnt signaling by *Wise* (*Sostdc1*) and negative feedback from *Shh* controls tooth number and patterning. *Development* 137: 3221-3231.
78. D'Addona LA, Gonzalez PN, Bernal V (2016) Variabilidad de las proporciones molares en poblaciones humanas: un abordaje empleando modelos del desarrollo y experimentales. *Rev Arg Antropol Biol* 18: 1-13.
79. Kavanagh KD, Evans AR, Jernvall J (2007) Predicting evolutionary patterns of mammalian teeth from development. *Nature* 449: 427-432.
80. Seow WK, Young W, Tsang AK, Daley T (2005) A study of primary dental enamel from preterm and full-term children using light and scanning electron microscopy. *Pediatr dent* 27: 374-379.
81. Crowder C, Stout S (2011) *Bone Histology: an anthropological perspective*. Taylor & Francis.
82. de Boer HH, Aarents MJ, Maat GJR (2013) Manual for the preparation and staining of embedded natural dry bone tissue sections for microscopy. *Int J Osteoarchaeol* 23: 83-93.
83. Desántolo B, Inda AM (2016) Estimación microscópica de edad a partir de la zona cortical del fémur en individuos adultos: revisión metodológica. *Rev Arg Antropol Biol* 18: 1-12.
84. Marks MK, Rose JC, Davenport WD (1996) Technical note: thin section procedure for enamel histology. *Am J Phys Anthropol* 99: 493-498.
85. Luna L (2016) Some achievements and challenges of dental anthropology. *ARC J Dent Sc* 1: 5-9.
86. Caropreso S, Bondioli L, Capannolo D, Cerroni L, Macchiarelli R, Condò SG (2000) Thin sections for hard tissue histology: a new procedure. *J Microsc* 199: 244-247.
87. Petrone S, Garizoain G (2017) Análisis histológico de esmalte dentario desde una perspectiva antropológica. Técnica de corte delgado para microscopía óptica. *Cuadernos del INAPL SE* 4(4): 108-116.
88. Petrone S, Garizoain G, García M, Andrini L, García A, Inda AM (2016) Análisis microscópico del esmalte deciduo humano en distintos momentos del desarrollo. *Rev Cs Morfol* 18(1): 53-73.
89. Tafforeau P, Boistel R, Boller E, Bravin A, Brunet M, Chaimanee Y, Cloetens P, Feist M, Hoshowska J, Jaeger J-J, Kay RF, Lazzari V, Marivaux L, Nel A, Nemoz C, Thibault X, Vignaud P, Zabler S (2006) Applications of X-ray synchrotron microtomography for non-destructive 3D studies of paleontological specimens. *Applied Physics A* 83: 195-202.

90. Le Cabec A, Tang N, Tafforeau P (2015) Accessing developmental information of fossil hominin teeth using new synchrotron microtomography-based visualization techniques of dental surfaces and interfaces. *PloS one* 10: e0123019.
91. Tsutaya T, Yoneda M (2015) Reconstruction of breastfeeding and weaning practices using stable isotope and trace element analyses: a review. *Am J Phys Anthropol* 156: 2-21.
92. Bromage TG, Lacruz RS, Hogg R, Goldman HM, McFarlin SC, Warshaw J, Dirks W, Perez-Ochoa A, Smolyar I, Enlow DH, Boyde A (2009) Lamellar bone is an incremental tissue reconciling enamel rhythms, body size, and organismal life history. *Calcif Tissue Int* 84: 388-404.
93. Mahoney P, Miskiewicz JJ, Pitfield R, Schlecht SH, Deter C, Guatelli-Steinberg D (2016) Biorhythms, deciduous enamel thickness, and primary bone growth: a test of the Havers-Halberg Oscillation hypothesis. *J Anat* 228: 919-928.
94. Bernal V, Luna LH (2011) The development of dental research in Argentinean biological anthropology: current state and future perspectives. *HOMO* 62: 315-327.
95. Bollini G, Atencio JP, Luna L (2016) Caracterización de la dentición humana y aportes de la antropología dental para los estudios evolutivos, filogenéticos y adaptativos. En: *Introducción a la Antropología Biológica*, Madrigal L, González-José R (eds) http://scholarcommons.usf.edu/islac_alab_antropologia/1.