

Caracterización de la estructura química mediante espectroscopia Raman en dientes con HIM y amelogenesis imperfecta

SONIA GUZMÁN¹, OLGA CORTÉS², MONTSE CATALÁ³, JUAN R. BOJ⁴

¹Profesora asociada. Universidad de Murcia. Murcia. ²Profesora contratada doctor. Universidad de Murcia. Murcia. ³Profesora titular. Universidad de Valencia. Valencia. ⁴Profesor catedrático. Universidad de Barcelona. Barcelona

RESUMEN

Objetivo: caracterizar la estructura química de un diente con hipomineralización incisivo-molar (HIM) y amelogenesis imperfecta (AI).

Material y método: se utilizaron tres muestras de dientes: sano, con HIM y con AI tipo hipocalcificado. Se determinó la composición química de las muestras mediante espectroscopia Raman y la cristalinidad del esmalte a través del cálculo del ratio mineral/orgánico y de la anchura media máxima (FWHM).

Resultados: se aplicó el análisis de varianza ANOVA. Se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el diente sano y los dientes con defecto del esmalte.

Conclusión: el contenido inorgánico de los dientes con defectos en el esmalte es menor que el de los dientes sanos.

PALABRAS CLAVE: Amelogenesis imperfecta. Espectroscopia. Hipomineralización incisivo-molar. Raman.

ABSTRACT

Objective: to characterize the chemical structure of a tooth with molar-incisor hypomineralization (MIH) and amelogenesis imperfecta (AI).

Material and method: three samples of a tooth were used: healthy, with MIH and hypocalcified-type AI. The chemical composition of the samples was determined by Raman spectroscopy and the enamel crystallinity was calculated by the mineral/organic ratio and the full width half maximum (FWHM).

Results: variance ANOVA analysis was applied. Significant differences were observed ($p < 0.05$) between the healthy tooth and the teeth with enamel defects.

Conclusion: the inorganic content of the teeth with enamel defects is lower than that of healthy teeth.

KEYWORDS: Amelogenesis imperfecta. Spectroscopy. Molar-incisor hypomineralization. Raman.

INTRODUCCIÓN

Los defectos del esmalte (DE) son cada vez más frecuentes, afectando potencialmente a más del 10 % de la población. Pueden aparecer tanto en dentición temporal como en dentición permanente y abarcan una serie de problemas asociados como las caries, fracturas dentales, sensibilidad, manejo de la conducta, alteraciones psicológicas y problemas estéticos entre otros (1,2).

Recibido: 02/09/2020 • Aceptado: 22/10/2020

Guzmán S, Cortés O, Catalá M, Boj JR. Caracterización de la estructura química mediante espectroscopia Raman en dientes con HIM y amelogenesis imperfecta. *Odontol Pediatr* 2021;29(1):3-10

En muchos casos su diagnóstico no es fácil y por falta de conocimiento no se brinda una atención temprana adecuada. Es importante conocer su etiopatogenia, saber cómo se producen las alteraciones, diferenciarlas y ofrecer alternativas que ayuden a favorecer tanto la estética como la función en los tratamientos restauradores de estos dientes.

Entre los defectos del esmalte, la amelogénesis imperfecta (AI) y la hipomineralización incisivo-molar (HIM) causan cada vez más preocupación a los clínicos de todo el mundo por diferentes razones.

La AI es un desorden hereditario que se caracteriza por una alteración en la calidad y/o cantidad de esmalte dental de forma generalizada que puede afectar a ambas denticiones. Los dientes son propensos a un rápido desgaste con caries y pérdida temprana. Generalmente es un esmalte más blando que se desgasta con la masticación. Las propiedades mecánicas, microdureza y módulo de elasticidad tienen menor valor que el esmalte normal (3,4).

La hipomineralización de incisivos y molares es un trastorno en la mineralización del esmalte de los primeros molares y de los incisivos permanentes. El esmalte afectado es frágil y se puede desprender fácilmente, lo cual deja expuesta la dentina y esto favorece la sensibilidad dentinaria y el desarrollo de lesiones cariosas. Los posibles factores etiológicos se asocian a alteraciones durante la gestación y a algunas enfermedades de la primera infancia (5-7).

Clínicamente es difícil estimar el grado de hipomineralización y el riesgo de pérdida de esmalte (5). Numerosos estudios han observado cambios en la composición química y reducción en la parte mineral en dientes con HIM. La restauración de estos defectos suele ser complicada y es difícil encontrar un material de elección que cumpla los requisitos necesarios. La investigación sobre la adhesión de materiales de restauración al esmalte hipomineralizado es limitada y las decisiones clínicas hasta la fecha no se han basado en la evidencia.

En este sentido las pruebas basadas en la espectroscopia aportan información acerca de la microestructura del esmalte, permitiendo conocer mejor las características de estos defectos dentales y así poder planificar mejor las opciones preventivas y terapéuticas.

Mediante la espectroscopia Raman se puede conocer el contenido orgánico (proteínas) e inorgánico (minerales) del diente y detectar así posibles alteraciones. A diferencia de otras técnicas infrarrojas que requieren la alteración de la muestra ésta presenta la ventaja de ser una técnica no invasiva (8,9).

El mal funcionamiento de las principales proteínas en el esmalte (ameloblastina, enamulina, tuftelina y amelogenina) durante la maduración, causa defectos en la mineralización del mismo (10).

Por tanto, si somos capaces de detectar las posibles alteraciones en el contenido proteico del diente podremos conocer mejor estos defectos y acercarnos cada vez más a terapias preventivas y terapéuticas específicamente adecuadas a las características del defecto a tratar.

El objetivo de este estudio fue caracterizar la estructura química de tres muestras tomadas de un diente sano, un diente con AI tipo hipocalcificado y un diente con HIM.

MATERIAL Y MÉTODO

Se utilizaron para el estudio un diente sano, un diente con AI tipo hipocalcificado y un diente con HIM. Los dientes con AI y el diente sano fueron premolares extraídos por motivos ortodónticos. Para la obtención de la muestra con hipomineralización, se realizó una “biopsia de esmalte” de un diente con este defecto planificado previamente para una restauración. Se restauró con composite para conseguir mayor estabilidad y estanqueidad de la restauración y una adecuada protección pulpar. Se dejó esmalte sano en los márgenes y se extrajo la biopsia del diente. Todas las muestras se conservaron en timol al 0,1 % a una temperatura entre 4-6 °C hasta su utilización. En todos los casos se contó con el consentimiento firmado previo por el paciente.

A cada muestra se le realizó entre 9-15 secuencias de análisis de superficie mediante espectroscopia Raman. Se utilizó un equipo Raman dispersivo Jasco NRS-5100 de 300 mm de distancia focal con láser de diodo (785 nm), con una potencia de irradiación de 12 mW y un microscopio con un objetivo de 20 aumentos (20x) y resolución de unos 3 cm⁻¹. Se determinó la composición química de las muestras y la cristalinidad del esmalte mediante el ratio mineral/orgánico (960/1070 cm⁻¹) y la anchura media máxima (FWHM).

Se llevó a cabo el análisis estadístico Mann-Whitney para pruebas no paramétricas.

RESULTADOS

El análisis de espectrometría de Raman mostró que en FWHM existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el diente sano respecto al diente con AI y HIM. No se encontró diferencias significativas en este parámetro entre el diente con AI y el diente con HIM (Fig. 1).

En el Ratio 960/1070 existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el diente sano y los dientes con AI y HIM. En este parámetro, también hay diferencias significativas entre ambos defectos (Fig. 2).

En relación a los espectros Raman, se observa que los correspondientes al diente sano y diente con HIM son más parecidos entre sí, mientras que el diente con AI presenta una intensidad y frecuencia de picos elevadas (Fig. 5).

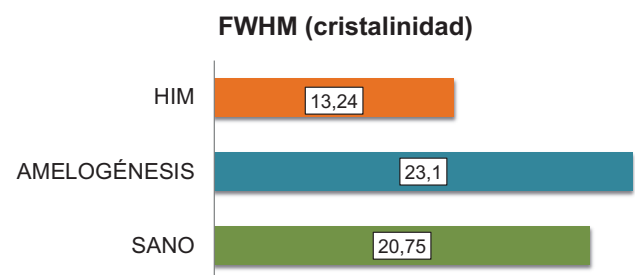


Figura 1. Media del valor FWHM de cada grupo.

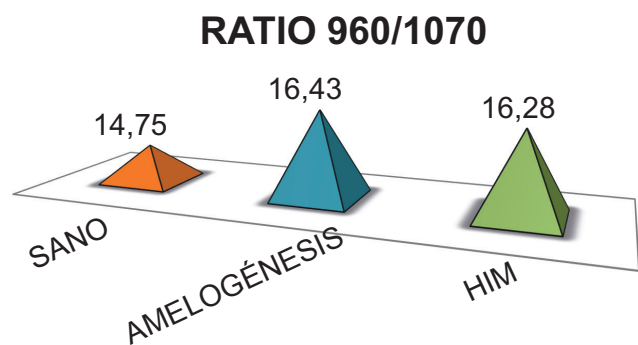


Figura 2. Media del valor del Ratio 960/1070 cm^{-1} de cada grupo.

En el diente sano no hay presencia de proteínas situadas en el rango correspondiente a 1.200-1.500 cm^{-1} mientras que en los dientes con HIM y AI hay un aumento variable de la intensidad en esa zona (Figs. 3-5).

La banda correspondiente al PO_4^{3-} (958 cm^{-1}) presenta una intensidad más elevada en el diente sano, probablemente debido a una sustitución menor por carbonato (Fig. 3).

El carbonato (1.070 cm^{-1}) puede sustituir a los iones hidroxilo o a los iones fosfato de la hidroxiapatita presente en el esmalte. En este estudio, se observa que esta banda es de mayor intensidad en el diente con AI (Fig. 5).

DISCUSIÓN

Algunos estudios previos han realizado análisis con espectroscopia Raman midiendo el ratio fosfato/carbonato (960/1.070 cm^{-1}) y el grado de cristalinidad con FWHM, considerándolos buenos parámetros para determinar la estructura química y cristalinidad del diente (11).

Con este método, en el presente estudio se constató que en los dientes con AI y HIM el esmalte tiene un mayor contenido de carbonato, coincidiendo con otros autores que mediante un análisis de dureza, EDX y microanálisis de rayos X de

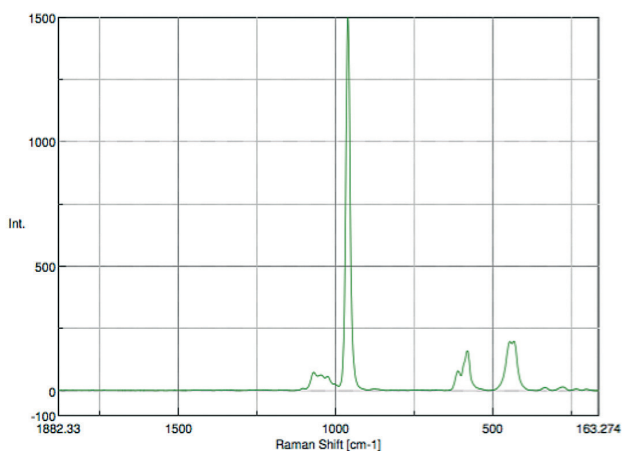


Figura 3. Espectro Raman de un diente sano.

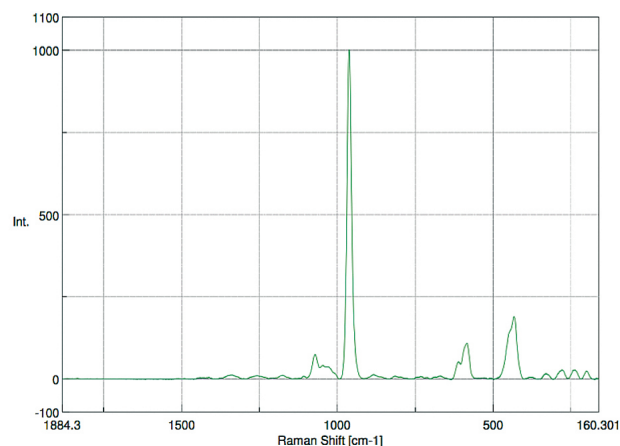


Figura 4. Espectro Raman de un diente con hipomineralización incisivo-molar.

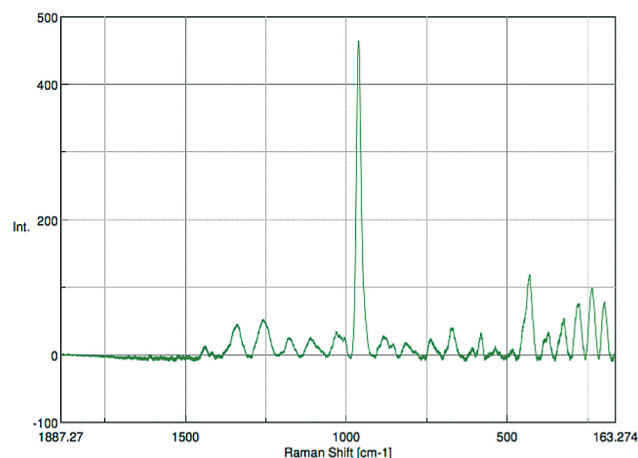


Figura 5. Espectro Raman de un diente con amelogenesis imperfecta.

molares permanentes hipomineralizados, se encuentra menor valor de microdureza y mayor cantidad de carbonato que en el esmalte sano (12).

Los resultados obtenidos han puesto de manifiesto que las bandas correspondientes a la matriz orgánica del esmalte con la presencia de amidas (proteínas) son mucho más elevadas en las muestras que presentan defectos, concretamente de tipo AI mayor incluso que en el diente con HIM.

Se ha documentado que las bandas en la región 1.200-1.500 cm^{-1} se atribuyen a los modos vibratorios de flexión de la amida de las proteínas en la matriz orgánica del esmalte. Concretamente las bandas de amida I (1.650 cm^{-1}), amida II (1.540 cm^{-1}), amida III (1.202 cm^{-1}) y CH_2 bending (1.450 cm^{-1}) correspondiente a la amelogenina (13,14).

Taube y cols. realizaron un análisis con espectroscopia Raman y EDX del esmalte de diente sano y diente con HIM y también observaron que los picos proteicos tienen más intensidad en las muestras hipomineralizadas y que hay más

carbonato en el esmalte desmineralizado, aunque no observaron cambios en la cristalinidad (5). En este estudio, también aparece más carbonato en los dientes con HIM, pero a diferencia de los hallazgos de Taube y cols. sí hay diferencias significativas en la cristalinidad.

Otros estudios han destacado la diferencia en contenido de proteínas entre el esmalte sano y el esmalte con defectos, sobre todo del tipo AI. Mangum y cols., por ejemplo, mediante un análisis proteómico, observaron que los dientes con HIM y con AI tienen entre 3 y 15 veces más proteínas que el esmalte normal. Concretamente, en los defectos de HIM aparece más albúmina (se relaciona con la inhibición de la mineralización) (15). Debido a que la albúmina es una proteína sanguínea, sugieren una posible influencia preceptiva en el origen de este tipo de defectos.

Como se ha comentado previamente, en los dientes con defectos del esmalte la toma de decisiones restauradoras es complicada. Sin embargo, y a menudo, se tendrá que realizar un tratamiento restaurador, con los consiguientes problemas de anestesia y colaboración. Por otra parte, será un reto añadido encontrar un buen material restaurador teniendo en cuenta qué limitaciones estructurales tienen estos defectos. De ahí la importancia de conocer la composición química del esmalte afectado.

Se ha observado que el efecto del grabado ácido sobre un esmalte con defectos en la mineralización es menos predecible ya que actuará sobre un tejido con mayor contenido orgánico y con un patrón poroso y desorganizado en lugar de sobre un esmalte bien mineralizado en el que habitualmente produce un patrón de grabado estándar y, por tanto, la adhesión de los materiales es peor (16).

En el caso de los selladores de fosas y fisuras en dientes con defectos del esmalte, un estudio concluye que solo una cuarta parte seguían intactos después de cuatro años de aplicación (7).

Para mejorar la adhesión a esmalte afectado por AI, se ha sugerido hacer un tratamiento con NaOCl 5 % después de grabado ácido considerando que la remoción del exceso de proteínas mejoraría las condiciones de la adhesión en tipo de dientes (16). Sin embargo, en otro estudio, se realizó la desproteínización con NaOCl al 5 % de un diente con HIM y no se obtuvo resultados concluyentes (17).

Cabe resaltar que en dientes afectados por defectos del esmalte las terapias preventivas van enfocadas a tratamientos de remineralización mediante flúor y fosfato de calcio amorfo en forma de pastas dentales, barnices y flúor tópico. Estas estrategias se basarían también en un posible efecto sobre la estructura y composición química del esmalte defectuoso (18).

En cualquier caso, conocer mejor la alteración en la composición estructural puede ayudar al desarrollo de materiales más eficaces, no solo con un enfoque preventivo tan pronto se realice el diagnóstico a una edad temprana de cualquier defecto del esmalte, sino también a nivel restaurador. En este momento, la investigación sobre la adhesión de materiales de restauración al esmalte hipomineralizado es limitada y las evidencias en las que basar las decisiones clínicas son escasas.

Si bien de forma especulativa, el conocimiento estructural del diente mediante nuevas técnicas de investigación introduce claves y respuestas sobre defectos como la HIM y la AI que podría en última instancia desbloquear un camino hacia una mejora en su tratamiento y prevención.

CORRESPONDENCIA:

Olga Cortés
Clínica Odontológica, 2 pl
Hospital General Universitario Morales Meseguer
Avda. Marqués de los Vélez, s/n
30008 Murcia
e-mail: ocortes@um.es

BIBLIOGRAFÍA

- Jälevik B, Klingberg GA. Dental treatment, dental fear and behaviour management problems in children with severe enamel hypomineralization of their permanent first molars. *Int J Paediatr Dent* 2002;12(1):24-32.
- Leppäniemi A, Lukinmaa PL, Alaluusua S. Nonfluoride hypomineralizations in the permanent first molars and their impact on the treatment need. *Caries Res* 2001;35(1):36-40.
- Kammoun R, Behets C, Mansour L, Ghoul-Mazgar S. Mineral features of connective dental hard tissues in hypoplastic amelogenesis imperfecta. *Oral Dis* 2018;24(3):384-92.
- Bäckman B, Lundgren T, Engström EU, Falk LK, Chabala JM, Levi-Setti R, et al. The absence of correlations between a clinical classification and ultrastructural findings in amelogenesis imperfecta. *Acta Odontol Scand* 1993;51(2):79-89.
- Taube F, Marczewski M, Nore JG. ScienceDirect Deviations of inorganic and organic carbon content in hypomineralised enamel. *J Dent* 2014;3:2-11.
- Weerheijm K. Molar Incisor Hypomineralisation (MIH). *Eur J Paediatr Dent* 2003;1(4):114-20.
- Ghanim A, Silva MJ, Elfrink MEC, Lygidakis NA, Marin RJ. Molar incisor hypomineralisation (MIH) training manual for clinical field surveys and practice. *Eur Arch Paediatr Dent* 2017;18:18.
- Ramakrishnaiah R, Rehman G, Basavarajappa S, Abdullah A, Khuraif A, Durgesh BH, et al. Applications of Raman Spectroscopy in Dentistry: Analysis of Tooth Structure. *Applied Spectroscopy Reviews* 2015;50(54):332-50.
- Tsuda H, Ruben J, Arends J. Raman spectra of human dentin mineral. *Eur J Oral Sci* 1996;104:123-31.
- Baumann T, Carvalho TS, Lussi A. The effect of enamel proteins on erosion. *Sci Rep* 2015;5(1):15194.
- Seyedmahmoud R, McGuire JD, Wang Y, Thiagarajan G, Walker MP. The interrelationship of microstructure and hardness of human coronal dentin using reference point indentation technique and micro-Raman spectroscopy. *Dent Mater* 2017;33(10):1069-74.
- Fagrell TG, Dietz W, Jälevik B, Norén JG. Chemical, mechanical and morphological properties of hypomineralized enamel of permanent first molars. *Acta Odontol Scand* 2010;68(4):215-22.
- Renugopalakrishnan V, Strawich ES, Horowitz PM, Glimcher MJ. Studies of the secondary structures of amelogenin from bovine tooth enamel. *Biochemistry* 1986;26(25):4879-87.
- Tarasevich BJ, Lea S, Bernt W, Engelhard M, Shaw WJ. Adsorption of amelogenin onto self-assembled and fluoroapatite surfaces. *J Phys Chem B* 2009;19(113(7)):1833-42.
- Mangum JE, Crombie FA, Kilpatrick N, Manton DJ, Hubbard MJ. Surface integrity governs the proteome of hypomineralized enamel. *J Dent Res* 2010;89(10):1160-5.
- Saroğlu I, Aras S, Oztaş D. Effect of deproteinization on composite bond strength in hypocalcified amelogenesis imperfecta. *Oral Dis* 2006;12(3):305-8.
- Gandhi S, Crawford P, Shellis P. The use of a "bleach-etch-seal" deproteinization technique on MIH affected enamel. *Int J Paediatr Dent* 2012;22(6):427-34.
- Boj JR, Catalá M, Mendoza A, Planells P, Cortés O. (2019). Hipomineralización incisivo molar. In *Odontopediatría: Bebés, niños y adolescentes*. ISBN: 978-607-98336-0-2.

Characterization of the chemical structure by means of Raman spectroscopy in teeth with MIH and amelogenesis imperfecta

SONIA GUZMÁN¹, OLGA CORTÉS², MONTSE CATALÁ³, JUAN R. BOJ⁴

¹Part-time professor. University of Murcia. Murcia, Spain. ²Associate professor. University of Murcia. Murcia, Spain. ³Tenured professor. University of Valencia. Valencia, Spain. ⁴Full professor. University of Barcelona. Barcelona, Spain

ABSTRACT

Objective: to characterize the chemical structure of a tooth with molar-incisor hypomineralization (MIH) and amelogenesis imperfecta (AI).

Material and method: three samples of a tooth were used: healthy, with MIH and hypocalcified-type AI. The chemical composition of the samples was determined by Raman spectroscopy and the enamel crystallinity was calculated by the mineral/organic ratio and the full width half maximum (FWHM).

Results: variance ANOVA analysis was applied. Significant differences were observed ($p < 0.05$) between the healthy tooth and the teeth with enamel defects.

Conclusion: the inorganic content of the teeth with enamel defects is lower than that of healthy teeth.

KEYWORDS: Amelogenesis imperfecta. Spectroscopy. Molar-incisor hypomineralization. Raman.

INTRODUCTION

Enamel defects (ED) are increasingly common, affecting potentially more than 10 % of the population. These can appear in both the primary and secondary dentition and entail a series of associated problems such as caries, dental fractures, sensitivity, behavior management, psychological disturbances and esthetic problems amongst others (1,2).

In many cases the diagnosis is not easy and given there is a lack of knowledge, proper treatment is not provided early on. It

RESUMEN

Objetivo: caracterizar la estructura química de un diente con hipomineralización incisivo-molar (HIM) y amelogénesis imperfecta (AI).

Material y método: se utilizaron tres muestras de dientes: sano, con HIM y con AI tipo hipocalcificado. Se determinó la composición química de las muestras mediante espectroscopia Raman y la cristalinidad del esmalte a través del cálculo del ratio mineral/orgánico y de la anchura media máxima (FWHM).

Resultados: se aplicó el análisis de varianza ANOVA. Se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el diente sano y los dientes con defecto del esmalte.

Conclusión: el contenido inorgánico de los dientes con defectos en el esmalte es menor que el de los dientes sanos.

PALABRAS CLAVE: Amelogénesis imperfecta. Espectroscopia. Hipomineralización incisivo-molar. Raman.

is important to be familiar with the etiopathogeneses and to be aware of how these disorders arise. These should be differentiated and alternatives should be offered to favor both esthetics and function during the restorative treatment of these teeth.

Amongst enamel defects, amelogenesis imperfecta (AI) and molar-incisor hypomineralization (MIH) are causing increasing concern for clinicians around the world for different reasons.

AI is a hereditary disorder that is characterized by a generalized disturbance in quality and/or quantity of dental enamel

that may affect both dentitions. These teeth are liable to rapid wear, caries and early loss. Generally speaking, it is a softer enamel that wears out with mastication. The mechanical properties, microhardness and elastic modulus have a lower value than normal enamel (3,4).

Molar-incisor hypomineralization (MIH) is an enamel mineralization disorder of the permanent first molars and incisors. The enamel affected is fragile and it can crumble easily leaving the dentine exposed, which leads to dentinal sensitivity and the development of carious lesions. The possible etiological factors are associated with disturbances during pregnancy and some childhood diseases (5-7).

Clinically, it is difficult to estimate the degree of hypomineralization and the risk of enamel loss (5). Numerous studies have observed changes in the chemical composition and a reduction in the mineral part of teeth with MIH. The restoration of these defects tends to be complicated and finding the material of choice that meets these requirements is difficult. Research on bonding of restoration materials to hypomineralized enamel is limited and the clinical decisions to date are not based on evidence.

In this sense the tests based on spectroscopy provide information on the microstructure of the enamel, allowing us to become familiar with the characteristics of these dental defects, and thus plan improved preventative and therapeutic options.

By means of Raman spectroscopy we can detect the organic (protein) and inorganic (mineral) content of teeth and detect possible disorders. Unlike other infrared techniques that require disturbing the sample, it has the advantage of being a non-invasive technique (8,9).

The malfunction of the main proteins in the enamel (ameloblastin, enamelin, tuftelin and amelogenin) during maturation causes the mineralization defects (10).

Therefore, if we are able to detect the possible disturbances in the protein content of a tooth, we will be able to become more familiar with the defect. We can then adopt more preventative and therapeutic therapies that are specifically suited to the defect that has to be treated.

The aim of this study was to characterize the chemical structure of the three samples taken from a healthy tooth, a tooth with hypocalcified-type amelogenesis imperfecta and a tooth with MIH.

MATERIAL AND METHOD

For this study a healthy tooth, a tooth with hypocalcified-type AI and a tooth with MIH were used. The tooth with AI and the healthy tooth were premolars extracted for orthodontic reasons. In order to obtain a hypomineralized sample, an "enamel biopsy" was performed of a tooth with this defect that was due for restoration. It was restored with composite in order to achieve greater stability, a restoration seal and suitable pulp protection. Healthy enamel was left in the margins and the biopsy of the teeth extracted. All the samples were kept in 0.1 % thymol at a temperature between 4-6 °C until they were used. In all cases, signed consent was given by the patient.

Each sample underwent 9-15 sequences of surface analysis using Raman spectroscopy. Raman dispersive equipment Jasco NRS-5100 was used with a focal length of 300 mm, diode laser (785 nm), irradiation power of 12 mW, a microscope with a zoom lens of 20 (20x) and a resolution of 3 cm⁻¹. The chemical composition was determined of the samples and the crystallinity of the enamel by means of the mineral/organic ratio (960/1,070 cm⁻¹) and the full width half maximum (FWHM).

The Mann-Whitney statistical analysis for non-parametric tests was performed.

RESULTS

Raman spectroscopy analysis revealed that there were significant differences ($p < 0.05$) in FWHM between the healthy tooth with regards to the teeth with AI and MIH. Significant differences were not found in this parameter between the tooth with AI and the tooth with MIH (Fig. 1).

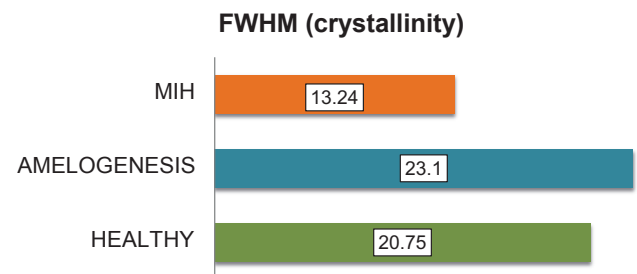


Figure 1. Mean of the FWHM value in each group.

In the 960/1,070 ratio there were significant differences ($p < 0.05$) between the healthy tooth and the teeth with AI and MIH. In this parameter, there are also significant differences between both defects (Fig. 2).

With regards to the Raman spectra, we observed that the healthy tooth and the tooth with MIH were more similar to each other, while the tooth with AI had higher peaks of intensity and frequency (Fig. 5).

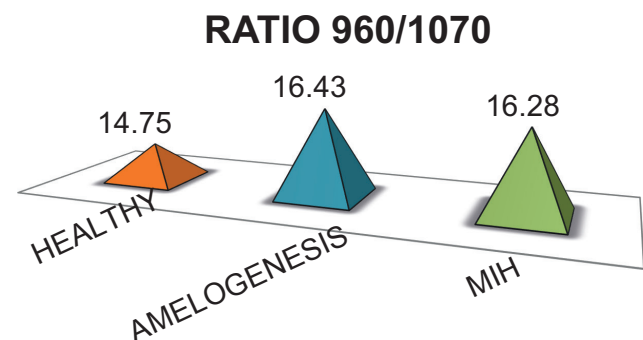


Figure 2. Mean value of the 960/1,070 cm⁻¹ ratio of each group.

In the healthy tooth there was no presence of proteins situated in the 1,200-1,500 cm^{-1} range, while in the teeth with MIH and AI there was a variable increase in the intensity in this area (Figs. 3-5). The band corresponding to PO_4^{3-} (958 cm^{-1}) showed higher intensity in the healthy tooth, probably due to lower carbonate substitution (Fig. 3).

Carbonate (1,070 cm^{-1}) may substitute the hydroxyl ions or phosphate ions in the hydroxyapatite of the enamel. In this study, we observed that the band was of greater intensity in the tooth with AI (Fig. 5).

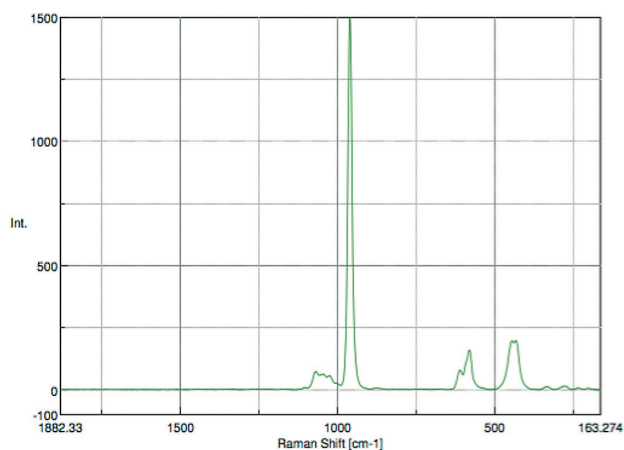


Figure 3. Raman spectrum of a healthy tooth.

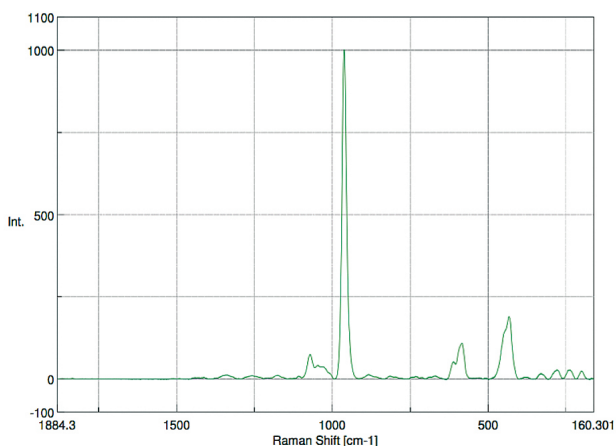


Figure 4. Raman spectrum of a tooth with molar-incisor hypomineralization.

DISCUSSION

Previous studies have performed an analysis with Raman spectroscopy measuring the phosphate/carbonate ratio (960/1,070 cm^{-1}) and the degree of crystallinity with FWHM. These parameters were considered good for determining the chemical structure and crystallinity of a tooth (11).

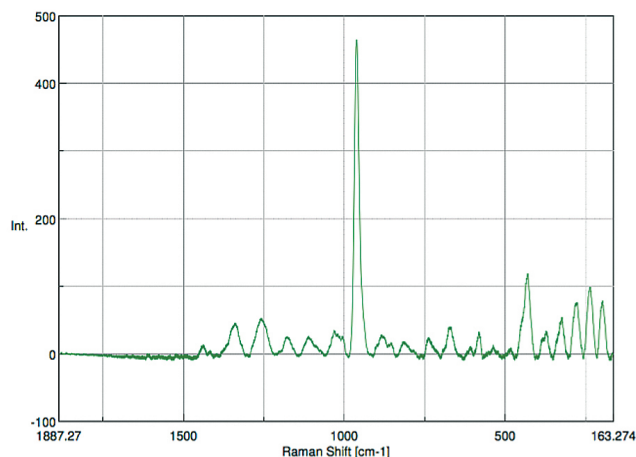


Figure 5. Raman spectrum of a tooth with amelogenesis imperfecta.

With this method, this study found that the enamel in the teeth with AI and MIH had a greater content of carbonate, as found by other authors who, by means of hardness measurements, EDX and X-ray microanalysis of hypomineralized permanent molars, found a lower micro-hardness values and a greater quantity of carbonate than in healthy enamel (12).

The results obtained revealed that the bands corresponding to the organic matrix of the enamel with amides (proteins) is much higher than in the samples with defects, specifically of the AI type and greater than in the tooth with MIH.

It has been reported that bands between 1,200-1,500 cm^{-1} are attributed to the bending vibratory modes of the amide of the proteins in the organic matrix of the enamel, specifically in the amide bands I (1,650 cm^{-1}), amide II (1,540 cm^{-1}), amide III (1,202 cm^{-1}) and CH_2 bending (1,450 cm^{-1}) corresponding to amelogenin (13,14).

Taube et al. performed an analysis with Raman spectroscopy and EDX on the enamel of a healthy tooth with MIH, also observing that the peaks of protein were more intense in the hypomineralized samples, and that there was more carbonate in the demineralized enamel. However, they did not observe changes in crystallinity (5). In this study, more carbonate also appears in the teeth with MIH, but unlike the findings of Taube et al., there were significant differences in crystallinity.

Other studies have highlighted the difference in the content of proteins between healthy enamel and enamel with defects, especially the AI type. For example, Mangum et al., by means of proteomic analysis observed that the teeth with MIH and with AI have 3 to 15 times more protein than normal enamel, specifically in MIH defects there is more albumin (which is related with inhibition of mineralization) (15). Given that albumin is a blood protein, they suggest a possible pre-eruptive influence in the origin of this type of defects.

In teeth with enamel defects, as stated previously, taking restoration decisions is complicated. However, restoration treatment will often have to be performed with the added problems of anesthesia and cooperation. Moreover, finding good restoration material whilst taking into consideration the

structural limitations of these defects will be an added challenge. Hence the importance of being aware of the chemical composition of the enamel affected.

It has been observed that the effect of acid etching on enamel with mineralization defects is less predictable, as it will act on tissue with a greater organic content and with an irregular porous pattern instead of on properly mineralized enamel which usually produces a standard etching pattern and, as a result, bonding of the material is worse (16). In the case of pit and fissure sealants for teeth with enamel defects, one study concludes that only a quarter continued in tact four years after application (7).

In order to improve bonding to enamel affected by AI, 5 % NaOCl treatment has been suggested after acid etching, as it was considered that the removal of excess proteins would improve the adhesion conditions in these teeth (16). However, in another study, deproteinization with 5 % NaOCl was carried out of a tooth with MIH, but conclusive results were not obtained (17).

It should be pointed out, that preventative therapies for teeth with enamel defects focus on remineralization treatment using fluoride and amorphous calcium phosphate in the form of toothpaste, varnishes and topical fluoride. These strategies are also based on a possible effect on the chemical structure and composition of defective enamel (18).

In any event, better knowledge on the changes in structural composition can help develop more efficient material, not only in regards to prevention as soon as the diagnosis is made at an early age of an enamel defect, but also to restoration. Currently, research on the adhesion of restoration material to hypomineralized enamel is limited, and the evidence on which to base clinical decisions is scarce.

Although speculative, the structural knowledge of a tooth by means of new research techniques introduces questions and answers on defects such as MIH and AI that could eventually unblock the road towards improved treatment and prevention.