

# COMPORTAMIENTO MECÁNICO DEL ESMALTE DENTAL

---

Camilo Alberto Rivera Velásquez

---

Trabajo de grado presentado como requisito parcial  
para optar por el título de Magister en Ingeniería

---

Asesor: Edgar Alexander Ossa Henao

Medellín  
Universidad EAFIT  
ESCUELA DE INGENIERÍA  
2012

---

---

NOTA DE ACEPTACIÓN

---

---

PRESIDENTE DEL JURADO

---

JURADO

---

JURADO

---

MEDELLÍN, 2012

# AGRADECIMIENTOS

---

- Al Doctor ALEXANDER OSSA, jefe del grupo de Investigación en Materiales de Ingeniería por su apoyo incondicional a la realización de este trabajo
- A los funcionarios del LABORATORIO DE MATERIALES (Carlos, Carolina y Juan Carlos), Universidad EAFIT
- A los Odontólogos de la UNIVERSIDAD COOPERATIVA DE COLOMBIA, en especial al Doctor SANTIAGO ARANGO por su colaboración
- Al Ingeniero MAURICIO ARROYAVE, Departamento de Ingeniería Física, Universidad EAFIT
- A la Ingeniera CLAUDIA PALACIOS, Departamento de Ingeniería Física, Universidad EAFIT
- A mis compañeros del Grupo de Investigación en Ingeniería

## Contenido

1	RESUMEN	10
2	PUBLICACIONES	11
3	INTRODUCCIÓN	12
4	MARCO TEÓRICO	14
4.1	CIENCIA DE LOS MATERIALES	14
4.1.1	Materiales Naturales	14
4.2	PROPIEDADES MECÁNICAS	21
4.2.1	Dureza.	22
4.2.2	Tenacidad a la Fractura.	28
4.2.3	Fragilidad	31
4.3	ESTRUCTURA JERÁRQUICA DE LOS MATERIALES NATURALES	32
4.4	COMPONENTE ORGÁNICO	35
4.5	EL DIENTE COMO TEJIDO NATURAL	38
4.5.1	Partes y Estructura del diente	39
4.5.2	INVESTIGACIONES PREVIAS ACERCA DEL COMPORTAMIENTO MECÁNICO DEL ESMALTE DENTAL	43
4.6	PROPIEDADES AUTORREPARATIVAS DE LOS MATERIALES NATURALES	54
5	COMPORTAMIENTO MECÁNICO DEL ESMALTE DENTAL	57
5.1	INTRODUCCIÓN	57
5.2	MATERIALES Y MÉTODOS	61
5.3	RESULTADOS	69

5.4	CONCLUSIONES	80
6	CARACTERÍSTICAS AUTORREPARATIVAS DEL ESMALTE DENTAL	83
6.1	INTRODUCCIÓN	83
6.2	MATERIALES Y MÉTODOS	85
6.3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	86
6.4	CONCLUSIONES	92
7	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	94
7.1	CONCLUSIONES	94
7.2	RECOMENDACIONES	97
8	BIBLIOGRAFÍA	98

## LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1 Representación esquemática de los campos que contribuyen al análisis de la ciencia de los materiales</i>	15
<i>Figura 2. Representación en forma de hexágono de las características de los sistemas biológicos. Nótese que todas las características se conectan entre sí, debido a la dependencia de cada una de ellas al resto.</i>	17
<i>Figura 3. Módulo de elasticidad como función de densidad para varios materiales biológicos, superpuestos en el mapa indicando regiones de materiales sintéticos (Adaptado de Ashby (1989) y Wegst y Ashby (2004))</i>	21
<i>Figura 4. Esquema del ensayo de dureza Rockwell. Imagen tomada y adaptada de <a href="http://www.substech.com/dokuwiki/doku.php?id=hardness_test_methods">http://www.substech.com/dokuwiki/doku.php?id=hardness_test_methods</a></i>	23
<i>Figura 5. Esquema de Indentador Vickers. Aquí F es la fuerza aplicada, y d1 y d2 son las diagonales de la pirámide cuadrada. Imagen tomada y adaptada de <a href="http://www.gordonengland.co.uk/hardness/vickers.htm">http://www.gordonengland.co.uk/hardness/vickers.htm</a></i>	24
<i>Figura 6 Dureza versus carga para tres cerámicos diferentes. Nótese la dependencia de la carga para las durezas obtenidas (ASTM, 2008)</i>	25
<i>Figura 7. Indentaciones aceptables y no aceptables en el ensayo de Dureza según la norma ASTM C1327</i>	27
<i>Figura 8. Modos de carga: Modo I (modo de apertura): tensión de tracción en la dirección y, perpendicular a la superficie de la grieta. Modo II (borde- modo de deslizamiento): esfuerzo cortante en la dirección x, o perpendicular a la punta de la grieta. Modo III (“Standard terminology relating to fracture testing” E 616 Annual book of ASTM Standards, vol 3,01, ASTM)</i>	30
<i>Figura 9. Diagrama esquemático sobre las similitudes jerárquicas entre los diferentes niveles.</i>	33
<i>Figura 10. Plegamiento de proteínas. Gracias a la habilidad de las proteínas de plegarse en diferentes formas, se pueden obtener una variada cantidad de características funcionales. Figura tomada y adaptada de <a href="http://www.news.cornell.edu/stories/Aug06/ProteinFoldingScheraga.kr.html">http://www.news.cornell.edu/stories/Aug06/ProteinFoldingScheraga.kr.html</a></i>	36
<i>Figura 11. Esquema de proteínas tipo Alfa (izquierda en forma de espiral) y Beta (derecha, en forma de “hoja”). Dependiendo de los puentes de hidrógeno entre sus estructuras se crean diferentes formas. Imagen tomada y adaptada de <a href="http://groups.csail.mit.edu/cb/betawrappro/">http://groups.csail.mit.edu/cb/betawrappro/</a></i>	37
<i>Figura 12 Ilustración esquemática de deformación inducida por contacto mediante un indentador Berkovich y los mecanismos de deformación molecular de las proteínas durante el contacto de la indentación (He, 2008).</i>	38
<i>Figura 13. Esquema de la organización dental en pacientes adultos. Figura tomada y adaptada de <a href="http://www.umm.edu/imagepages/18162.htm">http://www.umm.edu/imagepages/18162.htm</a></i>	39
<i>Figura 14. Esquema del diente. Se diferencian la corone, el cuello y la raíz además de su estructura interna, compuesta por el esmalte, la dentina, la pulpa y el cemento. La dentina está cubierta por esmalte en la corona</i>	

y cemento en la raíz, y rodea toda la pulpa (Moore & Dalley, 2006) (Wheeler, 2003). Por peso, el 70% de la dentina consiste en hidroxiapatita (HAP) mineral, 20% es materia orgánica y el restante 10% es agua (Moore & Dalley, 2006) (Wheeler, 2003). Posee una apariencia amarilla, lo cual suele afectar el color del diente debido a la translucidez del esmalte.	40
Figura 15. Microfotografía de la estructura dental. En a) se aprecian los prismas de hidroxiapatita en el esmalte dental, que asemejan escamas. En b) se encuentra la unión amelodentinaria. Es posible apreciar los microtúbulos que atraviesan la dentina c) desde la pulpa hasta el esmalte (flechas blancas).	42
Figura 16. Prismas de hidroxiapatita. Estos forman la estructura del esmalte dental. Puede apreciarse cierto cambio en el sentido de los prismas, lo cual es muy común al acercarse a la dentina, la cual se encuentra a la derecha.	43
Figura 17. Orientación de los prismas de hidroxiapatita en el esmalte humano. A la izquierda, los prismas son perpendiculares al observador. A la derecha, los prismas son paralelos al observador. Los cambios en las tenacidades dependiendo de la orientación son de 1,4 veces mayor para los prismas perpendiculares.	45
Figura 18. Comparación de los módulos de elasticidad (a) y las durezas (b) obtenidas mediante técnicas de nanoindentación en el esmalte dental. Las diferencias más relevantes se observan en la parte (b), donde se puede observar un cambio apreciable. Imagen tomada y adaptada de Braly y colaboradores (Braly, et al., 2007)	46
Figura 19. Nanoindentación Berkovich para utilizada para calcular dureza, módulo de elasticidad, y otras propiedades mecánicas. Microfotografía tomada de Nakonechna et. Al.	47
Figura 20. Cambio en las propiedades mecánicas a través de diferentes zonas del esmalte dental (J. L. Cuy et al., Archives of Oral Biology 47 (2002) 281 - 291)	48
Figura 21. Relación Esfuerzo – Deformación en diferentes materiales. Las líneas sólidas representan partes plásticas, y líneas discontinuas representan parte elástica del material (Li Hong He, Michael V. Swain, Enamel-A “metallic-like” Biocomposite, Journal of Dentistry 35, 2007; 431-437)	49
Figura 22. Curvas profundidad de indentación versus tiempo ( $h_t$ vs $t$ ). Los valores de la amalgama fueron divididos entre 10 para que pudieran ser ubicados en el diagrama (He & Swain, 2007).	50
Figura 23. Espectroscopía Electrónica Dispersada en muestras de esmalte dental de pacientes jóvenes (a) y pacientes adultos (b). Puede observarse el decrecimiento del contenido de fósforo (P) y calcio (Ca) en las muestras. Imagen tomada de (He, et al., doi:101016/j.archoralb10.2011.02.115)	51
Figura 24. A la izquierda se encuentran los módulos de Elasticidad y la dureza para muestras dentales jóvenes desde la unión amelodentinaria hasta la zona de oclusión del diente. A la derecha se encuentran las cargas a las cuales se da la zona de transición de la dureza (gris). Imágenes tomadas de Park et al, (Park, et al., 2008)	53

<i>Figura 25. Dos ejemplos de la autorreparación de los materiales naturales. A la izquierda, se ilustra la forma como la piel se autorrepara, luego de un trauma. A la derecha, los huesos son capaces de reestablecer su funcionalidad luego de su fractura. Imágenes tomadas de <a href="http://www.healthspablog.org/health/health-news-bone-healing-process">http://www.healthspablog.org/health/health-news-bone-healing-process</a></i>	54
<i>Figura 26. Ejemplo de un material sintético que se autorrepara. En I, II, y III, se muestra la forma como funcionan estos materiales utilizando como agente reparador resinas epóxicas en muchos casos. (Wu, et al., 2008)</i>	55
<i>Figura 27 Organización jerárquica del diente. Se observan los prismas de hidroxiapatita (cilindros).</i>	59
<i>Figura 28. Imagen de microscopía óptica de los prismas de hidroxiapatita (HA) presentes en el esmalte dental. Se distinguen las diferentes orientaciones. La Parazona corresponde a prismas paralelos al observador, y la Diazona corresponde a prismas perpendiculares al observador.</i>	60
<i>Figura 29. Diagrama esquemático de la preparación de las muestras. Mediante un corte transversal a la muestra dental se asegura que los prismas del esmalte queden en dirección perpendicular a la superficie, y luego la muestra es embebida en resina epóxica. Las diferentes profundidades del esmalte dental que se analizaron (esmalte externo, medio e interno) se indican.</i>	63
<i>Figura 30. Indentación Vickers sobre esmalte dental. Es posible detectar las grietas que salen de las cuatro diagonales de las huellas. Foto tomada por Microscopía Electrónica de Barrido SEM</i>	64
<i>Figura 31. Se esquematiza la indentación realizada, indicando las longitudes medidas utilizadas para calcular el valor de dureza y la tenacidad a la fractura aparente.</i>	65
<i>Figura 32. Grietas tipo Palmqvist. En (a), la grieta subsuperficial afecta toda el área de incidencia de la indentación. En (b) la falla subsuperficial se encuentra debajo de las grietas creadas en las diagonales de la indentación. Ilustración tomada y adaptada de Lin, C.M y colaboradores.</i>	66
<i>Figura 33.. Indentación Vickers sobre el esmalte dental. Nótese que la indentación también afecta la estructura subsuperficial del material, como lo describe la definición de grieta Palmqvist.</i>	67
<i>Figura 34. Capa interna de un tercer molar con dos indentaciones Vickers (flechas). A la izquierda, la muestra exactamente luego de ser indentada. A la derecha, la misma muestra luego de recibir un ataque químico ara revelar su estructura. Se aprecia que previamente al ataque, la parazona y la diazona son imperceptibles. Luego de ataque es fácil diferenciarlas.</i>	69
<i>Figura 35. Variación de la dureza en el esmalte dental según la carga de indentación utilizada.</i>	71
<i>Figura 36. Variación de la dureza con relación a la profundidad del esmalte dental.</i>	72
<i>Figura 37. Tenacidad a la fractura aparente del esmalte dental masculino y femenino.</i>	73
<i>Figura 38. Fragilidad del esmalte masculino y femenino.</i>	74
<i>Figura 39. Valores de Dureza hallados tanto en el sentido de la parazona como en el sentido de la diazona para hombres y mujeres.</i>	76

*Figura 40. Comparación entre los valores obtenidos para la tenacidad a la fractura en muestras masculinas y femeninas en el sentido de la diazona y la parazona.* \_\_\_\_\_ 77

*Figura 41. Valores de fragilidad encontrados en parazona y diazona para muestras de hombres y mujeres.* 78

*Figura 42. Indentación en el esmalte dental para la determinación de la tenacidad aparente a la fractura y la reparación de las grietas.  $C_0$  indica la medida de la grieta inmediatamente luego de la indentación y  $C_t$  la medida de la misma grieta luego de un periodo de tiempo designado.* \_\_\_\_\_ 86

*Figura 43. Longitud de las grietas evaluadas para pacientes masculinos y femeninos, dependiente del tiempo ocurrido luego de la generación de las grietas y de su profundidad* \_\_\_\_\_ 87

*Figura 44. Eficiencia del curado del esmalte dental para pacientes de ambos sexos, dependiente del tiempo ocurrido luego de la inducción de las grietas y de la profundidad a la cual se hallan.* \_\_\_\_\_ 88

*Figura 45. Imagen tomada mediante SEM de una grieta inducida por indentación. La flechas indican ligamentos orgánicos que unen ambas caras de la grieta, lo cual ayuda al proceso de curado.* \_\_\_\_\_ 89

## 1 RESUMEN

Este trabajo presenta un análisis de las propiedades mecánicas del esmalte dental con el fin de caracterizar su comportamiento y comparar los resultados obtenidos con los reportados por estudios previos de investigaciones realizadas en los Estados Unidos. Se realizaron pruebas para pacientes Colombianos en busca de identificar las propiedades mecánicas del esmalte y su respuesta a diferentes estímulos mecánicos. Mediante ensayos estandarizados de microdureza se pudo establecer el comportamiento de propiedades como la dureza, tenacidad a la fractura y fragilidad, siguiendo parámetros muy semejantes a los establecidos para el mismo estudio por otros investigadores en el esmalte dental humano en pacientes jóvenes (18-28 años), obteniendo resultados particulares teniendo en cuenta aspectos como el arreglo estructural y la composición química del material, propiedades que mejoran el comportamiento del esmalte a esfuerzos mecánicos. Además, se realizó un seguimiento del crecimiento de grietas generadas en el esmalte dental, y se pudo observar que luego de 48 horas dichas grietas tienden a cerrarse, lo cual sugiere una capacidad del esmalte dental no sólo de detener el crecimiento de las grietas, sino también de autorrepararse, característica nunca antes estudiada en dicho material, pero consecuente con el comportamiento de los materiales naturales.

## 2 PUBLICACIONES

Hasta la entrega final de este trabajo, se prepararon los siguientes manuscritos que se encuentran en revisión:

1. Fragilidad y comportamiento mecánico del esmalte dental. Artículo científico. Rivera, C; Ossa, E. A; Arola, D; Revista Ingeniería Biomédica, sometido a publicación Agosto 2012.
2. Self-Healing Characteristics of Human Enamel. Rivera, C; Ossa, E. A; Arola, D. Journal of the Mechanical Behavior. Sometido a publicación Septiembre 2012.

Se realizaron presentaciones en los siguientes congresos:

1. Tercer congreso nacional de Ingeniería Física; Primer encuentro internacional de creativos empresariales científicos. Septiembre 10 al 14 de 2012. Universidad EAFIT; Medellín, Colombia. Artículo: Propiedades Autorreparativas del Esmalte Dental.
2. TMS 2012. Marzo 11-15 de 2012, Orlando, Florida. Artículo: Self-Healing Characteristics of Human Enamel.

### 3 INTRODUCCIÓN

El estudio de los materiales biológicos ha recibido un creciente interés en años recientes debido tanto a sus propiedades mecánicas excepcionales como a las estructuras inusuales del material. Por ejemplo, estructuras como el esmalte dental humano han sido estudiadas y se ha reportado que poseen propiedades semejantes a la de metales como el oro o el titanio, que contrastan con las reportadas para su constituyente principal: la hidroxiapatita. Este desempeño particular busca ser imitado, o al menos servir de inspiración para la elaboración de nuevos métodos de fabricación y nuevos constituyentes de materiales sintéticos de aplicación en las distintas ramas de la ingeniería, debido a lo relevante de la optimización de los componentes que utiliza la naturaleza para la elaboración de sus elementos en los materiales orgánicos.

En Colombia, el estudio de la ciencia de los materiales está relegado frente a lo encontrado y reportado por diferentes investigadores internacionales, por lo cual, mediante este trabajo de grado, se busca generar interés en la Biomimética como área de estudio en el desarrollo de materiales en nuestro país, además de buscar caracterizar materiales como el esmalte dental, poco estudiado en la región suramericana y el cual, según reportes previamente realizados, posee muchas otras características particulares de aplicación ingenieril.

En el presente trabajo se desarrolló una metodología similar a la empleada por otros estudios para el análisis de la estructura dental, y se compararán los resultados de ensayos mecánicos realizados en las muestras obtenidas con los reportados por investigaciones a la vanguardia de la biomimética, con el objetivo de entender el comportamiento de estas estructuras, particularmente el esmalte dental bajo cargas y comprender la influencia de factores únicos en los materiales naturales como la

organización jerárquica y los componentes orgánicos al interior de las muestras, en las características mecánicas encontradas.

## 4 MARCO TEÓRICO

### 4.1 CIENCIA DE LOS MATERIALES

La ciencia de los materiales es un campo interdisciplinario, el cual aplica las propiedades de la material en varias áreas de la ciencia y la ingeniería. Este campo científico investiga la relación entre la estructura de los materiales a escalas atómicas y moleculares y sus propiedades macroscópicas, incorpora elementos de física aplicada y química. Es una parte importante del análisis de falla, además de que tiene como uno de sus objetivos el reconocer las propiedades fundamentales y las características de los materiales.

#### 4.1.1 Materiales Naturales

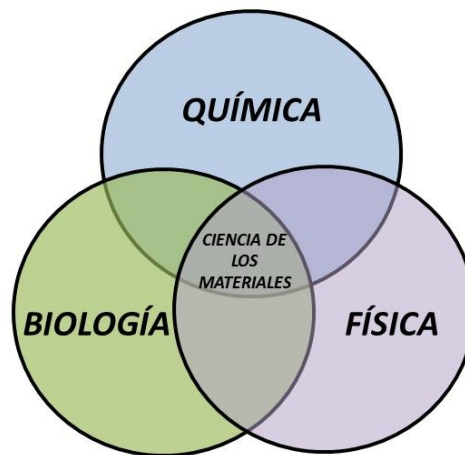
El campo de los materiales biológicos o naturales es una nueva rama de rápido crecimiento de la ciencia de los materiales y la ingeniería. Posee tres componentes diferentes pero interrelacionados:

- Materiales Biológicos: Materiales naturales
- Biomateriales: Materiales sintéticos para aplicaciones biomédicas
- Biomimética: Materiales de diseño e inspiración biológica

Existe una fuerte relación entre estos tres componentes, pues varios materiales biológicos han sido utilizados exitosamente en una gran cantidad de aplicaciones biomédicas. Muchos sistemas biológicos poseen propiedades mecánicas mucho mejores que las obtenidas utilizando los materiales sintéticos (1), (2), (3), lo cual es sorprendente, si se considera que los polímeros y minerales básicos utilizados en cualquier sistema natural son muy débiles. Sin embargo, para abordar de lleno el área de los materiales naturales es necesario también tener en cuenta conocimientos básicos acerca de la biología. Muchos

errores significativos pueden surgir, por ejemplo, si los investigadores ignoran la anatomía y la fisiología de los animales, su estilo de vida (fundamental debido a que sus costumbres explican la aplicación de cargas en diferentes partes de su estructura anatómica) y biología celular, la cual puede determinar cómo son creadas las estructuras anatómicas.

Una nueva definición de la ciencia de los materiales ha sido planteada por diferentes autores (1) (2) (4) (5) y ubica a los materiales en una zona donde confluyen la química, la física y la biología (**Figura 1**), debido a la necesidad de comprender estas tres diferentes áreas para poder explicar la complejidad de las estructuras que se elaboran. Además, los materiales naturales y sus estructuras poseen características únicas que los distinguen de sus contrapartes sintéticas, características resumidas en la **Figura 2**, en forma de hexágono, indicativo de la compleja contribución e interacción necesaria para comprender completamente (y explotar, mediante la biomimética) los sistemas biológicos. Estos seis componentes son:

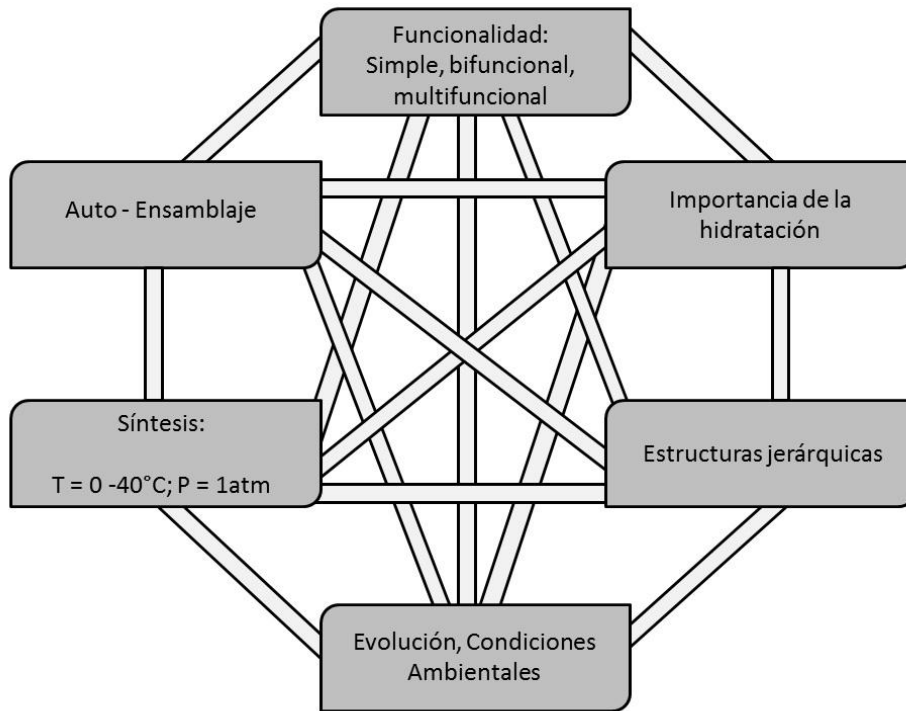


*Figura 1 Representación esquemática de los campos que contribuyen al análisis de la ciencia de los materiales*

- Las estructuras se ensamblan de abajo hacia arriba, al contrario de los materiales sintéticos donde el ensamblaje se da en dirección contraria. Existe la necesidad de

un proceso de crecimiento, característica conocida como “auto-ensamblaje” (1) (5) (4) (6)

- Muchos componentes sirven para más de un propósito, por ejemplo, la piel protege al organismo y regula la temperatura; El hueso es un componente estructural y a su vez sirve como fábrica de eritrocitos. Por eso, las estructuras son “multifuncionales” (1) (3) (4) (5) (6) (7)
- Las propiedades dependen altamente del nivel de agua en el interior de la estructura. Existen excepciones muy notables como el esmalte dental, pero esta regla se aplica a la gran mayoría de materiales naturales y tiene una gran importancia (1) (3) (4) (5) (6) (7), (8) (9) (10).
- La evolución, las condiciones ambientales y la disponibilidad limitada de materiales determinan la morfología y las propiedades. Los principales elementos disponibles son el oxígeno, nitrógeno, hidrógeno, calcio, fósforo, silicio y carbono. Además, varios elementos (como el hierro, Fe) han sido cruciales para la determinación de diferentes fases en algunos sistemas, por ejemplo el óxido de hierro en el diente radular de la chitona (11) (12) Los metales sintéticos más prácticos (hierro, aluminio, cobre) están virtualmente ausentes y sólo se presentan en pequeñas cantidades y en aplicaciones altamente especializadas. El procesamiento de estos elementos requiere altas temperaturas, lo cual es imposible de lograr en los organismos naturales (1) (3) (4) (5) (6) (7)
- A excepción de algunos ejemplos, la síntesis de materiales biológicos se lleva a cabo en ambientes acuosos, a temperaturas ambiente y a presiones de una atmósfera.
- Las estructuras son jerárquicas, es decir, poseen diferentes niveles escalares que les confieren diferentes propiedades.



*Figura 2. Representación en forma de hexágono de las características de los sistemas biológicos. Nótese que todas las características se conectan entre sí, debido a la dependencia de cada una de ellas al resto.*

La tabla 1 muestra los principales componentes de los materiales biológicos. Éstos pueden ser divididos en dos grupos: Materiales orgánicos y biominerales. Los componentes biológicos duros son compuestos de una fase inorgánica de óxido con un biopolímero, creado en un proceso llamado biomineralización. La hidroxiapatita biomineralizada ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_1$ , el componente principal del hueso, los dientes y cuernos), el carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$  en forma de calcita o aragonita, componente principal de los huevos de aves, crustáceos y corales) y sílica amorfa ( $\text{SiO}_2(\text{H}_2\text{O})_n$ ), principal componente mineral de las esponjas y diatomeas, han sido los principales materiales examinados.

<b><u>Componentes Duros: Minerales</u></b>	<b><u>Componentes Blandos: Macromoléculas Orgánicas</u></b>
Carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ )	Colágeno (Tipo I, II, ..., XXVII)
Fosfato de calcio (hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ )	Keratina
Sílica ( $\text{SiO}_2$ )	Quitina
Magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ )	Elastina
Óxido cuproso	Celulosa

*Tabla 1. Principales componentes de los materiales biológicos*

Los materiales orgánicos semejantes a los polímeros, tienen la habilidad de deformarse en grandes cantidades, y por el contrario, los minerales son muy resistentes a cargas altas (4) (5) (13). Los componentes orgánicos pueden soportar altas cargas bajo esfuerzos de tensión, mientras los minerales resisten principalmente compresión. Pocos sistemas biológicos soportan tensiones uniaxiales (a excepción de varios ligamentos y tendones), ya que la tensión es el tipo de carga más común. En donde la mitad de la sección media del material está sometido a tensión, y la otra mitad a esfuerzos de compresión. Es rara la ocasión en la cual los minerales no se combinan con materiales orgánicos. Los componentes orgánicos, por el contrario, poseen una gran cantidad de estructuras las cuales les confieren propiedades uniaxiales, biaxiales y triaxiales (4) (5) (8) (9) (10).

El estudio de materiales biológicos duros como las conchas de nácar, cuernos, huesos y dientes tienen una alta relevancia, debido a la forma como estos materiales orgánicos/inorgánicos ajustan su microestructura y condiciones de crecimiento para alcanzar propiedades estructurales superiores. Las densidades de los materiales biológicos son generalmente menores de  $3\text{g/cm}^3$ . Estos materiales poseen una estructura jerárquica integrada con una alta complejidad de sus macroconstituyentes (4) (5) (14). La forma macroscópica se ha optimizado para sobrellevar influencias externas, como protección y lucha, y la escala nanométrica muestra una intrincada

interacción entre los componentes orgánicos y minerales (5) (14) (15). En estos materiales biológicos duros es característica la presencia de estructuras organizadas mediante capas de material suave y duro. La fase mineralizada posee dureza, mientras la fase orgánica posee tenacidad (4) (5), (7) (9) (14) (16). Esto se observa frecuentemente en las conchas de mar y en el hueso trabecular (4) (5) (14). La interacción entre los componentes orgánicos y mineralizados produce un efecto que aumenta considerablemente las propiedades mecánicas. Otra gran característica es la presencia de poros en estructuras como los huesos, dientes, exoesqueletos de artrópodos y los picos de los pájaros. Los poros proveen un bajo peso. Las fibras también son altamente preponderantes en los materiales biológicos. Los dientes, huesos, exoesqueletos y cuernos tienen alguna cantidad de componente fibroso (4) (5) (14), (9) (10,12) (16). La anisotropía de las fibras juega un papel muy importante al determinar las propiedades mecánicas de estos componentes.

Luego de examinar las diferentes propiedades de los materiales naturales se puede encontrar cierto patrón, en el cual caben todos estos materiales:

- Las densidades de los sistemas naturales (biológicos) son bajas. Raramente exceden  $3\text{g/cm}^3$ , a diferencia de los materiales estructurales sintéticos, los cuales comúnmente varían en rangos de 4 a  $10\text{g/cm}^3$  (4) (5) (14)
- Existe un alto rango en los módulos de elasticidad de los materiales naturales, que va desde 0,001 hasta los 100 GPa. Esto muestra 5 órdenes diferentes de magnitud (4) (5) (14).
- El rango de esfuerzo es casi tan extenso como el del módulo de Young, variando casi entre 4 órdenes de magnitud: 0,1 – 1000MPa (4) (14).
- Hay ausencia de metales, debido a que estos requieren de altas temperaturas en gran cantidad o procesamiento eléctrico de altas corrientes. La naturaleza no posee estas variables a su disposición (4) (5) (14) (11) (12).

Ashby, y Wegst y Ashby (17) (16) clasificaron los materiales biológicos (naturales) en cuatro grupos:

1. *Cerámicos y compuestos cerámicos*, materiales biológicos donde el componente mineral prevalece, como en conchas, dientes, huesos, diatomeas y esponjas.
2. *Polímeros y compuestos poliméricos*, como los ligamentos, tendones y exoesqueletos de artrópodos.
3. *Elastómeros*, materiales biológicos que pueden sobrellevar altas deformaciones como la piel, los músculos, vasos sanguíneos, tejidos blandos y las células.
4. *Materiales celulares*, materiales de bajo peso, como las plumas, el hueso esponjoso y la madera.

De acuerdo con esto, todos los materiales biológicos pueden estar tanto en una como en varias categorías, pues los diferentes componentes de dichos materiales poseen propiedades tan diferentes entre sí que individualmente se incluirían en diferentes grupos, pero en conjunto estarían en varios de ellos. Lo anterior está representado en la **figura 3**.

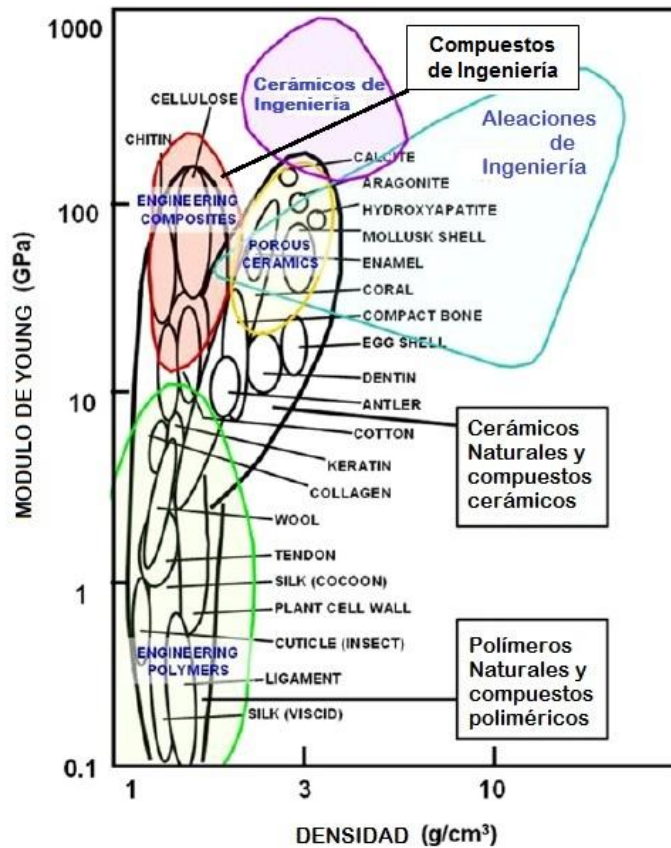


Figura 3. Módulo de elasticidad como función de densidad para varios materiales biológicos, superpuestos en el mapa indicando regiones de materiales sintéticos (Adaptado de Ashby (1989) y Wegst y Ashby (2004))

## 4.2 PROPIEDADES MECÁNICAS

Para lograr un análisis completo de las propiedades de cada uno de los materiales naturales y sintéticos se dispuso de ensayos básicos y estandarizados que permitieran comparar entre sí las características de dichos materiales y los límites a los cuales pueden llegar bajo esfuerzos aplicados uniaxial, biaxial o triaxialmente. Estos esfuerzos aplicados de diferentes formas permiten obtener información de los materiales ensayados y catalogar sus características y almacenar los datos adquiridos para fines ingenieriles. El módulo de elasticidad, el esfuerzo máximo, módulo de deflexión, dureza, impacto charpy, módulo de compresión, elongación, temperatura de servicio, la relación de poisson, el esfuerzo de fatiga y muchas otras propiedades, son ensayadas en los materiales para

comprender el comportamiento del material y lograr el desarrollo de materiales que puedan mejorar (o empeorar, según sea el caso) las características de materiales obtenidos por diferentes métodos.

#### 4.2.1 Dureza.

La dureza, una propiedad importante en los materiales, es comúnmente evaluada debido a la facilidad para la realización de estos ensayos y a la estandarización de los datos, lo que permite comparaciones inmediatas entre las propiedades de uno u otro material. El término *dureza*, como es utilizado en la industria, puede ser definido como la habilidad del material a resistir indentación o deformación permanente al entrar en contacto con un indentador bajo carga. Generalmente el ensayo de dureza consiste en presionar un indentador de geometría y propiedades mecánicas conocidas en el material a ensayar. La dureza del material es cuantificada utilizando una variedad de escalas que, directa o indirectamente, relacionan la presión de contacto necesaria para deformar la superficie. Ya que el indentador es presionado en el material durante el ensayo, la dureza también puede ser definida como la habilidad del material para resistir cargas compresivas. El indentador puede ser esférico (ensayo Brinell), piramidal (ensayos Vickers y Knoop) o cónico (ensayo Rockwell) (**figura 4**) (13). En los ensayos Brinell, Vickers y Knoop, el valor de la dureza es la carga aplicada por unidad de área de la indentación, expresada en kilogramos por milímetro cuadrado ( $\text{kgf}/\text{mm}^2$ ). En el ensayo Rockwell, la profundidad de la indentación a una carga descrita, es determinada y convertida a dureza (sin unidades de medida) el cual es inversamente proporcional a la profundidad.

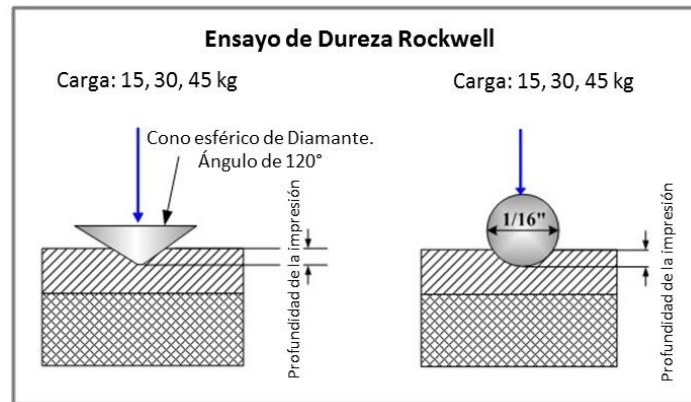


Figura 4. Esquema del ensayo de dureza Rockwell. Imagen tomada y adaptada de [http://www.substech.com/dokuwiki/doku.php?id=hardness\\_test\\_methods](http://www.substech.com/dokuwiki/doku.php?id=hardness_test_methods)

La dureza, aunque aparentemente simple en concepto, es una propiedad que representa un efecto de campos de esfuerzos complejos plásticos y elásticos en el material ensayado. Los eventos microscópicos como los movimientos por dislocaciones y transformaciones de fases que pueden ocurrir en un material bajo carga de indentación, no se espera que ocurran cada vez que se realiza el ensayo, aunque se tengan exactamente las mismas condiciones que el ensayo anterior. Sin embargo, la experiencia de diferentes ensayos predice que las indentaciones producidas bajo las mismas condiciones de ensayo son macroscópicamente casi idénticas, y las medidas obtenidas pueden ser altamente repetibles y obtener valores de dureza muy semejantes.

El ensayo de dureza es tal vez el método de caracterización de un material más simple y el más barato que haya, debido a que no requiere una elaborada preparación del espécimen, se realiza con máquinas económicamente viables y es relativamente rápido. Las investigaciones teóricas y experimentales han encontrado una relación significativamente cercana entre la dureza y otras propiedades mecánicas de los materiales, como el esfuerzo máximo de tensión, esfuerzo de cedencia, y su deformación, como también el esfuerzo de fatiga y creep (13) (18) (19) (20) (21). Estas relaciones ayudan a medir dichas propiedades con una alta precisión que es suficiente para el control de calidad durante las etapas media y final de manufactura. Muchas veces el ensayo de

dureza es el único no destructivo y de fácil acceso para calificar componentes finales para diferentes aplicaciones.

#### 4.2.1.1 Ensayo de dureza Vickers

En 1925 Smith y Sandland desarrollaron un ensayo de indentación que empleaba un indentador en forma de pirámide de base cuadrada hecho de diamante (**figura 5**) (13) (21). Este ensayo fue desarrollado debido a que el ensayo Brinell, que utiliza un indentador esférico de acero, no podía ser utilizado en metales duros. Ellos eligieron una forma piramidal con un ángulo de  $136^\circ$  entre caras opuestas con el fin de obtener valores de dureza que estuvieran tan cercanos como fuese posible a los valores de dureza Brinell para las mismas muestras. Esto hizo que el ensayo Vickers fuera fácil de adoptar y rápidamente fue aceptado. A diferencia del ensayo Rockwell, el ensayo Vickers tiene una gran ventaja al utilizar una única escala de dureza para todos los materiales ensayados. En este ensayo, la fuerza es aplicada suavemente, sin impacto, y se mantiene su contacto con la muestra durante 10 o 15 segundos.

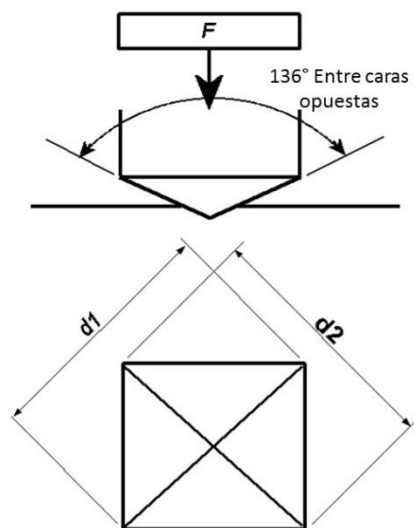


Figura 5. Esquema de Indentador Vickers. Aquí  $F$  es la fuerza aplicada, y  $d_1$  y  $d_2$  son las diagonales de la pirámide cuadrada. Imagen tomada y adaptada de <http://www.gordonengland.co.uk/hardness/vickers.htm>

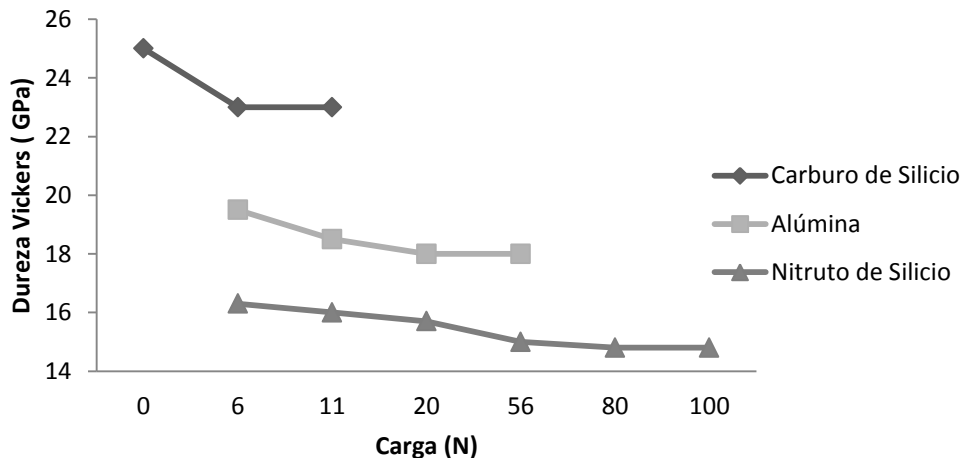
La fuerza debe ser conocida con precisión. Luego de que la fuerza aplicada es removida, ambas diagonales son medida y su promedio es utilizado para el cálculo de la dureza vickers, de acuerdo a la ecuación:

*Ecuación 1*

$$HV = \frac{2000p \sin(\alpha/2)}{d^2} = \frac{1854.4P}{d^2}$$

Donde  $d$  es la media de las diagonales en  $\mu\text{m}$ ,  $P$  es la carga aplicada en gf, y  $\alpha$  es el ángulo de las caras ( $136^\circ$ ). La dureza puede ser calculada de esta fórmula y con una calculadora de bolsillo, utilizando un programa de computador.

A pequeñas cargas de indentación (<9.8N o 1kgf) surgen algunos problemas debido a la significativa dependencia de la carga para la dureza, lo cual genera mediciones inciertas debido al pequeño tamaño de las indentaciones. La **figura 7** muestra algunos de los problemas más frecuentes que tienen que ver con la medición de la dureza Vickers en cerámicos.



*Figura 6 Dureza versus carga para tres cerámicos diferentes. Nótese la dependencia de la carga para las durezas obtenidas (13)*

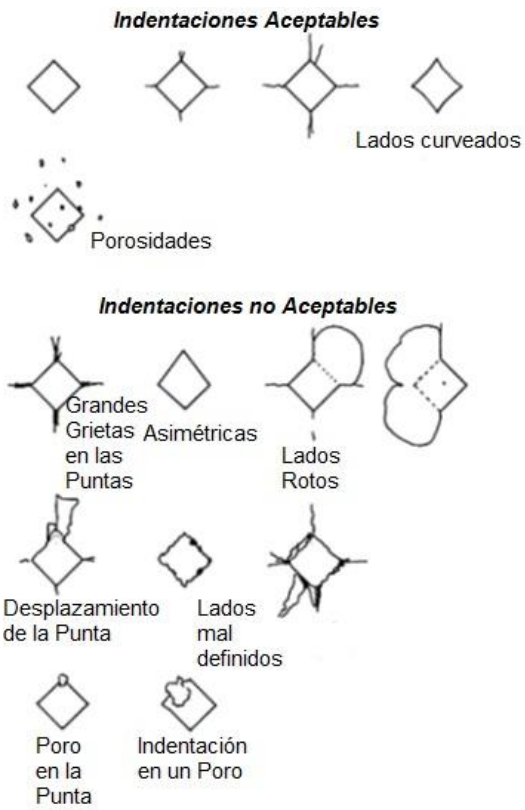
La dureza es proporcional al cuadrado de la medida de la diagonal de la indentación, por lo tanto, cualquier error en la medición de la diagonal tiene el efecto de duplicar el error al

calcular la dureza (13) (14). Por ende, es crucial que la longitud de dicha diagonal sea medida con mucho cuidado, especialmente en cerámicos donde el tamaño de la indentación es pequeño y el porcentaje de error es grande.

#### ***4.2.1.2 Medición de Huellas***

El indentador piramidal de base cuadrada crea una impresión más pequeña y profunda que las indentaciones Knoop a la misma carga. Las indentaciones Vickers son más propensas a la generación de grietas. No existen métodos estándar para ensayo Vickers en vidrios, debido a la alta generación de grietas. Entre las décadas de 1970 y 1980 se halló que las indentaciones Vickers podrían ser utilizadas para estudiar el comportamiento de las fracturas, y especialmente, la tenacidad a la fractura. Para lograr esto, una indentación Vickers se realiza sobre una superficie pulida y las longitudes de las cuatro grietas que salen de las esquinas de la indentación.

Aunque las puntas de la indentación son de alguna manera “contundentes” y fáciles de determinar mediante microscopía, las longitudes de las indentaciones Vickers son mucho más cortas. Como consecuencia de ello, cualquier error en la medición del tamaño de la diagonal en una indentación Vickers es una considerable fracción del tamaño de la diagonal. Las fracturas en una indentación Vickers son usualmente mucho más anchas y más pronunciadas que las encontradas para indentaciones Knoop a la misma carga, lo cual puede interferir con la ubicación de la punta de la indentación (13). La **figura 7** muestra indentaciones Vickers aceptables e inaceptables, de acuerdo con las normas ASTM C 1327 e ISO 14705. De acuerdo con la figura 7, las indentaciones pasan a ser o no aceptables dependiendo tanto de su forma como de las imperfecciones en el área donde ocurre la penetración, y es fundamental para la estandarización del ensayo al igual que para disminuir el margen de error en los resultados obtenidos.



*Figura 7. Indentaciones aceptables y no aceptables en el ensayo de Dureza según la norma ASTM C1327*

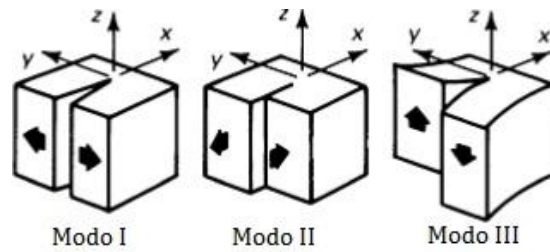
#### 4.2.2 Tenacidad a la Fractura.

La tenacidad está definida como la *habilidad de un material de absorber energía*. Comúnmente se caracteriza como el área bajo la curva esfuerzo-deformación de una muestra lentamente cargada bajo tensión hasta llegar a la fractura. Los valores de esfuerzo-intensidad para un esfuerzo aplicado se incrementan con la longitud de la grieta en el material. Existen dos categorías para la mecánica de la fractura: La mecánica de la fractura elástico-lineal (LEFM), y la mecánica de la fractura elástico-plástica (EPFM). La mecánica de la fractura elástico-lineal se emplea si la punta de una grieta en un cuerpo es aguda y solamente existe una pequeña cantidad de deformación plástica cercana a la punta de dicha grieta. Algunos materiales diseñados usando conceptos de la mecánica de la fractura elástico-lineal son los aceros de alta rigidez, titanio y aleaciones de aluminio. La mecánica de la fractura elástico plástica se emplea cuando la punta de la grieta no es aguda y existe alguna cantidad de plasticidad entre la grieta y su punta (abultamiento). La mecánica de la fractura elástico-plástica también se emplea para el diseño de materiales como los aceros de baja resistencia y alta tenacidad. También la EPFM se emplea para la evaluación de compuestos de matrices cerámicas (21).

La mecánica de la fractura elástico lineal llevada al análisis de falla asume que una muestra contiene una falla o grieta. La grieta es una superficie plana en un campo de esfuerzos elástico lineal, y la energía liberada durante la propagación rápida de la misma es una propiedad básica del material, y no está influenciada por el tamaño de las partes. La tecnología empleada para el análisis de la mecánica de la fractura elástico-lineal está basada en un procedimiento analítico que relaciona la magnitud esfuerzo-campo y su distribución en la vecindad de la punta de la grieta al esfuerzo nominal aplicado a la estructura. Relaciona también el tamaño, la forma y la orientación de la grieta o de la imperfección con forma de grieta, además de otras propiedades de los materiales.

Una grieta en una parte cargada genera su propio campo de esfuerzos en las cercanías de la grieta aguda, la cual puede ser caracterizada por un parámetro único llamado intensidad del esfuerzo ( $K$ ). Esta intensidad de esfuerzos representa un único parámetro que incluye tanto el efecto del esfuerzo aplicado como el efecto de una grieta de un tamaño dado en la muestra. También puede tener relación con el esfuerzo aplicado y el tamaño de la muestra, o la relación puede tener factores de geometría complejos para cargas complejas, varias configuraciones de componentes estructurales reales y variaciones en las formas de las grietas.

La propagación rápida de la grieta es controlada únicamente por una constante del material, llamada factor de intensidad-esfuerzo crítico ( $K_c$ ) donde la propagación de la grieta se vuelve rápida. Entre mayor sea el valor de  $K_c$ , mayor va a ser el esfuerzo requerido para producir propagación rápida, y mayor va a ser la resistencia del material a una ruptura frágil. El valor crítico esfuerzo-intensidad es determinado usando muestras de laboratorio relativamente simples. La **Figura 8** define tres modelos de carga: modo I, abierta o de tensión; modo II, deslizante o cortante; y modo III, de desgarro. Los conceptos de la mecánica de la fractura son esencialmente los mismos para cada modo. Sin embargo, la gran mayoría de las grietas y fracturas actualmente son problemas del modo I, Una grieta en la etapa temprana de desarrollo tendrá la tendencia de direccionarse hacia donde se comporte en modo I, a menos que se le evite mediante confinamiento geométrico. Debido a esto, la mecánica de la fractura está generalizada al modo I (13).



*Figura 8. Modos de carga: Modo I (modo de apertura): tensión de tracción en la dirección y, perpendicular a la superficie de la grieta. Modo II (borde- modo de deslizamiento): esfuerzo cortante en la dirección x, o perpendicular a la punta de la grieta. Modo III (“Standard terminology relating to fracture testing” E 616 Annual book of ASTM Standards, vol 3,01, ASTM)*

La nomenclatura para  $K_c$  es modificada para incluir la forma de la carga. Por ejemplo,  $K_{Ic}$  es el factor de intensidad de esfuerzos, o tenacidad a la fractura en el modo de carga I. La vasta mayoría de ensayos para determinar la tenacidad a la fractura son llevados a cabo bajo el modo de carga I. Por lo tanto, muchos de los valores de tenacidad a la fractura se dan en  $K_{Ic}$ . El factor de intensidad de esfuerzos,  $K_I$ , para la punta de una grieta en cualquier cuerpo sometido a un esfuerzo de tensión,  $\sigma$ , perpendicular al plano de la grieta (deformación de modo I) está dado por la relación

*Ecuación 2*

$$K_I = \sigma f(g)$$

Donde  $\sigma$  es la longitud de la grieta y  $f(g)$  es una función que toma en cuenta la geometría de la grieta y la configuración estructural. Esta relación general hace posible traducir resultados de laboratorio a información práctica de diseño sin la necesidad de una experiencia exhaustiva previa por parte del investigador o de múltiples correlaciones. De esta manera y relacionando los factores de intensidad-esfuerzo con indentaciones de dureza, es posible asociar los esfuerzos realizados durante ensayos de dureza con las tenacidades presentadas por el material, según lo descrito por K. Niihara, R. Morena, D. P. H. Hasselman hacia 1982. La tenacidad a la fractura aparente para cada indentación puede entonces ser calculada como (22):

### Ecuación 3

$$K_{c(ap)} = 0.0084 \left( \frac{E}{HV} \right)^{2/5} \left( \frac{2P}{L} \right) \frac{1}{c^{1/2}},$$

donde  $E$  es el módulo de elasticidad del esmalte ( $GPa$ ),  $HV$  es la dureza Vickers ( $GPa$ ),  $P$  es la carga de indentación ( $kg$ ),  $L$  es la longitud promedio de la diagonal ( $m$ ) y  $c$  es la longitud promedio de las grietas ( $m$ ). Por ende, mediante este método, materiales como el esmalte dental pueden ser estudiados en sus propiedades mecánicas ampliamente siempre y cuando cumplan las condiciones requeridas matemáticamente para que la ecuación anterior (por ejemplo) pueda ser aplicada.

### 4.2.3 Fragilidad

Cabe añadir, que mediante el estudio de las propiedades anteriormente mencionadas, que es posible relacionar las propiedades como dureza, tenacidad a la fractura y el módulo de elasticidad del material con la fragilidad presentada por el mismo. La fragilidad puede ser definida como la tendencia de un material a fracturarse o fallar bajo la aplicación de una carga sin mostrar deformación plástica apreciable previamente a la falla (19) (13). Materiales que poseen fragilidad baja tienen la capacidad de absorber energía, y deformarse antes de fallar. Por el contrario, materiales con una alta fragilidad, no presentan deformaciones previas a la falla, y en ellos la propagación de las grietas inducidas bajo carga son mucho más rápidas sin hallar una oposición relativa.

De acuerdo a este principio, existe una ecuación que relaciona la Dureza, Tenacidad a la fractura y Módulo de elasticidad con la fragilidad del material (23):

### Ecuación 4

$$B = \frac{HV_c * E}{K_{1c}^2},$$

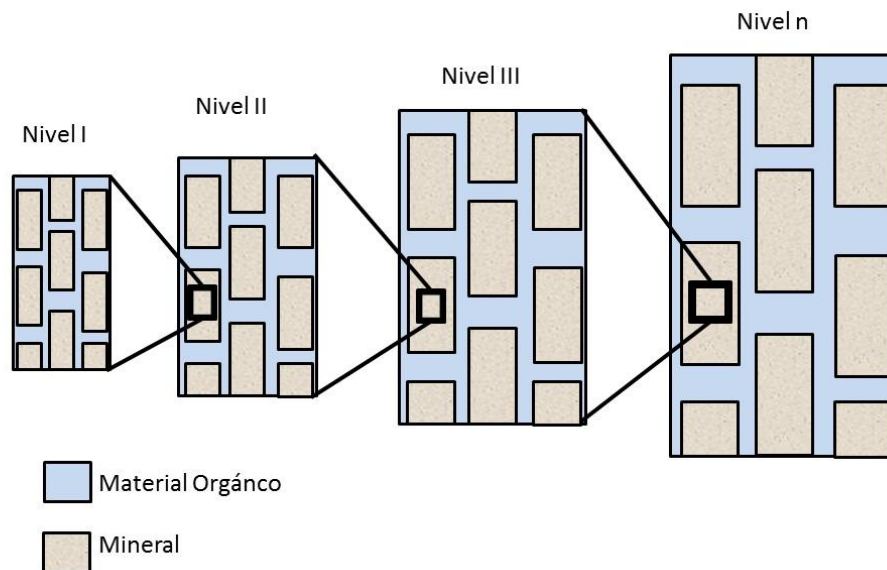
La dureza ( $HV$ ), que permite conocer la capacidad del material a oponerse a la penetración, la tenacidad a la fractura ( $K_{Ic}$ ), como la capacidad del material para absorber energía, y el módulo de elasticidad ( $E$ ), como la relación que existe entre los esfuerzos aplicados en un material y su capacidad de deformarse bajo carga, son las tres características que pueden relacionarse para obtener la fragilidad del material y definir otra de sus características mediante un ensayo estandarizado internacionalmente.

Para entender el comportamiento mecánico del esmalte dental desde sus características estructurales y su composición, es necesario referirse a los resultados obtenidos por *Li Hong He et al* (24), en el cual se realiza un análisis preciso acerca de los factores que llevan al esmalte dental a presentar un comportamiento particular, como ha sido presentado por diferentes autores. Es interesante recalcar que en dicho artículo, al igual que en muchos otros, los autores asumieron que eran dos los factores que influenciaban el comportamiento mecánico del diente: ***Su estructura jerárquica y su componente orgánico.***

### **4.3 ESTRUCTURA JERÁRQUICA DE LOS MATERIALES NATURALES**

En casi todos los materiales es posible ver una estructura jerárquica, especialmente cuando los cambios a diferentes escalas espaciales permiten obtener diferentes mecanismos de deformación y absorción de energía (4) (5). Sin embargo, en los materiales biológicos, esta organización jerárquica es inherente a la microestructura. En el hueso, por ejemplo, el colágeno es la estructura básica de la matriz orgánica (una hélice triple con diámetro de 1,5 nm. Estas moléculas de tropocolágeno se intercalan con una fase mineral, la hidroxiapatita (fosfato de calcio) formando fibrillas que “ondulan” o se “curvan” en forma helicoidal en direcciones alternas, formando, a una escala mayor, lo que se conoce como osteones. Estos osteones son la estructura principal de los huesos, con una distribución de fracción de volumen entre las fases mineral y orgánica de 60/4 (4) 0 (5).

Es un aspecto único que define los materiales biológicos, como se muestra en el hexágono de la figura 2. Se puede pensar que los materiales sintéticos son jerárquicos, pero en muchos casos éstos materiales llegan a alcanzar 2 o 3 niveles, cuando los materiales biológicos tienen entre 4 y 8 niveles (**figura 9**) (4) (5). En los materiales sintéticos la fuerza mecánica es disipada o aplicada (dependiendo del caso) principalmente debido a su estructura micrométrica y milimétrica. Además, el módulo de elasticidad es el resultado directo de uniones interatómicas, así que los granos en los metales y las fibras en los compuestos son los principales niveles jerárquicos. Los materiales biológicos tienen una importante diferencia: la habilidad para autorrepararse, gracias a las células que se encuentran en el material extracelular, por ende, este material puede recobrar sus propiedades originales.



*Figura 9. Diagrama esquemático sobre las similitudes jerárquicas entre los diferentes niveles.*

El reconocimiento de que la jerarquía estructural es una característica esencial en los materiales biológicos lleva a un análisis de naturaleza más rigurosa, más allá de los esquemas descriptivos como el de la figura 2. La descripción analítica planteada por el grupo de investigación de Gao (25) (26) (27) (28) es necesaria para el entendimiento. La **Figura 9** muestra una estructura jerárquica construida de una forma simple y lógica: Tres

niveles diferentes son geoméricamente similares, y su única diferencia es la escala. Existen dos componentes: la fase cerámica discontinua y la fase continua de colágeno, a pesar de que dicho gráfico es únicamente una aproximación pues asume que todos los niveles son geoméricamente similares. En realidad cada nivel jerárquico posee su propia estructura. Existen suficientes evidencias literarias que muestran cómo propiedades como la dureza, disminuye sustancialmente al aumentar la escala, lo cual se da como resultado de la existencia de cambios de dimensiones cada vez más grandes al incrementar el tamaño de la muestra (**Figura 9**). La disminución de la dureza está conectada directamente con la cada vez mayor cantidad de defectos siempre que se aumenta la escala de la indentación. En el caso de los minerales, la resistencia alcanza los valores teóricos (aproximadamente un décimo del módulo de elasticidad) al reducir la escala a niveles nanométricos. El aumento de la tenacidad, por el contrario, se da al aumentar la escala de la muestra, en contraparte del decrecimiento de la dureza. Una grieta, al propagarse, encontrará barreras intrínsecas y extrínsecas. La naturaleza y efectividad de este mecanismo cambia de acuerdo a la escala jerárquica, y explica el incremento de la tenacidad. Los niveles jerárquicos establecen un balance entre estas dos propiedades mecánicas (4) (5) (29).

De acuerdo a estos comportamientos en su estructura jerárquica, las propiedades de la gran mayoría de los materiales naturales van a presentar, a diferencia de los materiales sintéticos, un notable comportamiento mecánico a pesar de que su composición química es igual y muchas veces peor que la que compone los materiales creados por el hombre. De estos materiales naturales, se sabe de los comportamientos excepcionales de algunos como el hueso humano, los músculos, ligamentos, cartílagos y dientes. Estos últimos, a pesar de tener una composición mineral cercana al 96% de su estructura total (4) (5) (17) (23) (30), presenta un comportamiento mecánico peculiar si se compara con cada uno de los elementos que lo componen (hidroxiapatita, en mayor cantidad) de manera

independiente, debido a que su organización microestructural le confiere un mejor desempeño mecánico, incluso mejor que el de elementos metálicos a pesar de que esta estructura puede ser considerada como un cerámico natural (31).

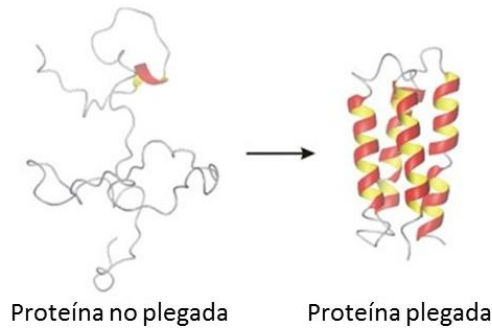
#### 4.4 *COMPONENTE ORGÁNICO*

Las proteínas son un tipo de biopolímero con propiedades viscoelásticas derivadas de re-arreglos en su configuración, su disposición y su interacción entre macromoléculas tanto en las relaciones de corto y largo rango. Bajo cargas de indentación, las cadenas de dichas macromoléculas se pueden deformar cambiando su ángulo, desdoblándose e incluso cambiando su posición, exactamente como lo harían los polímeros ordinarios. Las respuestas a la redistribución local es rápida, y la respuesta a interacciones de alto rango es lenta antes de obtener un nuevo arreglo de configuraciones. Desde un punto de vista termodinámico, estos cambios en las macromoléculas son inestables. Luego de la descarga, las moléculas tienen la tendencia de volver a sus formas y posiciones iniciales.

Las propiedades nanomecánicas de las macromoléculas biológicas han atraído un alto interés recientemente, debido a que ha sido posible calcular su rigidez en muestras a escalas micro y nanométricas mediante el uso de microscopía de fuerza atómica (AFM). Mediante un gráfico fuerza – desplazamiento obtenido gracias al uso de esta herramienta, el comportamiento de las proteínas puede ser entendido. Esta técnica ha sido extendida para la medición de propiedades mecánicas de diferentes muestras, como proteínas estructurales (32)], hueso (33), los pares antígeno-anticuerpo (34) y estructuras del ADN (35). Debido a que las proteínas son heterogéneas y anisotrópicas en su arquitectura básica a nivel atómico, las propiedades mecánicas de estas estructuras moleculares son totalmente diferentes a las de materiales con mayores valores volumétricos. Muchos

comportamientos particulares de las macromoléculas proteínicas han sido reportados y analizados de forma exitosa por *Ikai* (36).

De forma general, las cadenas peptídicas de las moléculas de proteínas están plegadas entre sí formando estructuras secundarias y terciarias (**figura 10 y 11**).



*Figura 10. Plegamiento de proteínas. Gracias a la habilidad de las proteínas de plegarse en diferentes formas, se pueden obtener una variada cantidad de características funcionales. Figura tomada y adaptada de <http://www.news.cornell.edu/stories/Aug06/ProteinFoldingScheraga.kr.html>*

Las curvas de fuerza–desplazamiento obtenidas mediante AFM vienen a ser el reflejo de propiedades mecánicas de diferentes estructuras secundarias y terciarias. Condiciones desnaturizantes cambian las propiedades nanomecánicas de las proteínas de manera dramática, según lo expuesto por *Wang e Ikai* (37), aunque existen proteínas resistentes altamente a condiciones desnaturizantes como lo expone *Semistonov* (38).

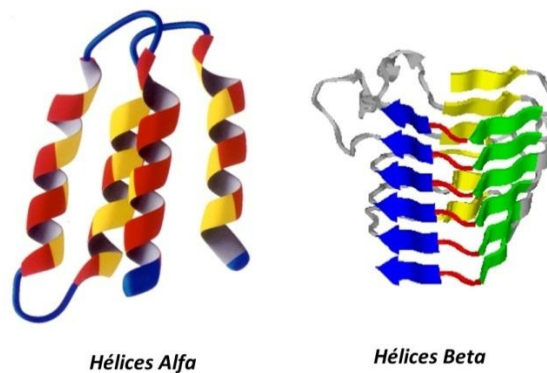
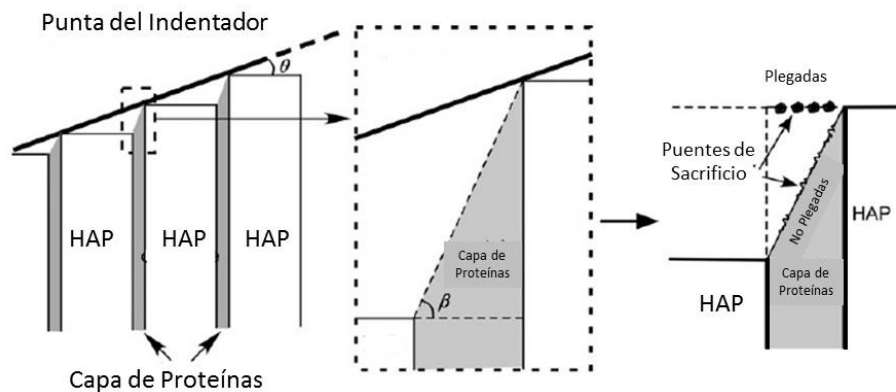


Figura 11. Esquema de proteínas tipo Alfa (izquierda en forma de espiral) y Beta (derecha, en forma de "hoja"). Dependiendo de los puentes de hidrógeno entre sus estructuras se crean diferentes formas. Imagen tomada y adaptada de <http://groups.csail.mit.edu/cb/betawrappro/>

Como consecuencia de los experimentos realizados mediante el AFM, se encontró un comportamiento único para las proteínas el cual mostraba una recuperación en los puentes de su dominio, y fue llamado "puentes" (32) (39). Las moléculas que contienen este comportamiento muestran un patrón semejante al de una "sierra dentada" o "escalonado" (**figura 12**).

Los experimentos encontraron que la fuerza poseía alta dependencia en la velocidad a la cual se realizaban los esfuerzos en las proteínas. Entre mayor es la velocidad a la cual se realiza el esfuerzo en cada proteína, mayor es la fuerza necesaria para romper sus puentes (32) (40). Además, estas estructuras mostraban recuperación luego de la descarga. Entre mayor era el tiempo entre las diferentes aplicaciones de fuerza, mayor era la recuperación entre los puentes de las proteínas al momento de la relajación. Además, el comportamiento de la curva en forma de escalones es el resultado de esfuerzos realizados en puentes de hidrógeno básicos en el inicio del ensayo mecánico gracias a las fuerzas de estiramiento aplicadas en el proceso (41). Aunque los componentes individuales del tipo de unión que presentan las proteínas pueden ser débiles (puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas, entre otras), gracias a la gran cantidad de estas uniones en cada una de las moléculas proteínicas su fuerza de ruptura se multiplica significativamente lo cual afecta el comportamiento y la tenacidad del material.



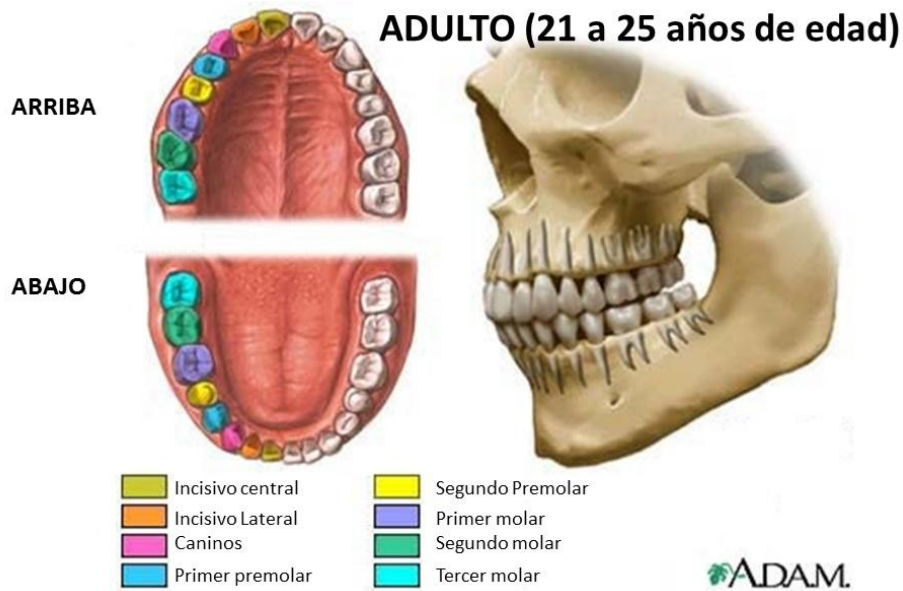
*Figura 12 Ilustración esquemática de deformación inducida por contacto mediante un indentador Berkovich y los mecanismos de deformación molecular de las proteínas durante el contacto de la indentación (He, 2008).*

Como resultado, sin importar si las proteínas se comportan como un biopolímero o muestran propiedades nanomecánicas especiales, la respuesta masiva del material cuando se encuentra en volúmenes altos será no-lineal o inelástico. Estos hallazgos pueden ayudar a entender las bases de las excepcionales propiedades mecánicas del esmalte, debido a que este tejido duro posee gran cantidad de proteínas dispersas en un tipo de película entre los prismas de hidroxiapatita, las cuales pueden explicar las disminuciones en propiedades del esmalte dental como la dureza, o el importante aumento de la tenacidad en dicho material.

#### **4.5 EL DIENTE COMO TEJIDO NATURAL**

El diente es un órgano anatómico duro, enclavado en los alveolos de los huesos maxilares a través de un tipo especial de articulación denominada gonfosis, y en la que intervienen diferentes estructuras que lo conforman, como el cemento dentario y el hueso alveolar, ambos unidos por el ligamento periodontal. La estructura del diente está diseñada para poseer una capa exterior muy dura, y un núcleo interno más tenaz.

Los dientes ordenados desde el centro hacia las mandíbulas son los incisivos, los caninos, los premolares y los molares (**figura 13**).

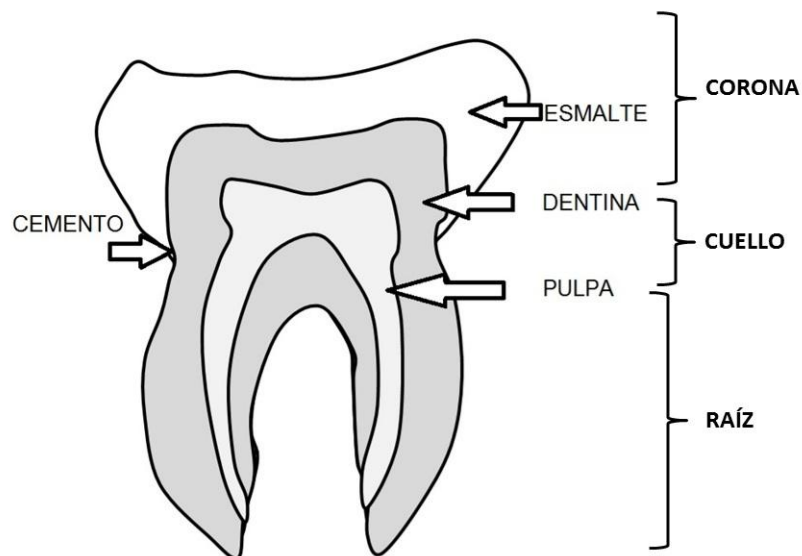


*Figura 13. Esquema de la organización dental en pacientes adultos. Figura tomada y adaptada de <http://www.umm.edu/imagepages/18162.htm>*

#### 4.5.1 Partes y Estructura del diente

El Diente posee corona, cuello y raíz (**figura 14**). Cada tipo de diente tiene un aspecto característico. La corona se proyecta de la encía. El cuello es la parte del diente situada entre la corona y la raíz, La raíz se introduce en el alvéolo a través de la membrana periodontal fibrosa (42) (43) (44). Casi todo el diente se compone de dentina, cubierta de esmalte sobre la corona, y de cemento sobre la raíz (44). La cavidad pulpar contiene tejido conjuntivo, vasos sanguíneos y nervios. La Pulpa es un sistema de tejido conjuntivo laxo formado por células, sustancia fundamental y fibras. Las células fabrican una matriz fundamental que después actúa como base y precursor del complejo fibroso, el principal y relativamente estable producto final del sistema. El complejo fibroso está compuesto principalmente por colágeno y reticulina. El fibroblasto es un tipo de célula que sintetiza y

mantiene la matriz extracelular del tejido de muchos animales. Estas células proporcionan una estructura en forma de entramado (estroma) a muy diversos tejidos y juegan un papel crucial en la curación de heridas, siendo las células más comunes del tejido conectivo. Se derivan de células primitivas mesenquimales y pluripotenciales (42) (43) (44) (45). Las células estomales que potencialmente se pueden transformar en fibroblastos, osteoblastos, adipocitos y células musculares, se identifican en cultivos de médula ósea como células adherentes. El fibroblasto sintetiza colágeno y mucopolisacáridos de la sustancia amorfa. Migra y prolifera durante la cicatrización de heridas. Cuando el fibroblasto disminuye su actividad se lo denomina fibrocito, el cual no puede dividirse. La restitución del tejido conectivo se efectúa mediante el crecimiento de fibroblastos jóvenes. Los fibrocitos son fusiformes con pocas prolongaciones, núcleo pequeño, alargado y más denso que el de los fibroblastos. Los fibroblastos son morfológicamente heterogéneos, con diversas apariencias dependiendo de su localización y actividad.

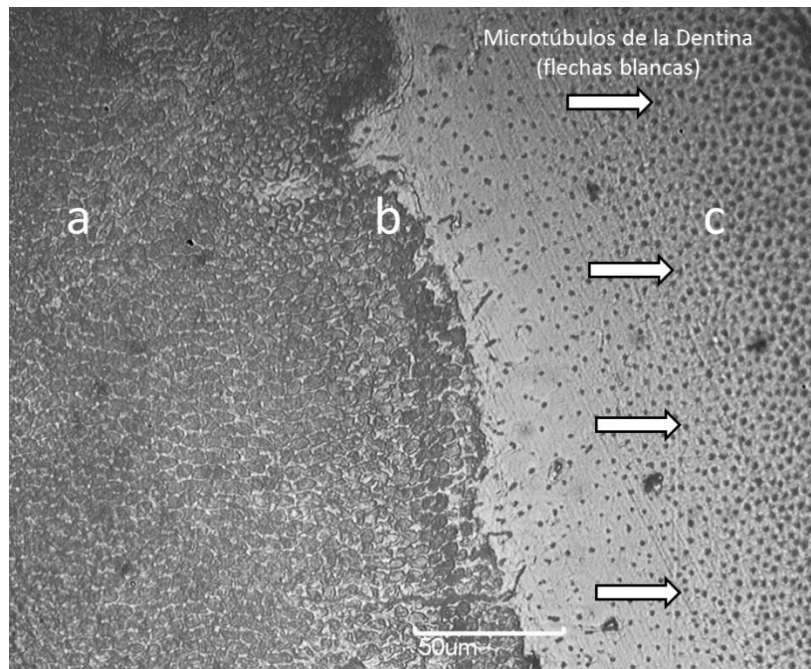


*Figura 14. Esquema del diente. Se diferencian la corone, el cuello y la raíz además de su estructura interna, compuesta por el esmalte, la dentina, la pulpa y el cemento a dentina está cubierta por esmalte en la corona y cemento en la raíz, y rodea toda la pulpa (42) (44). Por peso, el 70% de la dentina consiste en hidroxapatita (HAP) mineral, 20% es materia orgánica y el restante 10% es agua (42) (44). Posee una apariencia amarilla, lo cual suele afectar el color del diente debido a la translucidez del esmalte.*

#### *4.5.1.1 La Dentina*

La dentina contiene canales microscópicos llamados microtúbulos, que la recorren desde la pulpa hacia el exterior, bien sea hacia el cemento o el esmalte (42) (43) (45) (44)(**figura 15**). Estos túbulos contienen fluidos y estructuras celulares. Como resultado, la dentina tiene cierto grado de permeabilidad, el cual puede incrementar la sensación de dolor.

Existen tres tipos de dentina: Dentina primaria, secundaria y terciaria. La dentina primaria es la capa más externa y más prominente de la dentina, la cual limita con el esmalte dental. La capa que limita con el esmalte dental es llamada dentina manto, la cual es formada por odontoblastos diferenciados y forma una capa de espesor de aproximadamente 150 micrómetros. Esta capa de dentina es muy poco mineralizada, además de tener fibras de colágeno empaquetadas en su interior. Bajo esta capa se encuentra la dentina circumpulpar, una capa de dentina más mineralizada, y es formada luego de que se completa la formación de la raíz. La dentina recién secretada no está mineralizada y es llamada predentina. Está compuesta de colágeno, glicoproteínas y proteoglicanos, y generalmente tiene un espesor que varía desde 10 hasta 47 micrómetros (44) (45) (42).



*Figura 15. Microfotografía de la estructura dental. En a) se aprecian los prismas de hidroxiapatita en el esmalte dental, que asemejan escamas. En b) se encuentra la unión amelodentinaria. Es posible apreciar los microtúbulos que atraviesan la dentina c) desde la pulpa hasta el esmalte (flechas blancas).*

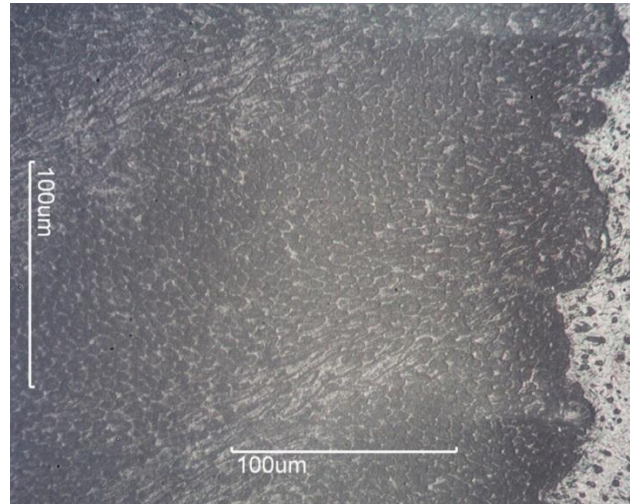
La dentina secundaria es formada luego de que la formación de la raíz se completa, normalmente luego de que el diente ha erupcionado y es funcional. Tiene una estructura similar a la dentina primaria, y el alto crecimiento de este tipo secundario de dentina es el que genera que la cámara de la pulpa decrezca con los años

La dentina terciaria es formada como reacción a estimulación externa como caries. La arquitectura y estructura de este tipo de dentina depende de la intensidad del estímulo y de su duración (42) (45).

#### **4.5.1.2 El Esmalte**

En el diente humano, el esmalte está compuesto en un 96% de apatita de calcio, también conocida como hidroxiapatita (HAP)  $(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$  y un 4% de materia orgánica (1% proteínas y 3% agua) (42) (43) (45) (44) (46) (47). Gracias al alto contenido mineral del esmalte el diente es el material biológico más duro y posiblemente el más fuerte en el cuerpo humano. Tanto en dientes primarios (de leche) como en dientes adultos, el

esmalte es la estructura externa que envuelve la corona. Es casi totalmente mineralizada con cristales de Hidroxiapatita altamente organizados, haciéndolo mecánicamente duro u altamente resistente al desgaste (46) (47) (30) (48) (**figura 16**).



*Figura 16. Prismas de hidroxiapatita. Estos forman la estructura del esmalte dental. Puede apreciarse cierto cambio en el sentido de los prismas, lo cual es muy común al acercarse a la dentina, la cual se encuentra a la derecha.*

La microestructura del esmalte posee prismas alineados casi perpendiculares desde la unión dentina – esmalte (DEJ) hacia la superficie dental. Cada prisma está compuesto de cristales de hidroxiapatita carbonatada embebidos en una matriz orgánica. Dichos prismas tienen forma plana hexagonal. La dureza de la capa externa del esmalte se debe al alto grado de mineralización.

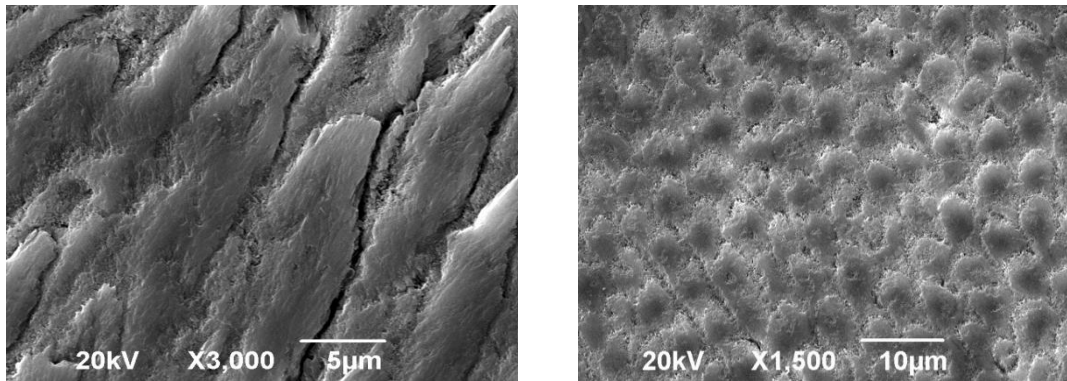
## **4.5.2 INVESTIGACIONES PREVIAS ACERCA DEL COMPORTAMIENTO MECÁNICO DEL ESMALTE DENTAL**

### **4.5.2.1 Organización Anisotrópica del esmalte**

Estudios previos presentados por (29), acerca de la organización biológica de los cristales de hidroxiapatita y su organización anisotrópica en el esmalte dental, fueron llevadas a cabo debido a las dudas que generaban lo poco comunes que eran las fracturas e dicha parte del diente, lo cual distaba de las propiedades de los materiales anisotrópicos. Allí se dio una mirada a la organización de los prismas del esmalte en las diferentes etapas desde

la dentina hacia la superficie oclusal. Además, en la investigación realizada por *White y colaboradores*, también se encontró que el esmalte dental era al menos tres veces más tenaz que la hidroxiapatita mineral, encontrada geológicamente, obteniendo resultados de tenacidad para el esmalte paralelo a los prismas de  $0,9 \text{ MPa} \cdot \text{m}^{1/2}$  y perpendicular a los prismas de  $1,3 \text{ MPa} \cdot \text{m}^{1/2}$ , cuando el obtenido para la hidroxiapatita geológica fue de  $0,37 \text{ MPa} \cdot \text{m}^{1/2}$  lo cual demuestra la importancia crítica de la “manufactura” biológica. Además luego de la realización de pruebas de dureza, se encontró que los cristales de apatita geológicos son mucho más duros que los del esmalte ( $5,4 \text{ GPa}$  el valor hallado para la dureza de la hidroxiapatita geológica versus  $3,0 \text{ GPa}$  para el esmalte dental), lo cual sugiere que la inclusión de contaminantes biológicos como proteínas, afectan las propiedades del esmalte.

Aunque las tenacidades halladas para los prismas de hidroxiapatita paralelos y perpendiculares difieren, solamente se encuentra que el cambio de sus tenacidades es 1,4 veces mayor para los prismas perpendiculares que para los prismas paralelos (**figura 17**). Esto demuestra que la anisotropía se presenta, sin embargo el efecto de la orientación de los prismas era bajo, lo cual sugiere que muchos cristales se orientan en planos que difieren substancialmente de los de la dirección principal de dicho prisma, y que estos prismas poseen conexiones entre sí. Por lo tanto, se supuso, en la publicación de *White et al* (29) que el esmalte posee mecanismos que limitan el crecimiento de las grietas en su interior. El esmalte es modestamente anisotrópico. La cantidad de anisotropía refleja cierto balance entre la protección del esmalte de los esfuerzos funcionales más comunes y protección para los esfuerzos funcionales o accidentales no tan comunes.

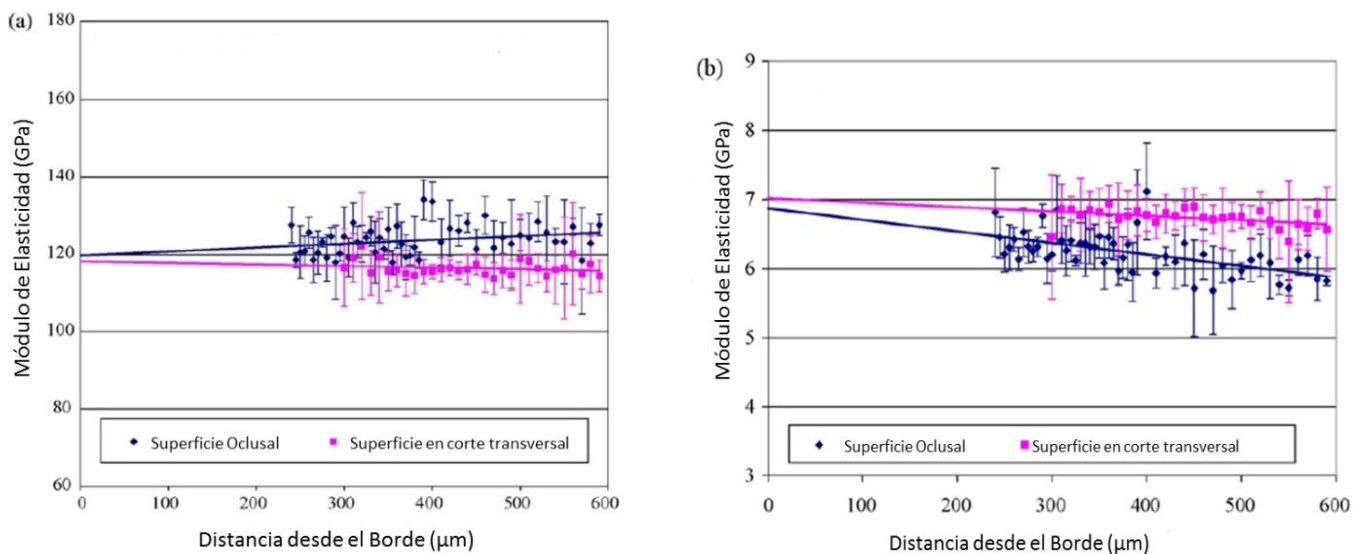


*Figura 17. Orientación de los prismas de hidroxiapatita en el esmalte humano. A la izquierda, los prismas son perpendiculares al observador. A la derecha, los prismas son paralelos al observador. Los cambios en las tenacidades dependiendo de la orientación son de 1,4 veces mayor para los prismas perpendiculares.*

#### **4.5.2.2 Composición química del esmalte**

Sin embargo, el efecto de las variaciones en el contenido químico del esmalte dental es también muy significativo, pues dependiendo de la cantidad de estos sus propiedades pueden variar, tal y como lo describieron A. Braly y colaboradores. Luego de conocer gran cantidad de estudios acerca de los cambios de las propiedades mecánicas del esmalte dental, como la dureza y el módulo de elasticidad, que daba pie a hipótesis como que la variación encontrada era debido a variaciones en la química local del esmalte (variando en contenido orgánico, mineral y de agua) desde el esmalte externo hacia a unión dentina-esmalte. Otra de dichas hipótesis proponía que las variaciones en las propiedades mecánicas se debían a la anisotropía del esmalte debido a las diferencias en la orientación de los prismas dependiendo del sitio del ensayo. Mediante el uso de nanoindentación, los investigadores procedieron a realizar ensayos de indentación en superficies donde los prismas eran totalmente perpendiculares al observador y, a su vez, en superficies donde dichos prismas eran paralelos. Se encontró que el módulo de elasticidad tenía mayores valores en la superficie oclusal, donde los prismas son perpendiculares, que en la superficie tangencial, donde los prismas son paralelos (**figura 18a**). Sin embargo, la dureza encontrada al realizar los ensayos en ambos sentidos, era mayor en la superficie tangencial que en la superficie oclusal (**figura 18b**). Los resultados obtenidos demostraban que si había variaciones en las propiedades mecánicas al comparar ambos sentidos, sin

embargo estadísticamente no eran significativas dichas variaciones, lo cual dio pie a concluir que en realidad la gran influencia en los cambios para comportamientos mecánicos en el esmalte la daban las proporciones de diferentes elementos, como el agua, proteínas en el interior del diente y contenido mineral como la hidroxiapatita, y la distribución de dichos elementos en el diente, generando un equilibrio en las propiedades del diente visible más que todo al comparar los resultados encontrados para diferentes capas del esmalte dental.

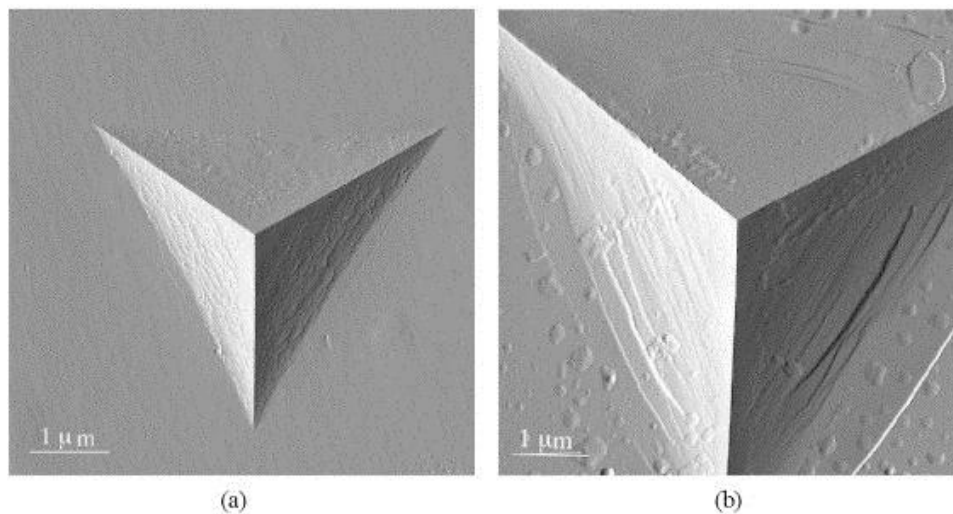


*Figura 18. Comparación de los módulos de elasticidad (a) y las durezas (b) obtenidas mediante técnicas de nanoindentación en el esmalte dental. Las diferencias más relevantes se observan en la parte (b), donde se puede observar un cambio apreciable. Imagen tomada y adaptada de Braly y colaboradores (49)*

#### 4.5.2.3 Nuevas Metodologías para el análisis mecánico del esmalte.

Los avances en materia tecnológica trajeron también avances en los métodos de análisis del comportamiento mecánico del esmalte dental. J. L. Cuy y colaboradores, (50) publicaron hacia el año 2002 un análisis de las propiedades del esmalte molar en humanos, mediante el uso de la nanoindentación como herramienta fundamental para dicha investigación. Varias indentaciones fueron realizadas a profundidades entre 400 y 800 nm, utilizando un indentador Berkovich piramidal, lo cual permitió obtener a los investigadores datos exactos tanto de la dureza de las muestras dentales como su módulo

de elasticidad (**figura 19**). A diferencia de lo hallado por *Li Hong* (51), este estudio, además de los resultados encontrados anteriormente, dio pie a una caracterización química de cada uno de los componentes y su rol en el comportamiento mecánico del esmalte. La mayor cantidad de CaO y P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> se encontró en la capa externa del esmalte, en el mismo lugar donde fueron hallados los mayores valores de dureza y del módulo de elasticidad para las muestras, e igualmente, las zonas donde estos componentes (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> y CaO) se hallaron en menor cantidad (en el esmalte interno) fueron las zonas que exhibieron el menor valor tanto del módulo de Young como de dureza.



*Figura 19. Nanoindentación Berkovich para utilizada para calcular dureza, módulo de elasticidad, y otras propiedades mecánicas. Microfotografía tomada de Nakonechna et. Al.*

Es de gran importancia notar que la reducción de mineralización cerca a la unión dentina-esmalte, según los autores, está asociada con el incremento en las porosidades y en la cantidad de agua, lo cual puede reducir los valores de *H* y *E* (**Figura 20**). Además, consistente con hallazgos anteriores, los autores consideran de gran importancia tener en cuenta la alineación de los prismas de hidroxiapatita al realizar las pruebas, ya que se compararon tanto los resultados obtenidos en indentaciones paralelas a los prismas como indentaciones perpendiculares a los mismos, encontrando que la dureza aumentaba en las últimas al igual que el módulo de elasticidad, en un 26 y 27% respectivamente.

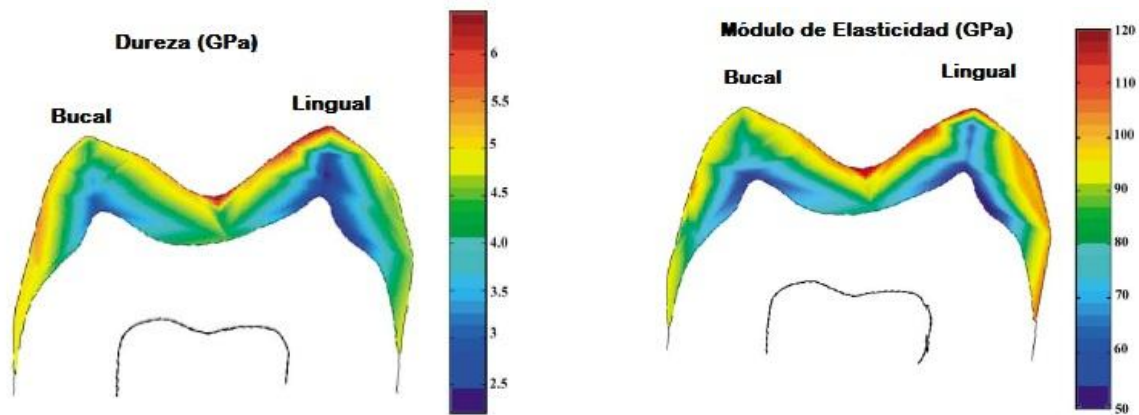


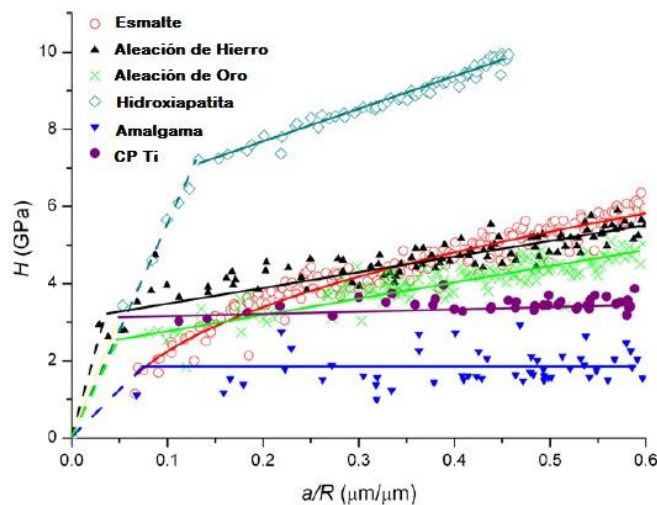
Figura 20. Cambio en las propiedades mecánicas a través de diferentes zonas del esmalte dental (J. L. Cuy et al., Archives of Oral Biology 47 (2002) 281 - 291)

La mayor importancia de este análisis tal vez recae en la última de sus conclusiones, la cual habla del grosor del esmalte dental, en donde es mayor en las cúspides linguales que en las bucales (es mayor en la parte orientada hacia la lengua que hacia el exterior). Esto es resaltado por otros autores como *Khera*, *Macho* y *Schwartz* (52) (53) (54), lo cual sugiere que un mayor grosor en las muestras puede reducir los esfuerzos de tensión en las regiones intercusales al someterse a cargas, lo cual resulta en un mecanismo de “escudo” para disminuirlos esfuerzos en el interior del diente. Esto se ve reflejado en la figura 20, lo que puede sugerir a su vez que la función del diente puede llevar a una distribución poco uniforme de las propiedades mecánicas del esmalte dental.

#### 4.5.2.4 Desempeño mecánico del esmalte y comparaciones con otros materiales

Hacia el año 2006 se publicó un estudio realizado por *Li Hong He* y colaboradores acerca del comportamiento del esmalte dental, y su comparación con el comportamiento de diferentes materiales, algunos de ellos metálicos, como aleaciones de oro (aleación de oro tipo IV, ITI Straumann, Suiza), aleación de hierro (Wiron 99, BEGO, Alemania), Titanio puro comercial (T-alloy, GC Japón), amalgamas de uso dental (amalgamas de clase I) e hidroxiapatita geológica. Mediante ensayos de esfuerzo vs deformación y la generación de curvas de creep, se obtuvieron resultados que evidencian que el comportamiento mecánico del esmalte en el diente es mucho más parecido al mostrado por las aleaciones

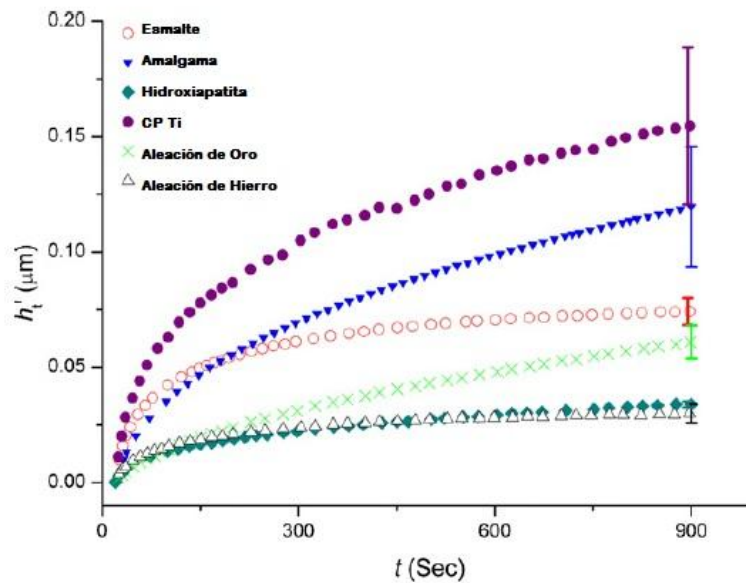
metálicas que a la hidroxiapatita, a pesar de que esta es el componente principal de la capa más externa del diente. En el ensayo esfuerzo vs deformación se encontró que el esmalte mostraba una curva leve, sin un punto de transición prominente entre las zonas plásticas y elásticas, mucho más adecuada al comportamiento del oro y de la aleación de hierro que del comportamiento hallado para la hidroxiapatita. En la **Figura 21** se muestran los resultados encontrados.



*Figura 21. Relación Esfuerzo – Deformación en diferentes materiales. Las líneas sólidas representan partes plásticas, y líneas discontinuas representan parte elástica del material (Li Hong He, Michael V. Swain, Enamel-A “metallic-like” Biocomposite, Journal of Dentistry 35, 2007; 431-437)*

Además, mediante el uso de nanoindentación, se logró encontrar el comportamiento de creep de los diferentes materiales a una carga de 250 mN. Al realizar los estudios se encontró que las amalgamas alcanzaban el máximo comportamiento de creep de todos los materiales evaluados, seguido por el titanio, aunque mostraban cierta dispersión en los datos obtenidos. El esmalte, por otro lado, demostró poseer una respuesta de creep relativamente estable y muy semejante a la respuesta encontrada para la aleación de oro. Esto puede verse en la **Figura 22**. Las conclusiones luego de hallar dichos resultados fueron muy significativas, puesto que *Li Hong He* asegura que, a pesar de que el mayor componente del esmalte es la muy frágil hidroxiapatita, su comportamiento mecánico era mucho más semejante al de los metales igualmente evaluados. Según dicho estudio, en

vez de depender de dislocaciones como los materiales metálicos para adquirir sus propiedades, el esmalte dental adquiere su comportamiento peculiar gracias a la presencia de proteínas en su interior, lo cual podría proporcionar a los investigadores en materiales de alternativas para el diseño microestructural de materiales para la restauración dental o para muchas otras aplicaciones.



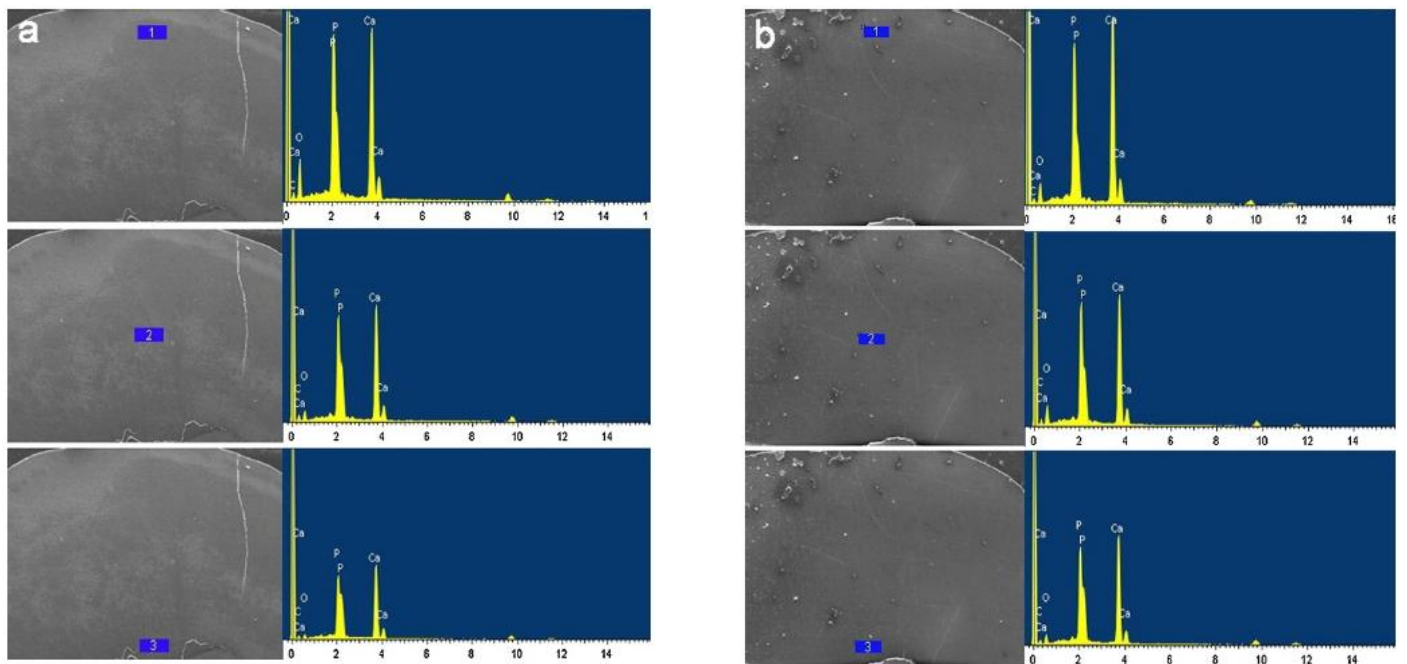
*Figura 22. Curvas profundidad de indentación versus tiempo ( $h_t$  vs  $t$ ). Los valores de la amalgama fueron divididos entre 10 para que pudieran ser ubicados en el diagrama (31).*

Por ende, se encontró que la hidroxiapatita biológica, a pesar de tener los mismos componentes químicos que la hallada en el esmalte, posee propiedades que se diferencian en mucho a su contraparte dental.

#### ***4.5.2.5 Influencia de los componentes en el comportamiento del esmalte***

Bing He, Shengbin Hang y colaboradores (24), realizaron diferentes investigaciones acerca de la densidad de la hidroxiapatita en el esmalte dental, separando sus muestras entre pacientes jóvenes (18-24 años) y pacientes mayores ( $55 \leq$  edad), mediante el uso de microscopía electrónica de barrido (SEM) con espectroscopía de energía dispersada, siendo evaluados a su vez tanto el esmalte externo como el medio y el interno (**figura 23**).

Ellos encontraron que, tanto en el grupo de muestras jóvenes como en el grupo de muestras de pacientes mayores el porcentaje peso del calcio y el fósforo disminuyó desde el esmalte externo hacia el esmalte interno, siendo en el esmalte externo donde las diferencias son mucho más visibles concluyendo así que en el esmalte externo del diente las diferencias en las propiedades entre los dos grupos fueron significativas, debido a la alta cantidad de iones minerales y fluoruro en la saliva en personas mayores, además de la prolongada exposición al ambiente oral de esta capa del esmalte. Sin embargo para las capas media e interna del esmalte se encontró que no hubo diferencias dependientes de región entre los grupos de edades jóvenes y adultas, lo cual significa que a pesar de que las diferencias son visibles y palpables para los dos grupos en el esmalte interno, estas son restringidas en gran parte a las condiciones del medio, y no de la edad.



*Figura 23. Espectroscopía Electrónica Dispersada en muestras de esmalte dental de pacientes jóvenes (a) y pacientes adultos (b). Puede observarse el decrecimiento del contenido de fósforo (P) y calcio (Ca) en las muestras. Imagen tomada de (24)*

#### 4.5.2.6 Comportamiento Mecánico del esmalte dental: Estudios previos.

Estudios realizados en la universidad de Maryland, en los estados unidos por S. Park (2008) (23) acerca de las propiedades mecánicas del esmalte dental en muestras jóvenes (18 – 25 años) y muestras mayores ( $50 \leq$  edad), permitieron encontrar valores de dureza para los esmaltes interno, medio y externo, de 3,1 3,5 y 4,1 GPa respectivamente para las muestras jóvenes, y de 3,0 3,4 y 4,0 GPa para muestras mayores. Sin embargo, también se encontró que los módulos de elasticidad para cada una de las diferentes capas del esmalte diferían considerablemente, algo que en estudios previos no se había tomado en cuenta. Para el esmalte externo, se encontró que en dientes jóvenes el módulo de elasticidad era de 87 GPa, y para muestras mayores de 100 GPa. A su vez, para el esmalte medio en muestras mayores el módulo de elasticidad es de 90 GPa, cuando para muestras jóvenes llega solamente hasta 82 GPa. Al comparar los valores para el esmalte interno obtenemos una diferencia de al menos 4GPa, pues el módulo de elasticidad en pacientes jóvenes para dicha zona del esmalte es de 75 GPa, y para muestras mayores llega a 79 GPa (**figura 24**). Esto se dio luego de haber encontrado el punto de transición de la dureza para el esmalte dental mediante el uso de ensayos de microindentación, lo cual es importante para estandarizar el ensayo. Además, los autores realizaron las mismas pruebas para diferentes cerámicos y materiales utilizados para restauraciones dentales, permitiéndoles comparar las propiedades de las muestras dentales con los elementos utilizados para reparaciones orales. Esto fue tomado para concluir que los elementos utilizados, como cerámicos vítreos y porcelanas feldespáticas, en las restauraciones dentales, distan mucho de tener propiedades semejantes al esmalte dental, lo cual posiblemente pueda generar problemas luego de ser aplicados en pacientes. Los resultados encontrados por Park y colaboradores, permitieron ser tomados como base para la realización de los ensayos aquí presentados, y tomarse para poder ser comparados con los resultados obtenidos en muestras de pacientes Colombianos.

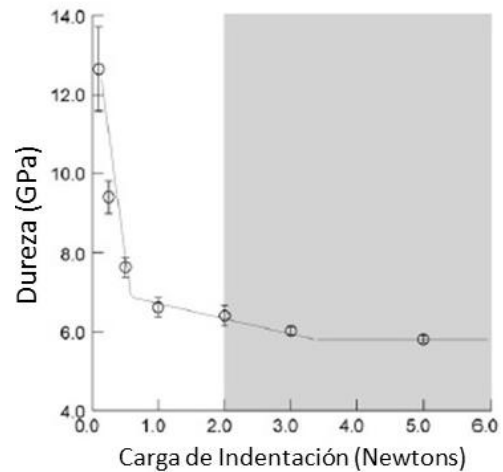
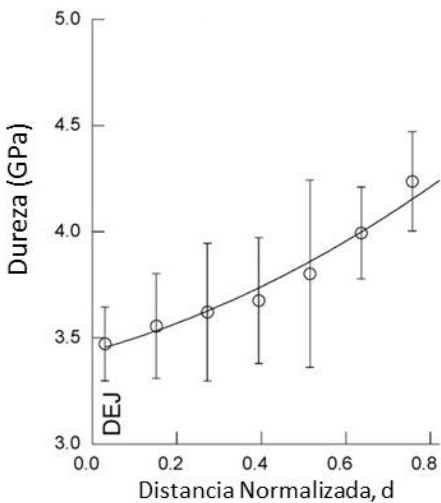
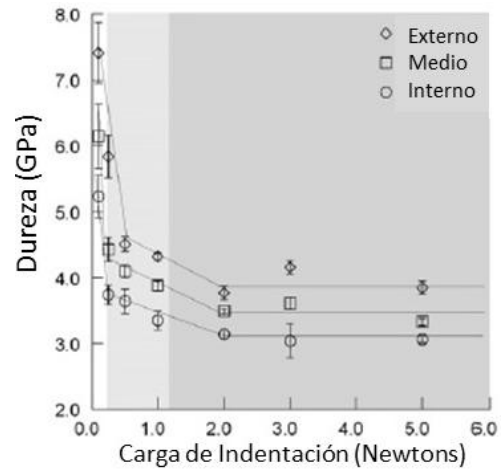
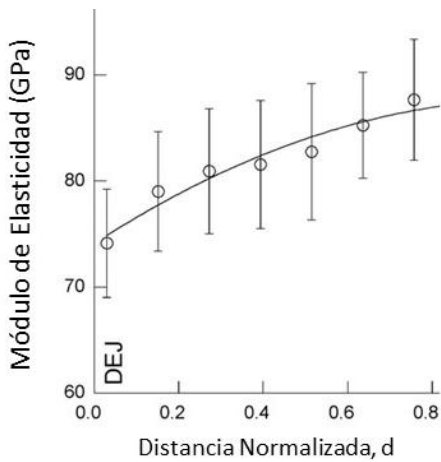


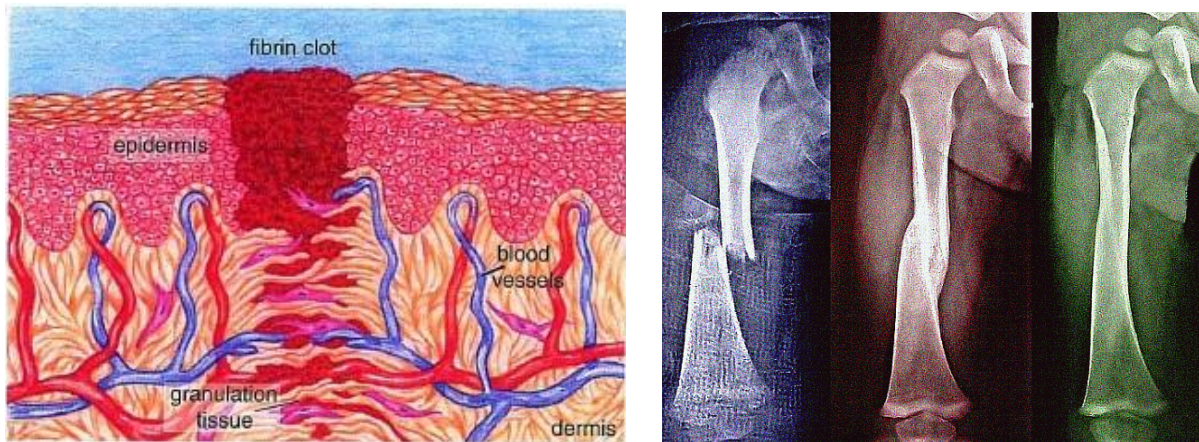
Figura 24. A la izquierda se encuentran los módulos de Elasticidad y la dureza para muestras dentales jóvenes desde la unión amelodentaria hasta la zona de oclusión del diente. A la derecha se encuentran las cargas a las cuales se da la zona de transición de la dureza (gris). Imágenes tomadas de Park et al, (23)

Es importante tener en cuenta, para la evaluación de durezas en cerámicos, en este caso como la hidroxiapatita, el efecto del tamaño de la indentación, pues, de acuerdo a lo expuesto por S. Park la estabilidad en la carga se da a partir de los 200gf al realizar las indentaciones. Gran cantidad de la literatura acerca de cerámicos se ha enfatizado en el efecto de la carga y la dureza en los procesos de fractura y la tenacidad a la fractura. Son pocas las revisiones que se tienen donde se considere en detalle el efecto inverso de la fractura o la dureza. Dicha dureza, en un material frágil, es una medida de la resistencia del material a la deformación, densificación, desplazamiento y fractura. La fractura local alrededor y por debajo de una indentación puede afectar el tamaño de la impresión y

puede ser considerada como una característica intrínseca del proceso de indentación. El grado de fractura en indentaciones de cerámicos es dependiente de la carga. La deformación es predominante a bajas cargas, y por el contrario, la fractura es predominante a cargas altas.

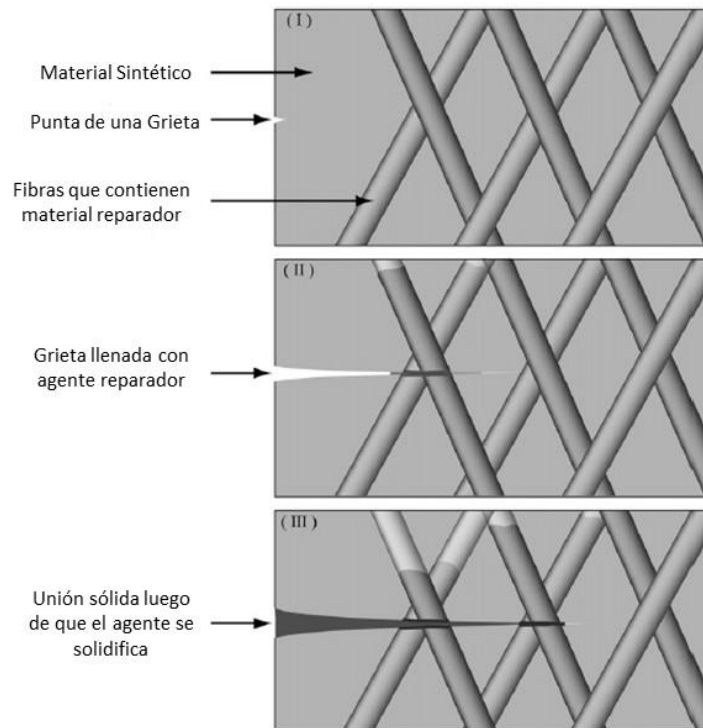
#### 4.6 PROPIEDADES AUTORREPARATIVAS DE LOS MATERIALES NATURALES

La característica más significativa que poseen los materiales naturales, y que los diferencian de los materiales sintéticos es su habilidad de autorrepararse (**figura 25**). Luego de que un material natural sufre un impacto que afecta su estructura, debido a sus componentes nutricionales es posible regenerar por completo la funcionalidad de esta, lo cual hace de esta característica algo altamente funcional y envidiable para el resto de materiales convencionales.



*Figura 25. Dos ejemplos de la autorreparación de los materiales naturales. A la izquierda, se ilustra la forma como la piel se autorrepara, luego de un trauma. A la derecha, los huesos son capaces de reestablecer su funcionalidad luego de su fractura. Imágenes tomadas de <http://www.healthspablog.org/health/health-news-bone-healing-process>*

De acuerdo con esto, la ingeniería ha intentado imitar ese comportamiento excepcional de los materiales naturales, lo cual ha motivado a la creación de materiales que en su interior tengan agentes que permitan su recuperación, o por lo menos detener las grietas inducidas por esfuerzos recibidos. Ejemplos de esto se ilustran en la **figura 26**.



*Figura 26. Ejemplo de un material sintético que se autorrepara. En I, II, y III, se muestra la forma como funcionan estos materiales utilizando como agente reparador resinas epóxicas en muchos casos. (55)*

Para esto, varios autores han dedicado varios años de investigación, y hasta se idearon una manera de calificar la utilidad de los materiales naturales. Dependiendo del porcentaje del material que se logra “curar”, se evalúa su desempeño. Esto está dado por la siguiente ecuación:

*Ecuación 5*

$$\eta = \frac{\text{Longitud de la Grieta Reparada}}{\text{Longitud de la grieta Inducida}} \times 100$$

De acuerdo con esto, entre mayor sea el porcentaje del material curado, mayor va a ser la eficiencia del agente reparador y del método de reparación en sí (55).

Al ser el esmalte dental un material natural, formado en un 96% de material cerámico y con sólo un 1% de material biológico (proteínas), existían ciertas dudas acerca de su comportamiento autorreparador, propiedad común en el resto de los materiales presentes en el cuerpo humano.

Los autores, a través de los métodos de ensayo explicados anteriormente, evaluaron la capacidad del esmalte dental de autorrepararse, luego de habersele inducido grietas en diferentes partes de su estructura interna. Los resultados obtenidos son alentadores, sin embargo, al darse dicha investigación por iniciativa exclusiva de los autores y no existir previamente bibliografía relacionada con el comportamiento autorreparativo del esmalte dental, los resultados no permiten aún ser comparados con otros obtenidos en alguna otra parte. Dicho estudio, los resultados y las conclusiones obtenidas, se explican en el **capítulo 3**.

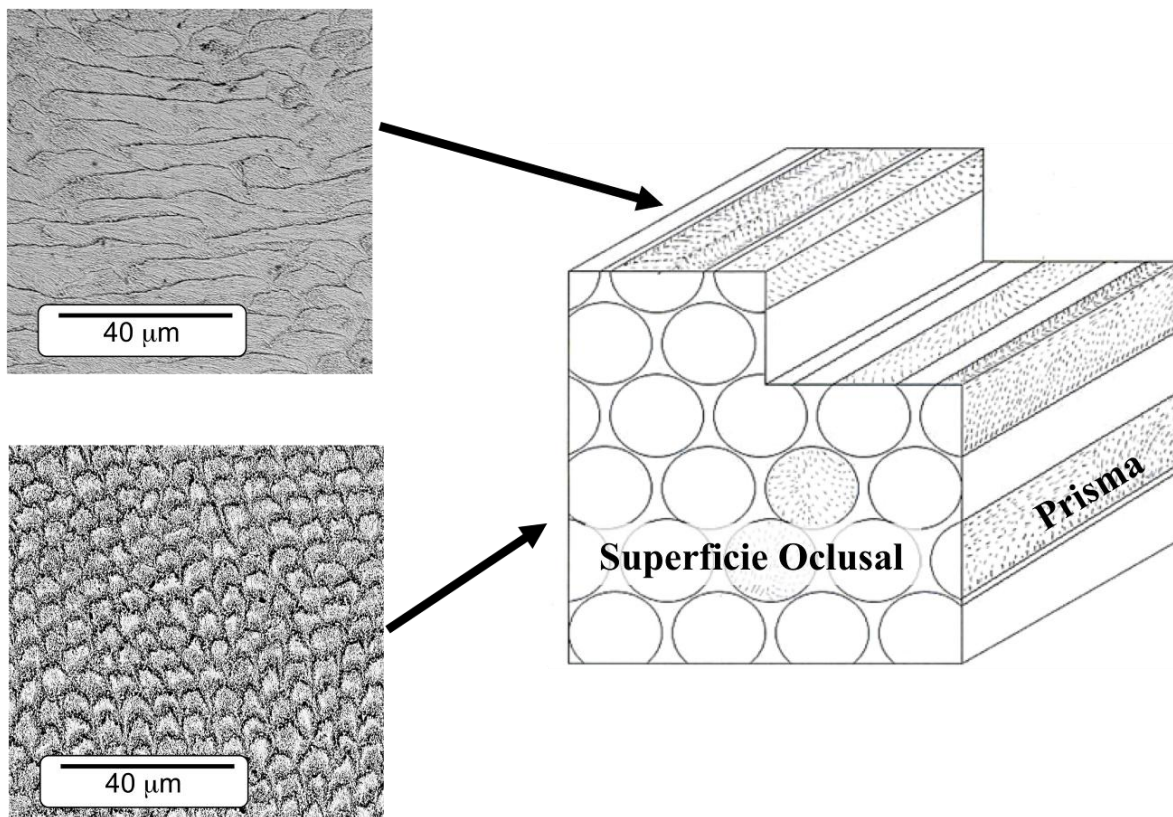
## 5 COMPORTAMIENTO MECÁNICO DEL ESMALTE DENTAL

### 5.1 INTRODUCCIÓN

Los materiales naturales pueden presentar combinaciones importantes de bajo peso, fuerza, tenacidad y dureza, combinaciones que muchas veces no pueden ser igualadas por los materiales sintéticos creados por el hombre. En las pasadas dos décadas, esfuerzos significativos fueron realizados por la comunidad científica de investigación de materiales para comprender los mecanismos estructurales y microestructurales detrás de los comportamientos mecánicos exhibidos, con el objetivo último de duplicarlos mediante materiales artificiales (56) (57). Esta aproximación al diseño y elaboración de nuevos materiales mediante la replicación de materiales naturales, llamada *Biomimética*, ya ha comenzado a dar sus primeros frutos, al crear nuevos materiales con propiedades notables. El primer paso en este enfoque biomimético es la identificación del comportamiento del material en los materiales naturales, en conjunto con un entendimiento fundamental de los mecanismos detrás de los comportamientos presentados (57).

El diente es un ejemplo característico de estos materiales naturales de alto rendimiento. El diente humano es el tejido más altamente mineralizado del cuerpo, el cual cumple una función básica pero de alta importancia, que es la trituración de los alimentos. Este tejido está formado por cuatro partes diferentes, que son *el esmalte, la dentina, la pulpa y el cemento*. Cada uno de ellos tiene una función específica y sus componentes estructurales son diferentes entre sí. El esmalte es la estructura biológica más dura presente en el cuerpo humano. Es un material compuesto el cual consiste de dos fases, una fase orgánica y otra fase inorgánica. La fase mineral es muy predominante, llegando a componer entre el 96 y el 98% del tejido, y consiste principalmente de sales de fosfato de calcio en forma de cristales de hidroxiapatita de considerable longitud los cuales en su componente

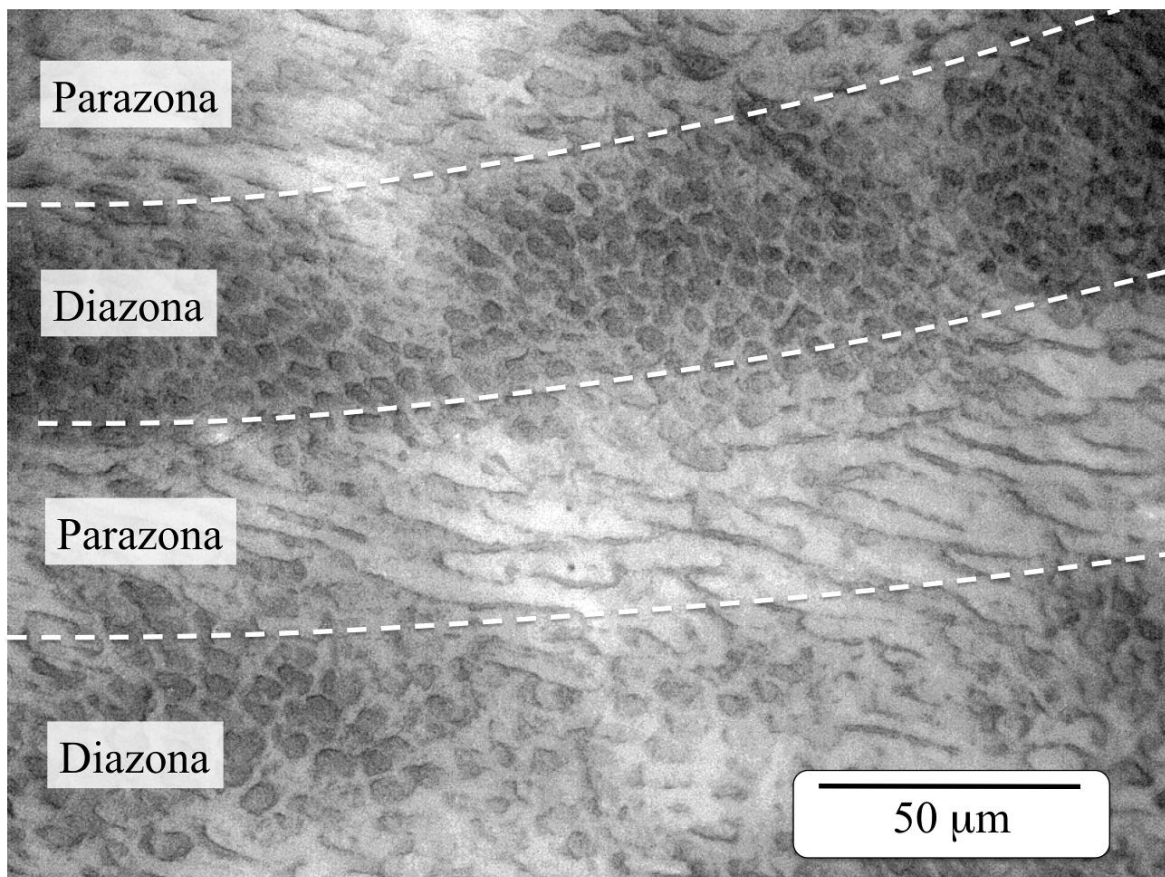
interno se muestran carbonatados. El restante porcentaje de composición del esmalte dental esta dado por un 1% de material orgánico como proteínas y el restante 3-4% es agua. Estos cristales de hidroxiapatita están organizados estrechamente en forma de prismas, los cuales poseen un diámetro efectivo de entre 4-8  $\mu\text{m}$  de diámetro los cuales se extienden desde la unión amelodentinaria (DEJ, *Dentine-Enamel Junction*) hasta la superficie oclusal. En los molares, el grosor del esmalte es mayor cerca a las cúspides (cercano a 2,5 mm), y luego decrecen hasta un mínimo en el DEJ. En la **Figura 27** se presenta un esquema de la organización de los prismas de hidroxiapatita en el esmalte dental. Gracias a su elevada dureza, comportamiento mecánico y ubicación más externa en el diente, permite la protección contra daños externos de la dentina y la pulpa que se encuentran en su interior. Las propiedades mecánicas del esmalte dental en humanos, como el módulo de elasticidad (describe la resistencia a la deformación elástica de un material), la dureza (resistencia a la deformación permanente o a la penetración), tenacidad a la fractura (propiedad que describe la habilidad de un material a resistir la propagación de una grieta existente bajo la acción de un estado particular de esfuerzos) y la fragilidad han sido estudiadas desde hace algún tiempo, con el objetivo de identificar su estructura y comportamiento mecánico.



*Figura 27 Organización jerárquica del diente. Se observan los prismas de hidroxiapatita (cilindros).*

Estos estudios han reportado valores para el módulo de elasticidad en el esmalte dental humano en un rango entre 70 y 120 GPa, siendo este el mismo rango en el que se encuentran los módulos de elasticidad de materiales como el circonio (Zr=95 GPa), el oro (Au=77 GPa) y la Plata (Ag=76 GPa). La dureza varía entre 3 GPa y 6 GPa dependiendo de la edad del paciente y la localización en el diente. (30), (48), (58) La tenacidad a la fractura reportada para el esmalte dental varía entre 0.4 y 1.5 MPa m<sup>1/2</sup>, con los valores inferiores encontrados al ser medidos para grietas orientadas en dirección paralela al eje de los prismas. (30) (29) Estos valores de tenacidad a la fractura son semejantes a los encontrados para materiales como el vidrio de Borosilicato y algunas resinas epóxicas, lo cual permite deducir que el esmalte dental posee características mecánicas relativamente altas, a pesar de estar compuesto por un alto porcentaje de material inorgánico. Cabe destacar que la diferencia entre los valores reportados por uno u otro estudio dependen en parte de las características anisotrópicas del material, pues dependiendo del sentido en

el que se encuentren los prismas de hidroxiapatita, el comportamiento mecánico cambia y sus propiedades varían. La **figura 28** muestra el cambio de orientación de los prismas de hidroxiapatita en una muestra de esmalte dental observada en dirección oclusal. Algunos autores han diferenciado estas orientaciones, denominando los prismas perpendiculares al observador como *Diazona*, y los que se encuentran paralelos al observador como *Parazona*. Allí se diferencian ambas zonas, y los cambios en el sentido de los prismas influye en las propiedades mecánicas del esmalte.



*Figura 28. Imagen de microscopía óptica de los prismas de hidroxiapatita (HA) presentes en el esmalte dental. Se distinguen las diferentes orientaciones. La Parazona corresponde a prismas paralelos al observador, y la Diazona corresponde a prismas perpendiculares al observador.*

Algunos investigadores han expresado reservas sobre la posibilidad de extender los resultados de las propiedades mecánicas medidas en pacientes con diferencias étnicas, pues argumentan que las diferencias en el tipo de dieta, genéticas e incluso las capacidades económicas podrían llevar a modificar los contenidos de material orgánico de los dientes, generando cambios significativos en las características mecánicas que podrían afectar los tratamientos de reconstrucción dental y los materiales sintéticos dentales a utilizar según la procedencia de los pacientes.

Mediante el análisis de propiedades mecánicas en los materiales a través de técnicas de microindentación, se pueden evaluar las propiedades mecánicas como la dureza, tenacidad a la fractura y fragilidad del diente, con el objetivo de caracterizar su comportamiento mecánico en muestras colombianas, y hacer comparativos los resultados con los obtenidos en estudios previos realizados en los estados unidos y evidenciar si estadísticamente existen diferencias entre las propiedades de muestras obtenidas en ambas partes, y su importancia para el desempeño realizado.

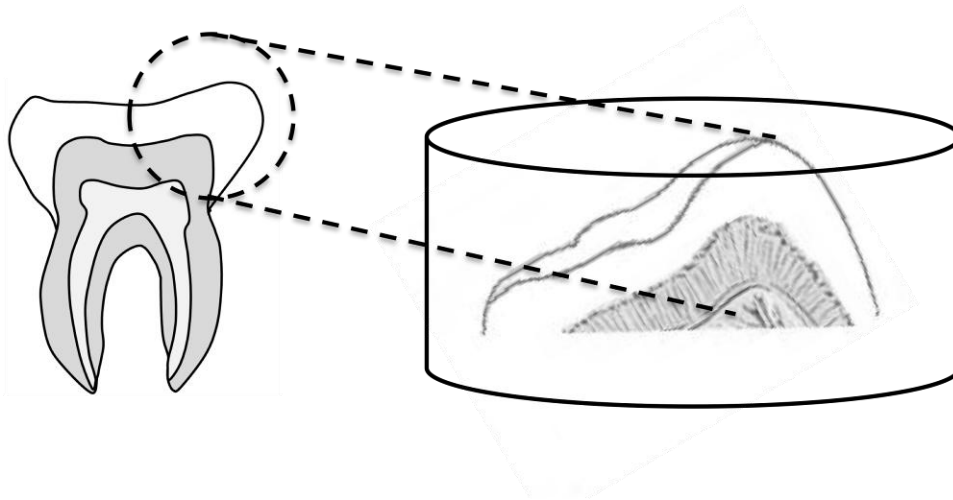
## **5.2 MATERIALES Y MÉTODOS**

Terceros molares (N=38) de pacientes seleccionados, con edades entre 18 - 28 años, fueron obtenidos con su respectivo consentimiento y siguiendo los protocolos establecidos para tal fin por la Universidad EAFIT y la Universidad Cooperativa de Colombia. Los dientes fueron colectados por donación de los pacientes sometidos a procedimientos de extracción dental como parte de su tratamiento de ortodoncia o rehabilitación en la Facultad de Odontología de la Universidad Cooperativa de Colombia. Previo consentimiento informado de los sujetos siguiendo los lineamientos de la Declaración de Helsinki y las resoluciones número 8430 de 1993 y 2378 de 2008 del Ministerio de la Protección Social. Estos dientes en otro caso serían descartados después

de los procedimientos de extracción. Todas las muestras se encontraban libres de caries, no habían sido sometidas a tratamientos reconstructivos previos y no presentaban signos de desgaste cuspal significativo. De estos especímenes, (N=19) fueron seleccionados de pacientes masculinos, y los restantes (N=19) fueron de pacientes femeninos, para posibilitar así el estudio de diferencias de género en las propiedades mecánicas del esmalte dental. Se utilizaron terceros molares (cordales) para minimizar el efecto de desgaste cuspal en el espesor del esmalte y el daño acumulado en las cúspides presente en los primeros y segundos molares como consecuencia de contacto cíclico (59)

Inmediatamente después de la extracción los especímenes fueron mantenidos en solución salina balanceada de Hank (HBSS) a una temperatura de 20°C para prevenir la deshidratación previa a la realización de las pruebas (23) (60). Los especímenes fueron ensayados en un período de tiempo inferior a dos semanas posterior a su extracción para evitar así la posible pérdida de material orgánico.

Los molares fueron seccionados axialmente para exponer sus superficies oclusales mediante la utilización de un equipo de corte con disco abrasivo impregnado de diamante continuamente enfriado por agua. De esta manera se aseguró que las pruebas fueran realizadas de una manera axial a la dirección de los prismas (dirección oclusal), como se muestra de manera esquemática en la **figura 29**. Los especímenes fueron luego embebidos en resina epóxica de curado frío y pulidos usando papeles abrasivos con partículas de Carburo de Silicio sucesivamente más pequeñas (600, 800 y 1200 granos por pulgada cuadrada) y continuando mediante el uso de pasta de diamante de 6  $\mu\text{m}$ , 3  $\mu\text{m}$  y 1  $\mu\text{m}$  de tamaño de partícula en un paño de pulido convencional hasta alcanzar una superficie plana y pulida del esmalte expuesto. Los especímenes pulidos fueron mantenidos en solución HBSS previo a la realización de las pruebas. Es importante mencionar que durante la realización de las pruebas el diente es retirado de la solución HBSS y luego de la prueba fueron nuevamente rehidratados en esta solución, lo cual no afecta la condición de los especímenes por ser pruebas de corta duración (aproximadamente 30 segundos por indentación).



*Figura 29. Diagrama esquemático de la preparación de las muestras. Mediante un corte transversal a la muestra dental se asegura que los prismas del esmalte queden en dirección perpendicular a la superficie, y luego la muestra es embebida en resina epóxica. Las diferentes profundidades del esmalte dental que se analizaron (esmalte externo, medio e interno) se indican.*

Diez (N=10) especímenes de ensayo fueron utilizados para estudiar la dureza Vickers y el efecto de la carga de indentación en la dureza del esmalte dental. Estudios previos, como el desarrollado por Park et al (23) han encontrado que existe un efecto del tamaño de la huella de indentación en la respuesta a la dureza del esmalte dental, encontrando reducciones de hasta un 50% en los valores de dureza medidos con valores de carga altos ( $F \geq 3N$ ) en comparación con cargas bajas ( $F < 0.1N$ ).

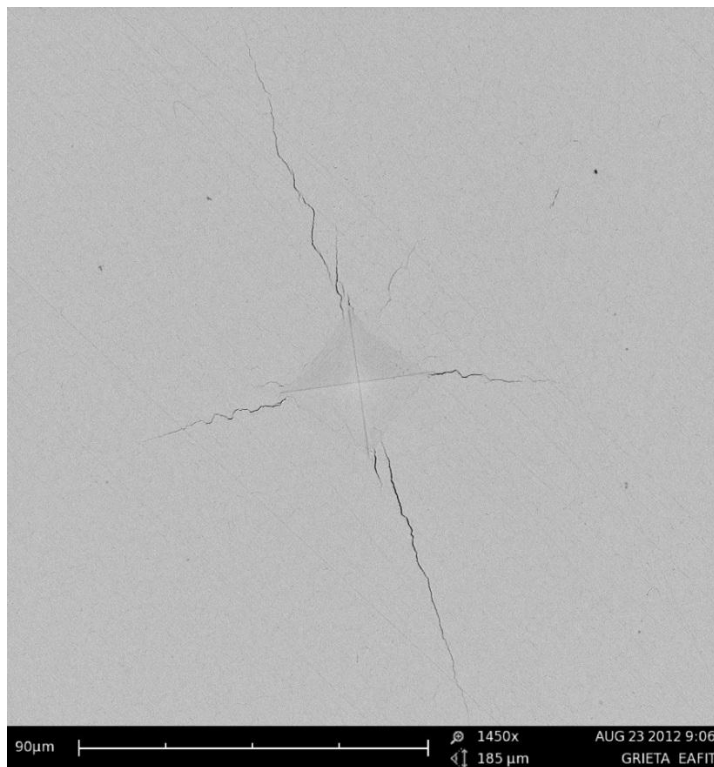
En este estudio se utilizó la técnica de micro-dureza Vickers, en la que las cargas aplicadas van entre  $F=0.1 N$  y  $F=100 N$ , ya que es el tipo de dureza y niveles de carga más comúnmente utilizados para materiales cerámicos en los que los valores de dureza son altos. También se consideró que la gran mayoría de estudios realizados sobre la dureza del esmalte dental han reportado mediciones en esta misma escala de dureza (30) (23), (48), (58) .

Las pruebas de microdureza Vickers fueron realizadas utilizando un microdurometro *Wilson Instruments*. Los especímenes fueron hidratados frecuentemente con HBSS durante las pruebas. En todos los especímenes se realizaron al menos 10 indentaciones

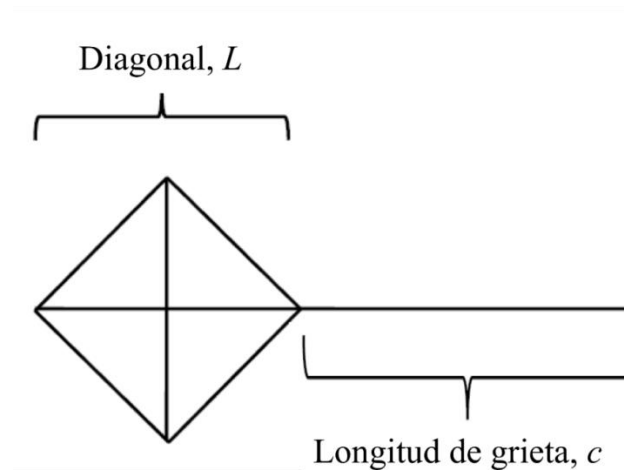
por cada nivel de carga utilizado (F= 0.1, 0.25, 1.0, 2.0, 3.0 y 5.0N), teniendo especial cuidado en no ubicar indentaciones cercanas a una longitud de 10 diagonales una de la otra o a 10 diagonales de longitud de la DEJ o la superficie oclusal. La dureza Vickers fue determinada según la norma ASTM C1327 (13) como lo describe la **ecuación 1**:

$$HV = \frac{2000p \sin(\alpha/2)}{d^2} = \frac{1854.4P}{d^2}$$

En donde P es la carga de indentación (N) y *d* es la diagonal de la indentación (mm) (**figuras 30 y 31**).



*Figura 30. Indentación Vickers sobre esmalte dental. Es posible detectar las grietas que salen de las cuatro diagonales de las huellas. Foto tomada por Microscopía Electrónica de Barrido SEM*



*Figura 31. Se esquematiza la indentación realizada, indicando las longitudes medidas utilizadas para calcular el valor de dureza y la tenacidad a la fractura aparente.*

La tenacidad a la fractura ( $K_{Ic}$ ) es una propiedad que describe la habilidad de un material para contener la propagación de una grieta bajo un estado de esfuerzos específico (23). Mediante la técnica de indentación Vickers es posible generar grietas que se extienden a partir de las aristas de las huellas (**figura 30**). Mediante la medición de la extensión promedio de estas grietas es posible determinar la llamada tenacidad a la fractura “aparente” ( $K_{c(ap)}$ ). El término “aparente” se emplea debido a que existen algunas reservas sobre la utilización de técnicas de indentación para la medición de la tenacidad a la fractura de materiales (61). Sin embargo, esta técnica permite la determinación de valores de tenacidad a la fractura en materiales que se encuentran en volúmenes pequeños y de los cuales es difícil la obtención de especímenes estándar para la realización de pruebas normalizadas de tenacidad a la fractura (13) (21)

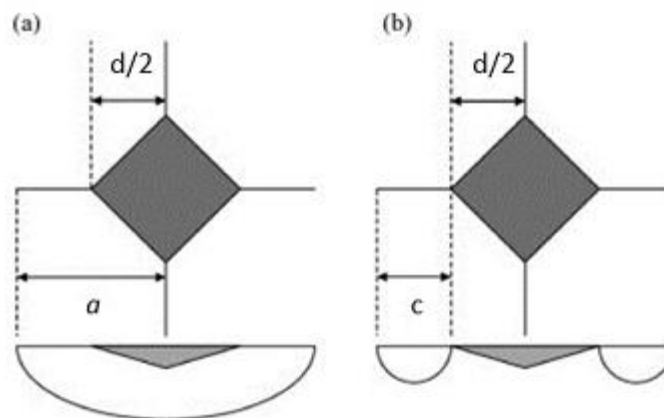
La tenacidad a la fractura aparente ( $K_{c(ap)}$ ) fue medida en 28 especímenes siguiendo el procedimiento descrito por Park et al (23)

Las indentaciones fueron realizadas utilizando una carga de indentación de 3 N, que excede el valor de carga crítica correspondiente al punto de transición de dureza, determinado del análisis de efectos de tamaño de indentaciones en la dureza. La longitud de las diagonales de las indentaciones ( $L$ ) y la longitud promedio de las grietas extendiéndose desde las aristas de las indentaciones ( $c$ ) fueron medidas para cada

indentación (**figuras 4 y 5**). Diez indentaciones fueron realizadas en el espécimen, iniciando en la superficie oclusal. Luego se procedió a realizar un proceso de pulido removiendo aproximadamente 400  $\mu\text{m}$  de material para proceder nuevamente a realizar otras 10 indentaciones. Este procedimiento continuó hasta alcanzar la DEJ. De esta manera fue posible estudiar el cambio en la tenacidad a la fractura aparente como una función de la profundidad con respecto a la superficie oclusal del esmalte. La tenacidad a la fractura aparente para cada indentación fue entonces calculada como se describe en la ecuación 3 (22):

$$K_{c(ap)} = 0.0084 \left( \frac{E}{HV} \right)^{2/5} \left( \frac{2P}{L} \right) \frac{1}{c^{1/2}},$$

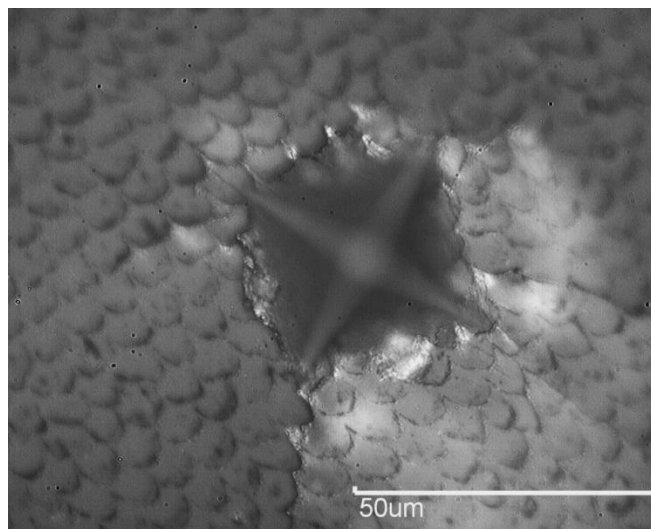
donde  $E$  es el módulo de elasticidad del esmalte ( $\text{GPa}$ ),  $HV$  es la dureza Vickers ( $\text{GPa}$ ),  $P$  es la carga de indentación ( $\text{kg}$ ),  $L$  es la longitud promedio de la diagonal ( $\text{m}$ ) y  $c$  es la longitud promedio de las grietas ( $\text{m}$ ). Esta ecuación es aplicable a grietas tipo Palmqvist (**figura 31**), como es el caso presente en el esmalte dental (23).



**Figura 32. Grietas tipo Palmqvist. En (a), la grieta subsuperficial afecta toda el área de incidencia de la indentación. En (b) la falla subsuperficial se encuentra debajo de las grietas creadas en las diagonales de la indentación. Ilustración tomada y adaptada de Lin, C.M y colaboradores.**

El módulo de elasticidad ( $E$ ) fue tomado de la literatura reportada (30) (48)], (58) (62). Su valor es de  $87 \text{ GPa}$ , para el esmalte medio de  $82 \text{ GPa}$ , y para el esmalte interno su valor es de  $75 \text{ GPa}$ .

En la **figura 33** se muestra una indentación Vickers realizada sobre el esmalte dental. Allí se puede apreciar, mediante el uso de microscopía polarizada, el tipo de grietas Palmqvist que permiten el uso de la **Ecuación 3**



*Figura 33.. Indentación Vickers sobre el esmalte dental. Nótese que la indentación también afecta la estructura subsuperficial del material, como lo describe la definición de grieta Palmqvist.*

La fragilidad de un material, calculada como lo describe la **ecuación4** (23) (63) :

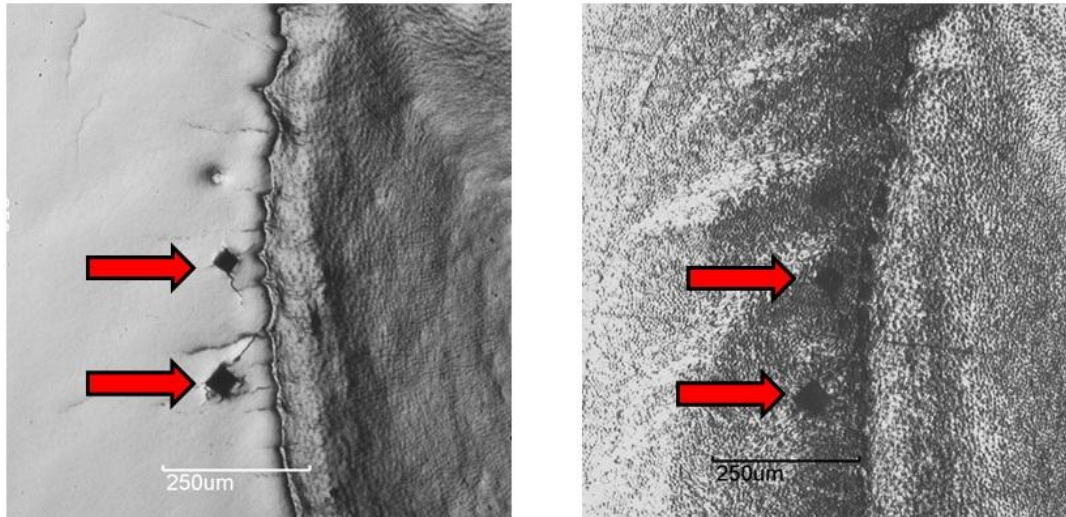
$$B = \frac{HV * E}{(K_{c(ap)})^2}$$

describe que tan propenso es un material a fracturarse (altos valores de  $B$ ), o si el material prefiere deformarse plásticamente en lugar de fracturarse (bajos valores de  $B$ ). Es importante realizar cálculos de fragilidad, especialmente en materiales cerámicos, debido a que con dichos valores se puede inferir la tendencia del material a absorber energía y

fallar. Todas las gráficas utilizadas, para un mayor entendimiento de los resultados obtenidos, son realizadas con su eje horizontal igual a distancia normalizada, es decir, el valor de la profundidad a la cual se realiza la indentación en el esmalte, sobre la distancia o grosor total del esmalte.

Una cantidad de 28 terceros molares fueron procesados de igual manera a la descrita anteriormente para hallar los valores de dureza, tenacidad y fragilidad anteriormente. De estas muestras, 14 pertenecían a pacientes de género masculino, y los restantes 14, a pacientes de género femenino, debido al interés de estudiar la existencia de diferencias en el comportamiento mecánico del esmalte dental entre ambos géneros. El objetivo deseado al realizar esta prueba era el comprobar si existían diferencias al realizar ensayos en los dos sentidos de orientación de los prismas de hidroxiapatita (diazona y parazona) y, de existir, si son significativas dichas diferencias estadísticamente.

Cada espécimen fue indentado bajo cargas de 200gf al menos 5 veces en el esmalte externo, y entre 20 y 40 veces para el esmalte medio e interno. Estas diferencias se dan debido a que en el esmalte externo los prismas de hidroxiapatita están organizados perpendicularmente sin cambios notorios, por lo cual la parazona es casi inexistente en esta parte del esmalte. Por el contrario, tanto en el esmalte externo como en el esmalte interno, son más comunes los cambios en el sentido de dichos prismas, por lo cual, muchas más indentaciones fueron realizadas en estas zonas para asegurarse de que tanto la parazona como la diazona fuesen evaluadas mediante ensayo de dureza, pues el grado de dificultad es alto al intentar diferenciar entre uno y otro sentido de dichas estructuras previa utilización de ataque químico (ácido fosfórico al 1%) para revelar la dirección de los prismas. Un ejemplo de esto se ilustra en la **figura 34**.



*Figura 34. Capa interna de un tercer molar con dos indentaciones Vickers (flechas). A la izquierda, la muestra exactamente luego de ser indentada. A la derecha, la misma muestra luego de recibir un ataque químico ara revelar su estructura. Se aprecia que previamente al ataque, la parazona y la diazona son imperceptibles. Luego de ataque es fácil diferenciarlas.*

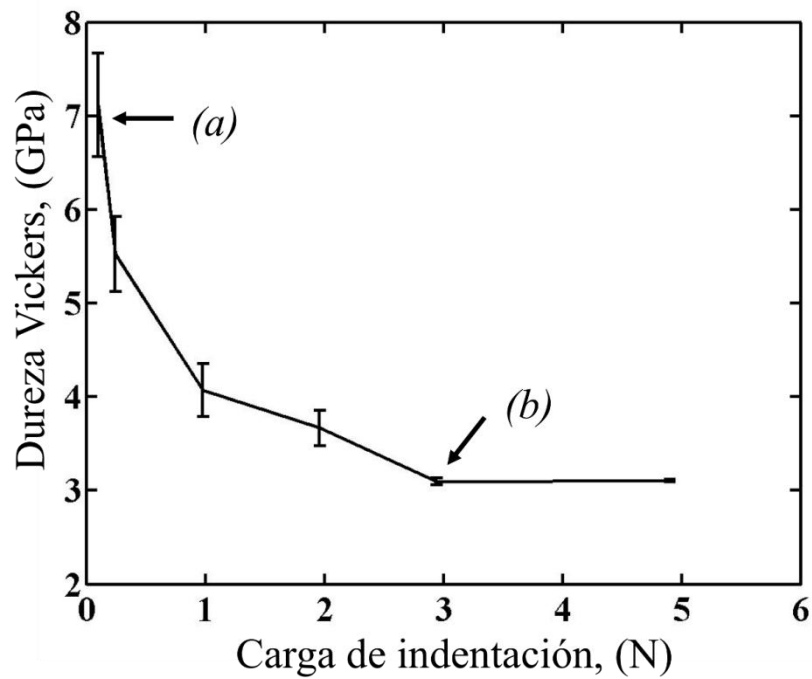
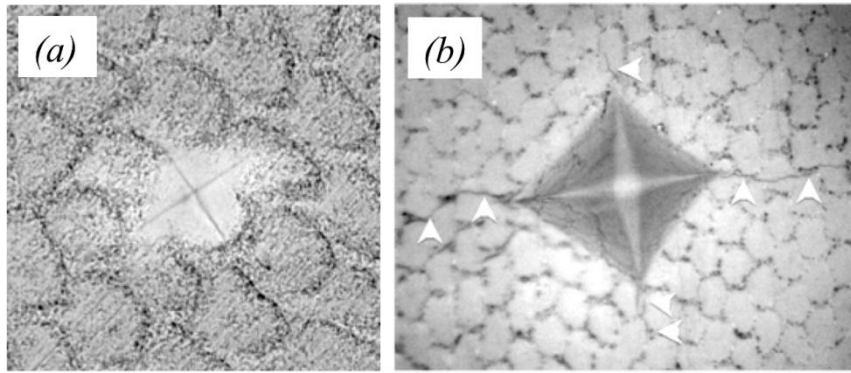
Para el cálculo de la dureza realizado para las indentaciones ubicadas en la diazona y la parazona se empleó la **ecuación 1**.

La tenacidad a la fractura y la fragilidad, al ser propiedades que describen la capacidad del material a absorber energía y a poca deformación plástica bajo esfuerzos respectivamente, fueron igualmente calculadas mediante la medición de las grietas de las indentaciones Vickers realizadas para el cálculo de la dureza (la tenacidad) y una relación entre los resultados obtenidos para dureza y tenacidad (la fragilidad). Para su cálculo, nuevamente se utilizan las **ecuaciones 3 y 4** especificadas en la páginas 58 y 60.

### 5.3 RESULTADOS

El efecto de la carga de indentación en los valores medidos de dureza se presenta en la **figura 35**. Para valores de carga de indentación bajos ( $F=0.1$  N) la dureza alcanza valores de alrededor de 7 GPa, mientras que para cargas de indentación superiores a 3 N la

dureza alcanza un valor relativamente estable aproximadamente un 50% menor que el valor máximo medido. Estos resultados son consistentes con los presentados por Park et al (23) , quienes discutieron que el efecto de tamaño era asociado con la aparición de microgrietas en el esmalte debido a cargas excesivas. De hecho, para cargas superiores a  $P= 1\text{N}$  se evidencia la aparición de microgrietas (indicadas por flechas en la figura 6). La dureza aparente también parece ser una función de las dimensiones microestructurales en relación con el tamaño de la indentación. Para cargas de  $0.1\text{N}$  la indentación no es lo suficientemente grande como para cubrir mas de un prisma (**figura 35**), mientras que un incremento en la carga aplicada crea indentaciones suficientemente grandes que pueden ser consideradas como medidas de el esmalte como un todo (o continuo) y no como medidas discretas de prismas individuales. Por lo tanto la dureza de  $7\text{ GPa}$  puede ser considerada como la dureza de un solo prisma, mientras que valores de dureza alrededor de  $3\text{ GPa}$  pueden ser considerados como la dureza general del esmalte dental. Estos últimos valores de dureza son consistentes con los valores de dureza encontrados en previos estudios de la dureza del esmalte dental (30), (48), (58).



*Figura 35. Variación de la dureza en el esmalte dental según la carga de indentación utilizada.*

La variación de la dureza con respecto a la distancia normalizada desde la superficie oclusal ( $x/d$ ) es mostrada en la **figura 36**. Esta distancia normalizada es la relación entre la profundidad a la cual se realizan las mediciones con respecto al espesor total del esmalte. La dureza disminuye mientras mas cerca se encuentren las mediciones de la DEJ, resultados que son consistentes con los encontrados por Park et al (23).

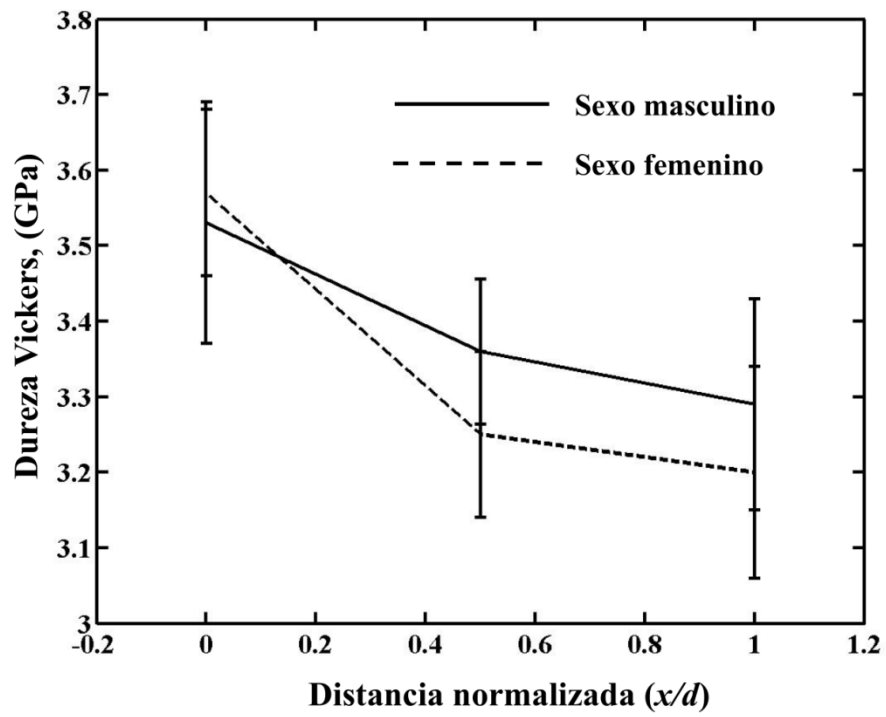
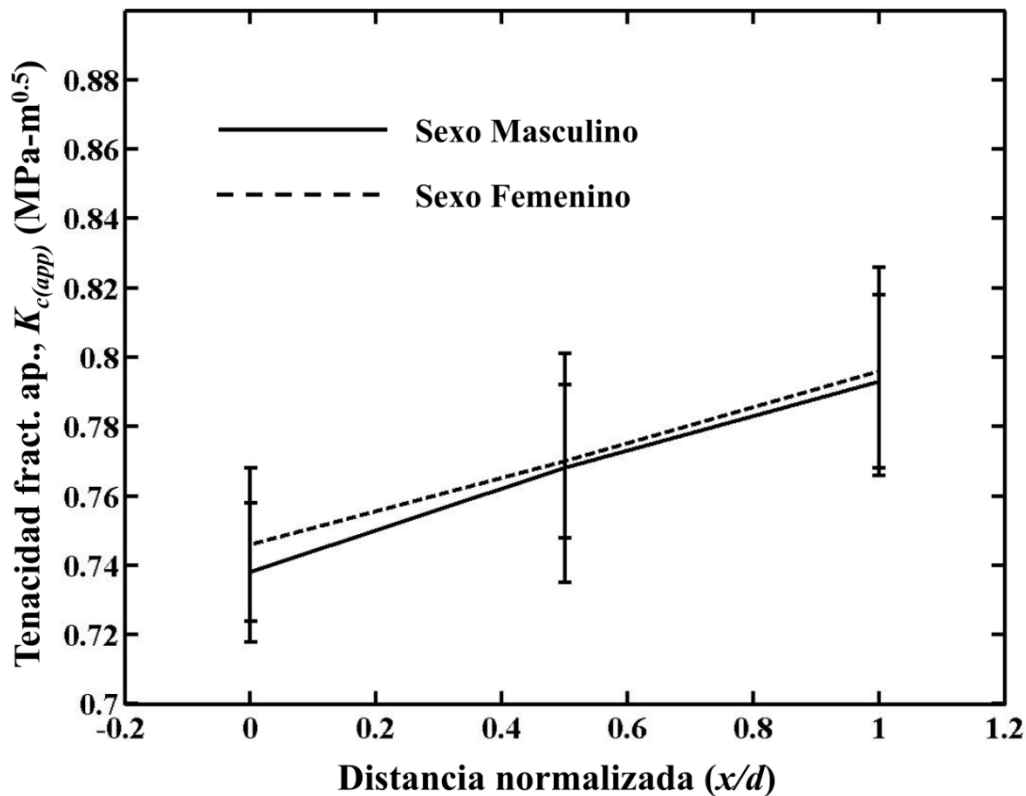


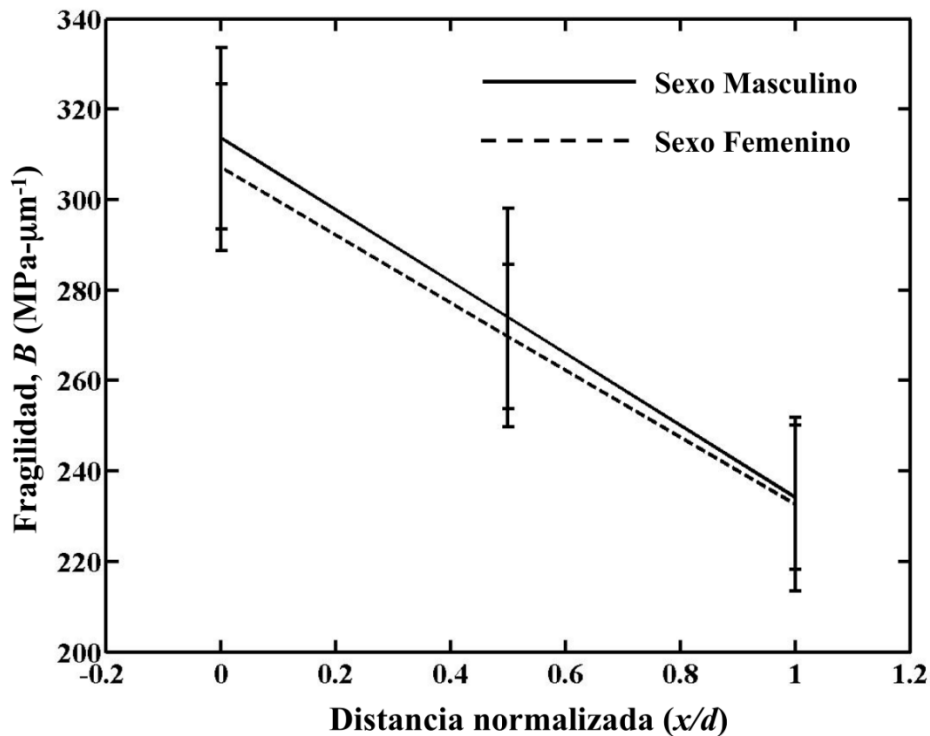
Figura 36. Variación de la dureza con relación a la profundidad del esmalte dental.

La variación de la tenacidad a la fractura aparente con respecto a la distancia normalizada desde la superficie oclusal ( $x/d$ ) es presentada en la **figura 37**. La tenacidad a la fractura presenta un incremento de aproximadamente 10% desde la superficie oclusal hasta la DEJ, indicación esta de una habilidad del esmalte dental a dificultar el crecimiento de grietas a medida que la profundidad aumenta. También es importante notar en esta figura que el comportamiento de los esmaltes masculinos y femeninos no presentan diferencias considerables.



*Figura 37. Tenacidad a la fractura aparente del esmalte dental masculino y femenino.*

La distribución de la fragilidad para el esmalte con respecto a la distancia normalizada ( $x/d$ ) se muestra en la **figura 38**. Se observa un decrecimiento de la fragilidad desde la superficie oclusal hasta el DEJ. Un alto valor de fragilidad describe un material propenso a la fractura, mientras que bajos valores de fragilidad denotan materiales que prefieren deformarse plásticamente en lugar de fracturarse (63). Los valores de fragilidad encontrados son cercanos a los reportados por Park et al (59) en su estudio sobre terceros molares en pacientes norte americanos. Algunos investigadores han mostrado algunas reservas sobre el posible efecto de las diferencias étnicas en las características de los materiales biológicos. De acuerdo con los resultados obtenidos, no existe una diferencia considerable en las propiedades mecánicas del esmalte dental en pacientes jóvenes Norte Americanos y Colombianos.

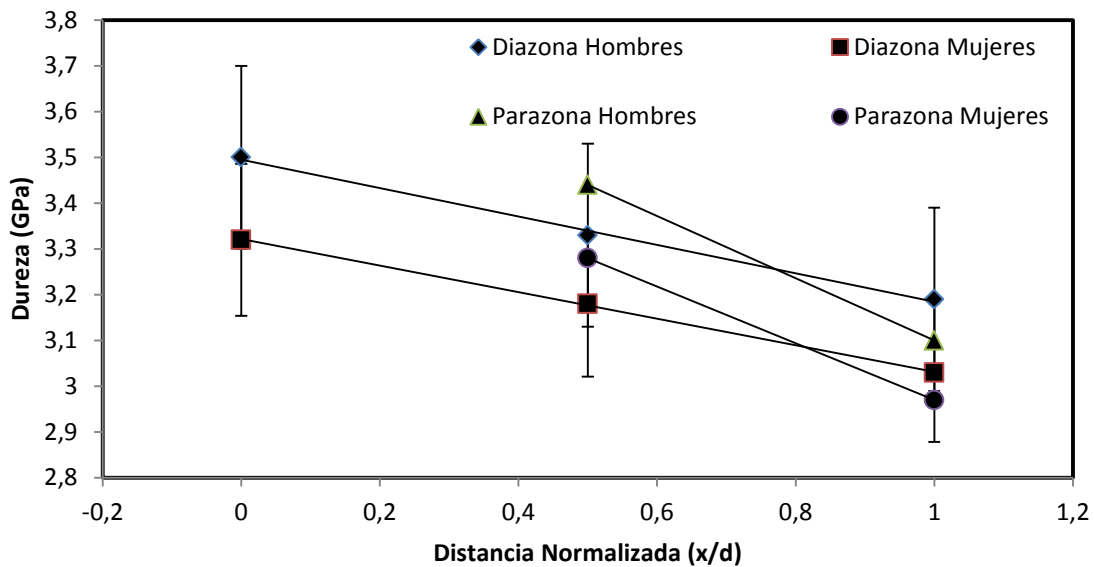


*Figura 38. Fragilidad del esmalte masculino y femenino.*

Los resultados tanto para la dureza, fragilidad y tenacidad a la fractura encontrados para el análisis de las diferencias entre la diazona y la parazona fueron graficados y se muestran en las **figuras 38- 44**.

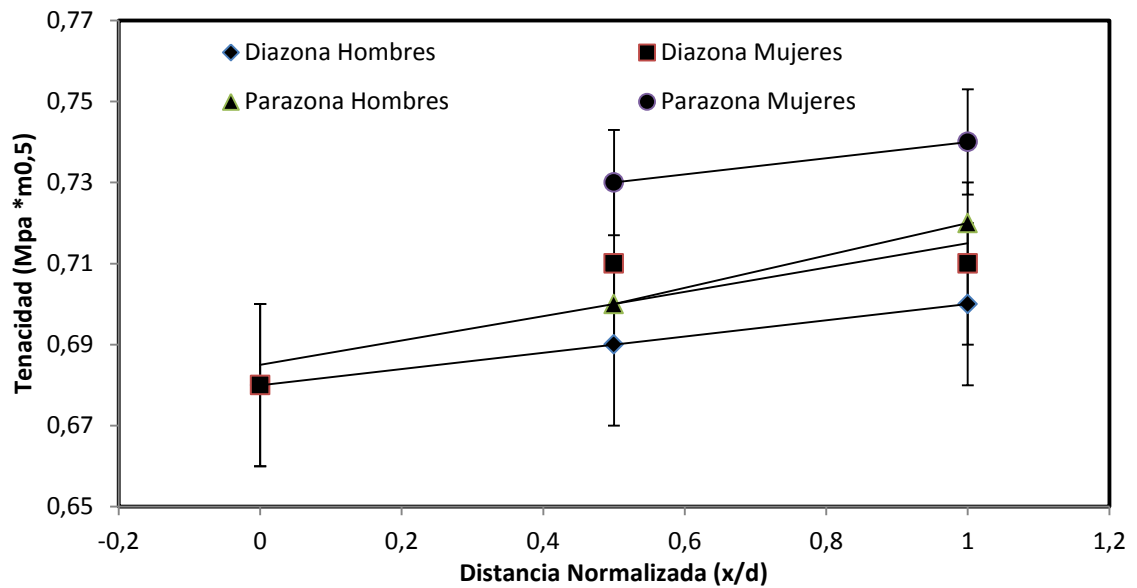
La variación de la dureza respecto a la distancia normalizada para la diazona se muestra en la **figura 38**. La dureza disminuye al encontrarse más cerca a la unión amelodentinaria, lo cual concuerda con mediciones realizadas por Park et al (23). Además, es notorio que existen diferencias entre las durezas halladas entre hombres y mujeres. La dureza en la diazona fue medida para los esmaltes externo, medio e interno, debido a la facilidad de hallar los prismas de hidroxiapatita en este sentido en las tres diferentes capas del esmalte.

La dureza a su vez fue calculada para la parazona en diferentes muestras (**figura 38**) Los cálculos fueron hechos únicamente para los esmaltes medio e interno debido a la inexistencia de prismas en sentido paralelos (parazona) en el esmalte externo. Según lo reflejado, la dureza en las muestras es menor en pacientes femeninas. Los valores de dureza entregados por los dientes de hombres disminuyeron al menos un 5% desde el esmalte medio hasta llegar al esmalte interno. En la misma línea, los valores entregados por muestras de mujeres disminuyen un 9% desde el esmalte medio hasta el esmalte interno.



*Figura 39. Valores de Dureza hallados tanto en el sentido de la parazona como en el sentido de la diazona para hombres y mujeres.*

En la **figura 39** se realizan comparaciones para los valores de tenacidad hallados en los esmaltes externo, medio e interno, en el sentido de los prismas conocido como diazona. A diferencia de la dureza hallada para estas partes del esmalte en el mismo sentido, la tenacidad a la fractura aumenta al acercarse a la dentina. Para hombres, los valores hallados son inferiores a los encontrados para muestras femeninas, y aumentan desde el esmalte externo hasta el esmalte interno su tenacidad tan sólo un 3% del valor inicial. Las mujeres logran aumentar la tenacidad un 5% del valor hallado en el esmalte externo al compararse con lo obtenido para el interno. A su vez, La tenacidad a la fractura calculada en la parazona muestra valores mayores a los encontrados en la diazona. Para muestras del sexo masculino, los valores obtenidos son menores que los hallados en muestras provenientes de mujeres, pero aumentan al compararse con los obtenidos en para la diazona en las mismas partes del esmalte dental. Esto es indicio de la propiedad del diente a detener el crecimiento de las grietas con mayor facilidad al encontrarse en el sentido de la parazona, aumentando en mujeres un 2% entre más cercano se está de la unión amelodentinaria y en hombres un 3%, y con valores consistentes a los encontrados por Park y colaboradores.



*Figura 40. Comparación entre los valores obtenidos para la tenacidad a la fractura en muestras masculinas y femeninas en el sentido de la diazona y la parazona.*

La fragilidad fue calculada para el esmalte en tres diferentes partes del mismo, donde los prismas de hidroxiapatita estuviesen orientados en el sentido conocido como diazona (**figura 40**). Los resultados obtenidos para la fragilidad son semejantes entre muestras masculinas y femeninas al realizarse los ensayos cerca de la superficie oclusal, sin embargo, existen diferencias al acercarse a la dentina, donde el esmalte de las mujeres muestra ser menos frágil que el de los hombres. Los valores de fragilidad en dientes masculinos disminuyen un 19% desde la superficie oclusal hasta la unión amelodentinaria, y un 21% para las muestras femeninas. Un alto valor de fragilidad tiene como consecuencia la incapacidad del mismo de deformarse plásticamente tras esfuerzos aplicados, por lo cual es deseable que los valores de la misma sean bajos. La fragilidad hallada en la parazona con respecto a la distancia normalizada desde el esmalte medio hasta la unión amelodentinaria se muestra también en la **figura 41**. La fragilidad hallada para la parazona es mayor en muestras de pacientes de sexo masculino, decreciendo al acercarse al DEJ. Las muestras de mujeres exhiben un comportamiento similar,

decreciendo su fragilidad en un 27%, superior al 23% calculado para las muestras de hombres. Los valores hallados son consistentes con los hallados por Park y colaboradores.

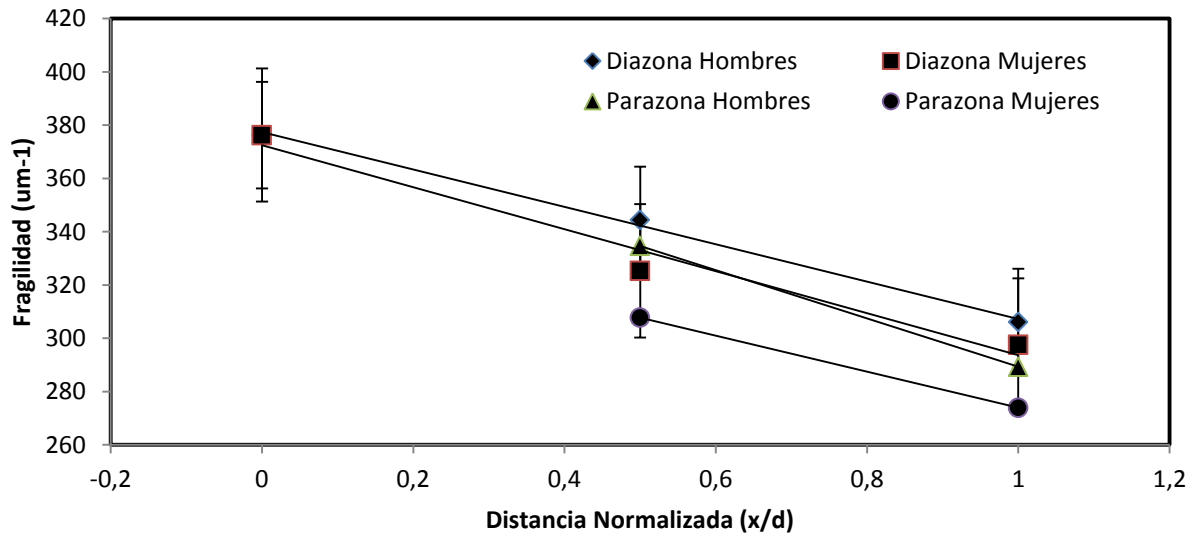


Figura 41. Valores de fragilidad encontrados en parazona y diazona para muestras de hombres y mujeres.

En la **figura 39** se muestran los resultados obtenidos para la dureza en muestras de mujeres y hombres jóvenes, mediante la realización de ensayos mecánicos, tomando en cuenta el sentido de los prismas de hidroxiapatita, con la finalidad de encontrar si es posible que esto afecte las propiedades mecánicas halladas para ambas direcciones. La dureza hallada para la diazona en hombres fue mayor al comparar con los resultados hallados para la dureza en esa misma zona en especímenes femeninos. Sin embargo, a pesar de encontrar diferencias entre ambos sexos, se debe resaltar que las barras de error que estadísticamente generan la confiabilidad entre ensayos se superponen, lo cual muestra que no existen diferencias significativas, aunque si apreciables, entre ambos sexos para las tres diferentes partes del esmalte dental (externo, medio e interno), tanto para la diazona como para la parazona, pues en ninguna de las dos gráficas puede apreciarse que sus barras de error no estén una sobre otra.

La tenacidad a la fractura de las muestras obtenidas provenientes de ambos sexos fue calculada y sus resultados enseñados en la **figura 40** para la diazona y para la parazona, para dos o tres diferentes partes del esmalte según sea el caso. De acuerdo a la gráfica, existen diferencias entre las tenacidades a la fractura de muestras masculinas y femeninas, siendo estas últimas las que obtienen un mejor desempeño bajo carga. Sin embargo, solamente son significativas estadísticamente estas diferencias en el esmalte medio en el sentido de la parazona. De resto, no existen suficientes elementos para concluir que es apreciable una alta diferencia entre ambos sexos, y por ende, la capacidad para absorber energía de dichas muestras dentales es muy semejante, a pesar de que si existen diferencias según los resultados hallados para dichos grupos.

La fragilidad obtenida para la diazona y para la parazona en la **figura 41** presenta diferencias para ambos sexos, siendo menor y, por ende, más deseable un comportamiento como el mostrado por muestras de mujeres jóvenes, aunque, al igual que la dureza y la tenacidad examinada para hombres y mujeres, estadísticamente dichas diferencias carecen de relevancia, por lo cual no es posible concluir que si existe significancia entre las diferencias encontradas, aunque puedan apreciarse cambios entre sus resultados a veces cerca de considerarse significativos. Por ende, a pesar de que las propiedades mecánicas encontradas para las mujeres jóvenes de las cuales se obtuvieron las muestras son de mejor desempeño, no tienen alta significancia, a excepción de lo encontrado para el esmalte medio en la parazona de hombres y mujeres.

Las muestras de pacientes femeninas son las que mejores resultados acerca de su comportamiento mecánico han mostrado. La dureza, tenacidad y fragilidad hallada para el esmalte medio e interno de dichas muestras presenta cambios entre la diazona y la parazona, donde la diazona presenta un menor desempeño. Sin embargo, sus diferencias no son estadísticamente relevantes a excepción del caso de la tenacidad hallada para ambos sentidos en el esmalte interno, pues allí se puede apreciar que si hay significancia entre estas diferencias, por lo que es posible afirmar que la tenacidad de la parazona para

muestras femeninas muestra estadísticamente mejores resultados que los prismas en sentido de diazona para la misma parte del esmalte.

#### 5.4 *CONCLUSIONES*

Utilizando técnicas de microindentación fue posible estudiar la dureza, tenacidad a la fractura aparente y fragilidad del esmalte dental de pacientes colombianos jóvenes tanto masculinos como femeninos. Los resultados encontrados fueron consistentes con estudios realizados en pacientes de Norteamérica, llevando a reconocer que entre pacientes jóvenes tanto en los estados unidos como en Colombia, no existe una diferencia apreciable en cuanto a las propiedades mecánicas del esmalte dental. Algunos investigadores han mostrado algunas reservas sobre las diferencias en el comportamiento mecánico del esmalte dental en pacientes jóvenes de diferentes razas tanto en hombres como en mujeres. Sin embargo, en los ensayos realizados no se hizo dicha distinción, la cual es un tema que merece investigación adicional en estudios posteriores. Sin embargo, esta conclusión no puede ser extendida a tejidos envejecidos, en donde las condiciones alimenticias y raciales pueden modificar las características mecánicas. Este tema requiere mayor análisis y será el tema de futuros estudios. Además, es importante apreciar que el comportamiento mecánico del esmalte dental, al comparar los sexos masculino y femenino, no muestra diferencias estadísticamente significativas en sus propiedades mecánicas (figura 8). Se espera, basado en trabajos previos, como los realizados por Park et al (59) y Bajaj et al (30), que diferencias en dichas propiedades del esmalte se presenten en pacientes mayores (>50 años) donde son mucho más apreciables los cambios en su comportamiento debido a procesos de pérdida de material orgánico del esmalte.

Se encontró que las diferentes propiedades mecánicas del esmalte dental presentan un cambio desde la superficie oclusal hasta la DEJ, reduciéndose la dureza y fragilidad e

incrementándose la tenacidad a la fractura aparente. Este resultado es explicado por la mayor cantidad de material orgánico presente en este tejido al acercarse a la dentina, lo que le permite detener de una mejor manera el crecimiento de grietas.

Las propiedades mecánicas presentes en el esmalte dental muestran un excepcional comportamiento al impedir que grietas en su interior se propaguen. Estas características pueden ser de gran utilidad para el diseño de nuevos materiales inspirados en comportamientos naturales que permitan, mediante el uso de elementos simples, obtener comportamientos significativos.

El comportamiento mecánico hallado luego de realizar los experimentos anteriormente mencionados es válido para dientes de pacientes en edades entre 19 y 28 años. Sería de gran utilidad realizar los mismos ensayos en dientes de personas mayores (de 50 años en adelante) para comprender mejor los cambios, si los hay, en el comportamiento mecánico del esmalte dental a través del tiempo.

Los valores de dureza hallados para muestras masculinas y femeninas para las diferentes capas del esmalte presentan diferencias, según lo descrito en la discusión y graficado en las **figuras 38, 39 y 40**. Sin embargo, desde un punto de vista estadístico, no existe relevancia entre lo encontrado para uno u otro sexo, debido al alto porcentaje de error hallado al realizar los ensayos. Es necesario realizar nuevos estudios y comparar las muestras masculinas con las femeninas mejorando la técnica para la indentación, pues de acuerdo con las dificultades encontradas para la realización de ensayos de dureza (dificultades para distinguir entre diazona y parazona sin la utilización de ataques químicos) es posible que esto diese paso a errores que distorsionaron los resultados finales.

Existen diferencias en el comportamiento mecánico hallado al compararse la diazona y la parazona en diferentes partes del esmalte dental, donde el desempeño es mucho más óptimo en la parazona. Sin embargo, el porcentaje de error en ambos casos sigue siendo

alto, lo cual no permite concluir que estas diferencias tengan gran relevancia y sean significativas, a excepción de lo encontrado para la tenacidad a la fractura en el esmalte interno, donde se encontró que si son significativas dichas diferencias entre parazona y diazona. Una mejoría en la realización de los ensayos podría disminuir los porcentajes de error, lo cual se vería reflejado en el resultado final.

## 6 CARACTERÍSTICAS AUTORREPARATIVAS DEL ESMALTE DENTAL

### 6.1 INTRODUCCIÓN

El esmalte dental es el tejido más duro y más altamente mineralizado del cuerpo humano. El esmalte está compuesto de aproximadamente 96% material mineral, y el restante porcentaje de composición corresponde a un 3% de agua y un 1% de contenido orgánico (64). La parte mineral corresponde a cristales a escala nanométrica de hidroxiapatita carbonatada (entre 25 a 30 nm de espesor, entre 60 y 70 nm de ancho y longitudes mucho mayores) los cuales se juntan unos con otros y forman prismas en forma de “ojo de cerradura” con diámetros entre 4 y 8  $\mu\text{m}$  de diámetro (64) (65). Estas barras, cuyos tamaños son a escalas micrométricas, más conocidas como “prismas” de hidroxiapatita, están organizadas en forma de columnas, las cuales se extienden desde la unión amelodentinaria hasta la superficie oclusal. Estos prismas están rodeados parcialmente por capas de una matriz orgánica sin contenido de colágeno, cuyo espesor puede ser mucho menor a 1 $\mu\text{m}$  (62) (66) (67).

Debido a su composición, el comportamiento mecánico del esmalte dental es único, al compararse con otros tejidos duros (68). La dureza y el módulo de elasticidad del esmalte dental varían en rangos desde 3 GPa hasta 6 GPa y entre 70GPa hasta 120 GPa respectivamente, dependiendo ambos de la ubicación de su evaluación (48) (58) (50) y la edad del paciente (23), Estas dos propiedades se incrementan desde la unión amelodentinaria hasta la superficie oclusal. Su alta dureza y módulo de elasticidad proveen al diente resistencia al desgaste y rigidez, propiedades que ayudan al esmalte a proteger la dentina y la pulpa de lesiones. Al ser evaluados mediante técnicas de microindentación, la tenacidad aparente a la fractura posee rangos que varían desde 0,4 hasta 1,5  $\text{MPa}\cdot\text{m}^{1/2}$  (69) (48) (29) (23) (70). La resistencia des esmalte al crecimiento de

las grietas ha sido también evaluado mediante enfoques convencionales de mecánica de la fractura (30) (71) (72), y cuyos resultados muestran un aumento en la tenacidad a la fractura llegando a valores que exceden  $2 \text{ MPa}\cdot\text{m}^{1/2}$ .

Aunque esfuerzos substanciales se han realizado para comprender el nacimiento y crecimiento de las grietas en el esmalte dental, no existen muchos estudios que se enfoquen en la capacidad del esmalte para reparar el daño. Las grietas se observan más frecuentemente en el esmalte, en la superficie del diente, sin embargo raramente se ve fractura dental, tal vez incluso el esmalte presenta reparación en su estructura. Sognaes (73) estudió la propensión de los prismas a autorrepararse, refiriéndose a defectos intrínsecos hipocalcificados cerca a la unión amelodentinaria (74). Hayashi (75) identificó agregados minerales en grietas ubicadas en el esmalte externo del diente, lo cual lo llevó a concluir que la reparación se daba debido a depósito mineral en el interior de las grietas. Más recientemente, Myoung et al (76), estudiaron el efecto de los prismas de hidroxiapatita en el crecimiento de las grietas. Ellos argumentaron que los fluidos entraban a las grietas y esto promovía el desarrollo de capas internas adhesivas, las cuales se endurecen con el tiempo lo cual ayuda a reparar las grietas. Sin embargo, ningún estudio ha monitoreado la reparación por periodos extensos o incluso cuantificado los procesos de reparación de grietas en el esmalte.

El tema de la autorreparación se ha estudiado luego de observar los sistemas biológicos, tanto así que uno de los objetivos principales de la Biomimética es la de encontrar e imitar las formas como los materiales naturales se curan a si mismos luego de daños en su estructura interna. Actualmente, y utilizando polímeros, grietas que crecen y avanzan activan la liberación de agentes curadores que llenan y luego curan la grieta mediante reacciones químicas (55). Si en realidad ocurre la autorreparación en el esmalte dental, el entendimiento del mecanismo mediante el cual esta ocurre puede ser de gran aplicación para otros sistemas de materiales.

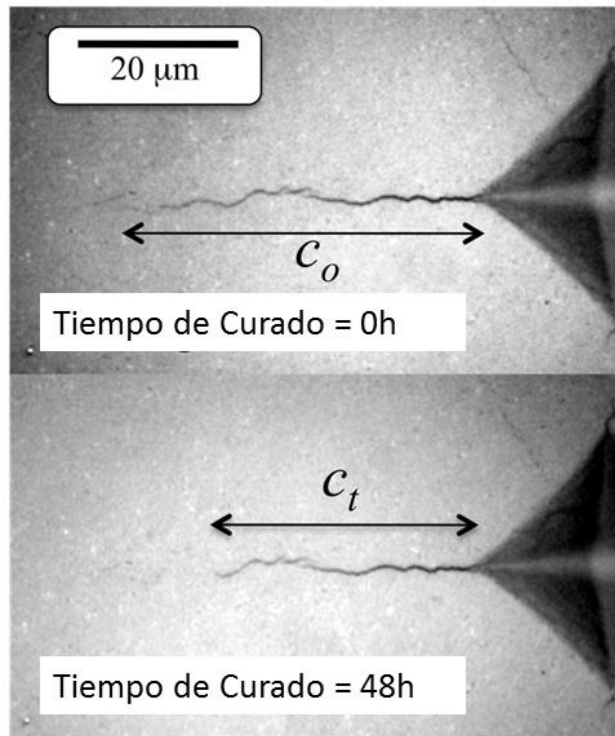
## 6.2 MATERIALES Y MÉTODOS

Terceros molares (N = 21) fueron obtenidos de pacientes con consentimiento escrito y siguiendo todos los protocolos requeridos tanto por la Universidad Cooperativa de Colombia (UCC) y la Universidad EAFIT. Los dientes fueron colectados por donación de los pacientes y siguiendo los parámetros especificados en el **capítulo 5**. Los métodos de conservación, tratamiento, corte e indentación, son los mismos que los especificados en la sección de materiales y métodos en el capítulo del comportamiento mecánico del esmalte dental.

Se realizaron indentaciones con cargas de 3N en 21 muestras y se procedió a calcular la longitud de las grietas surgidas de dichas indentaciones. Las muestras fueron luego sumergidas en solución salina a temperatura ambiente y en periodos de 6, 24, 48, 96 y 168 horas fueron examinadas y medidas las grietas. La longitud original de la grieta ( $C_o$ ) y la longitud de la grieta luego de un tiempo específico ( $C_t$ ) fueron utilizadas para calcular la longitud de la grieta curada, como se observa en la **figura 42**. La eficiencia del curado ( $\eta$ ) fue definida como función de tiempo, de acuerdo a:

*Ecuación 6*

$$\eta = \frac{C_o - C_t}{C_o} = \frac{C_h}{C_o}$$



*Figura 42. Indentación en el esmalte dental para la determinación de la tenacidad aparente a la fractura y la reparación de las grietas.  $C_0$  indica la medida de la grieta inmediatamente luego de la indentación y  $C_t$  la medida de la misma grieta luego de un periodo de tiempo designado.*

### 6.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Luego de la inducción de grietas mediante indentaciones, se pudo verificar que dichas grietas comenzaban a reducir sus longitudes (**figura 42**), como si se estuviesen reparando. Este proceso se hizo mayor con el tiempo, tanto así que porciones de la grieta no fueron visibles luego de determinada cantidad de tiempo (**figura 43**).

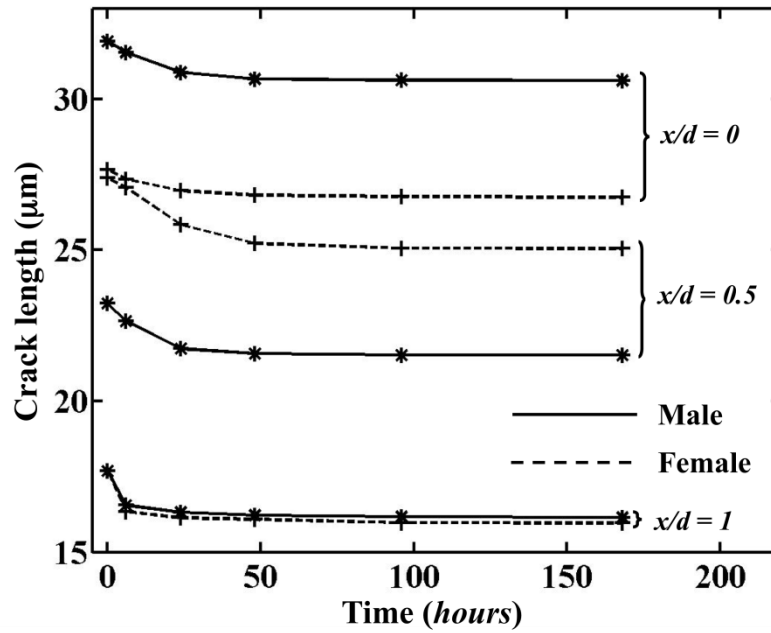


Figura 43. Longitud de las grietas evaluadas para pacientes masculinos y femeninos, dependiente del tiempo ocurrido luego de la generación de las grietas y de su profundidad

El grado de curado se presenta en términos de eficiencia de curado (**ecuación 7**) en la **figura 44** en la superficie oclusal ( $x/d = 0$ ), aproximadamente a la mitad del espesor del esmalte ( $x/d = 0,5$ ) y adyacente a la unión amelodentinaria ( $x/d=1$ ). En esta figura se hace evidente que el grado de curado es una función de ubicación y tiempo, ocurriendo la más óptima reparación de las grietas cerca a la unión amelodentinaria ( $x/d=1$ ).

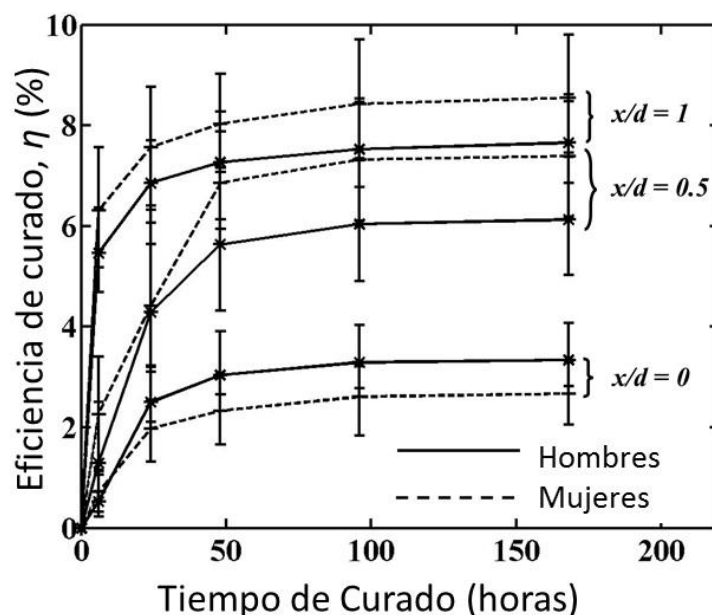
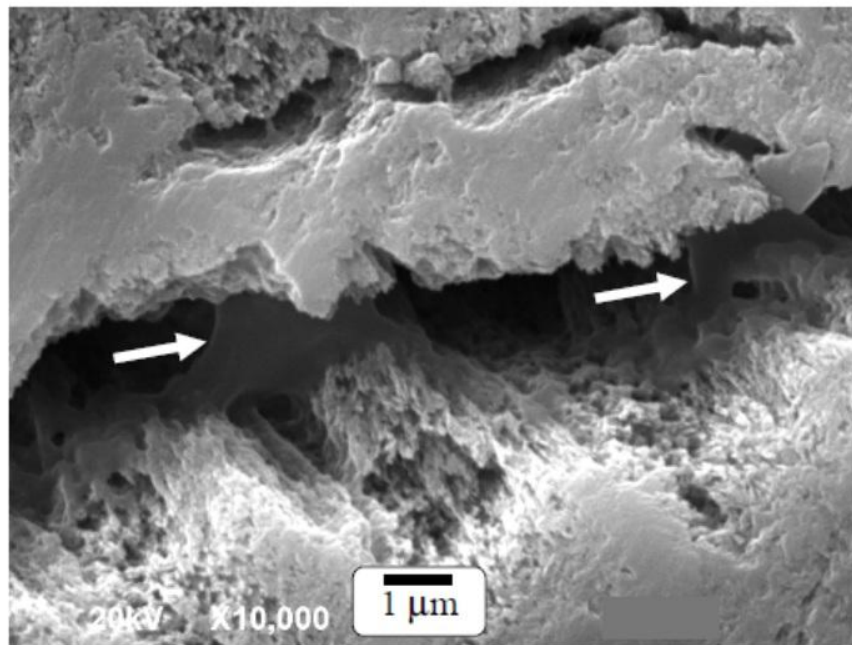


Figura 44. Eficiencia del curado del esmalte dental para pacientes de ambos sexos, dependiente del tiempo ocurrido luego de la inducción de las grietas y de la profundidad a la cual se hallan.

Más del 90% del total de la reparación obtenida para las grietas ocurre en las primeras 24 horas. También parece que existen diferencias en la eficiencia del curado de acuerdo al género. En la superficie oclusal la reducción de la longitud de las grietas fue mayor para el esmalte de pacientes hombres, aunque cuando aumentaba la profundidad del ensayo y se realizaban las indentaciones más cerca de la unión amelodentinaria, la eficiencia de reparación para pacientes mujeres se hacía mayor que para pacientes masculinos, a pesar de que dichas diferencias no eran significativas ( $p > 0,05$ ).

Resultados de la evaluación mostraron que en realidad sí existía reducción de la grieta respecto al tiempo, lo cual era indicativo de un proceso de reparación, como también de que había variaciones espaciales que influían en el grado de curado. Pero, ¿qué mecanismos contribuyen a esta autorreparación? La reducción en la longitud de las grietas puede ser el resultado de recuperaciones viscoelásticas o a través de la operación de esfuerzos para el cerramiento de las grietas. Una imagen SEM de la punta de una de las

grietas, poco después de su inducción se muestra en la **figura 45**. Existe evidencia de la existencia de proteínas orgánicas que actúan como “puentes” entre ambos lados de las grietas u contribuyen al cerramiento de las mismas. Este material orgánico posee características viscoelásticas (58) (73) (77) (55) (78) y es evidente, gracias a las **figuras 45 y 48**, que este material orgánico genera esfuerzos de cierre, lo cual facilita la unión de ambos lados de la grieta o, lo que es lo mismo, su curado.



*Figura 45. Imagen tomada mediante SEM de una grieta inducida por indentación. La flechas indican ligamentos orgánicos que unen ambas caras de la grieta, lo cual ayuda al proceso de curado.*

El tiempo necesario para alcanzar el umbral de eficiencia decrece respecto al tiempo, pasando de aproximadamente 48 horas para los esmaltes externo y medio hasta aproximadamente 24 horas para el esmalte interno. Esta tendencia puede estar relacionada con la cantidad de proteínas, pues existe un incremento en la cantidad de contenido orgánico en el esmalte dental al acercarse a la unión amelodentinaria. En efecto, debido a que el material orgánico es responsable de mantener unidas las caras de las grietas y de que se presente un comportamiento viscoelástico, se esperaría que hubiese una relación entre la cantidad de material orgánico y la capacidad del material a

autorrepararse. Las diferencias entre la eficiencia de curado respecto al género (**figura 44**) sugiere que pudiese existir una mayor cantidad de material orgánico en el esmalte de mujeres jóvenes al ser comparados los resultados con los obtenidos para jóvenes masculinos. La autorreparación de las grietas de acuerdo al género es consistente a los resultados encontrados para la **figura 43**, en donde la tenacidad a la fractura aparente para el esmalte dental de las mujeres es mayor que la tenacidad a la fractura hallada para los esmaltes de pacientes masculinos, al igual que la fragilidad hallada es menor, por lo cual ambos resultados sugieren la existencia de un mayor contenido orgánico en el esmalte femenino.

La reducción de la intensidad de los esfuerzos asociada con el “puenteo” entre las dos caras de una grieta gracias al contenido orgánico entre ellas, puede ser estimado mediante el uso del modelo de tracción uniforme planteado por Dugdale en 1960 (79) y definido como

**Ecuación 7**

$$K_{b(\text{proteinas})} = 2\sigma_b f_p \left( \frac{2l_b}{\pi} \right)^{1/2}$$

Donde  $\sigma_b$  es el esfuerzo de puenteo nominal en la matriz proteínica (se asume que es equivalente al esfuerzo de cedencia de las proteínas  $\sim 20 \text{ MPa}$  (27) (80)),  $f_p$  es la fracción de área de los ligamentos de puenteo de la matriz orgánica (0,2 para la dentina y el esmalte, debido a observaciones de las mismas grietas), y  $l_b$  es la longitud de la zona donde ocurre el puenteo (10 - 200 $\mu\text{m}$ , por observaciones en el recorrido de la grieta). Basado en cálculos realizados utilizando la **ecuación 7**, se pudo estimar que la tracción uniforme tenía rangos entre  $0,02 \text{ MPa}\sqrt{m} \leq K_{b(\text{proteinas})} \leq 0,09 \text{ MPa}\sqrt{m}$ , lo cual es aproximadamente el 10% de la tenacidad a la fractura calculada para el esmalte y consistente con el grado de reparación hallado para el esmalte (**figura 44**).

Basado en la estimación de las contribuciones de los esfuerzos por puenteo al comportamiento de la tenacidad en el material, podría parecer que el proceso de

reparación pudiese ser función tanto de recuperación viscoelástica como de mecanismos intrínsecos de tenacidad en las proteínas al interior del esmalte. A pesar de que ambos mecanismos pudiesen contribuir al cerramiento de las grietas, no necesariamente se podría concluir que se reparan las fracturas en el material. Sin embargo, la matriz orgánica ofrece otro “puenteo” a demás del componente mecánico ya mencionado. En el ambiente oral, las proteínas de puenteo poseen un papel importante para la transferencia de iones y el proceso de remineralización, el cual puede dar como resultado la reparación de la grieta y, por ende, el reducir los esfuerzos locales de intensidad. Pero, con el fin de entender completamente los mecanismos inherentes reparativos del esmalte y su relación con el contenido orgánico, sería necesario realizar inducciones de grietas y evaluaciones de su crecimiento utilizando métodos convencionales para el cálculo de la fractura y el cálculo de la tenacidad luego del curado (como el presentado por (30) o por (72)). Debido a esto, la reparación de las grietas puede ser evaluada como función del contenido de material orgánico, y el incremento de la tenacidad podría ser cuantificado. Esta propuesta se encuentra más allá del enfoque presentado acá, y se espera que sea un tema para trabajo futuro. Sin embargo, el estudio actual ha entregado la primera evidencia actual de que el esmalte dental presenta procesos mecánicos relacionados con la autorreparación. Estudios futuros de este importante tema pueden servir como bioinspiración para el diseño y la fabricación de materiales compuestos de alto desempeño.

## 6.4 *CONCLUSIONES*

Mediante el uso de técnicas de microindentación, tenacidad a la fractura aparente y fragilidad para el esmalte dental, fueron calculados para pacientes colombianos. La tenacidad a la fractura aparente se incrementó al acercarse a la unión amelodentinaria, en comparación con la fragilidad del material que se incrementó con la proximidad a la superficie oclusal. Ambas propiedades y sus distribuciones mostraron un desempeño consistente a los resultados obtenidos en ensayos realizados en paciente norteamericanos, lo cual sugiere que factores como la raza o las costumbres alimenticias no contribuyen a las propiedades mecánicas presentadas por el esmalte dental. Además, las longitudes de las grietas decrecieron respecto al tiempo, lo cual sugiere que el esmalte dental presenta comportamiento autorreparativo. El proceso de curado alcanzó su punto máximo luego de 48 horas, lo cual entregó como resultado un 10% de reducción en la longitud de las grietas. La eficiencia de la reparación fue mayor en cercanías de la unión amelodentinaria que cerca a la superficie oclusal, lo cual parece darse como función de las distribuciones espaciales de las proteínas orgánicas. La eficiencia de la autorreparación también fue mayor para el esmalte de pacientes femeninas.

## 7 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 7.1 CONCLUSIONES

- Utilizando técnicas de microindentación fue posible estudiar la dureza, tenacidad a la fractura aparente y fragilidad del esmalte dental de pacientes colombianos jóvenes tanto masculinos como femeninos. Los resultados encontrados fueron consistentes con estudios realizados en pacientes de Norteamérica, llevando a reconocer que entre pacientes jóvenes tanto en los estados unidos como en Colombia, no existe una diferencia apreciable en cuanto a las propiedades mecánicas del esmalte dental. Algunos investigadores han mostrado algunas reservas sobre las diferencias en el comportamiento mecánico del esmalte dental en pacientes jóvenes de diferentes razas tanto en hombres como en mujeres. Sin embargo, en los ensayos realizados no se hizo dicha distinción, la cual es un tema que merece investigación adicional en estudios posteriores. Este tema requiere mayor análisis y será el tema de futuros estudios Además, es importante apreciar que el comportamiento mecánico del esmalte dental, al comparar los sexos masculino y femenino, no muestra diferencias estadísticamente significativas en sus propiedades mecánicas (figura 8). Se espera, basado en trabajos previos, como los realizados por Park et al (59)] y Bajaj et al (30)], que diferencias en dichas propiedades del esmalte se presenten en pacientes mayores (>50 años) donde son mucho más apreciables los cambios en su comportamiento debido a procesos de pérdida de material organico del esmalte.
- Se encontró que las diferentes propiedades mecánicas del esmalte dental presentan un cambio desde la superficie oclusal hasta la DEJ, reduciéndose la dureza y fragilidad e incrementándose la tenacidad a la fractura aparente. Este resultado es explicado por la mayor cantidad de material orgánico presente en este tejido al acercarse a la dentina, lo que le permite detener de una mejor manera el crecimiento de grietas.

- Los valores de dureza hallados para muestras masculinas y femeninas para las diferentes capas del esmalte presentan diferencias, según lo descrito en la discusión y graficado en las **figuras 38, 39 y 40**. Sin embargo, desde un punto de vista estadístico, no existe relevancia entre lo encontrado para uno u otro sexo, debido al alto porcentaje de error hallado al realizar los ensayos. Existen diferencias en el comportamiento mecánico hallado al compararse la diazona y la parazona en diferentes partes del esmalte dental, donde el desempeño es mucho más óptimo en la parazona. Sin embargo, el porcentaje de error en ambos casos sigue siendo alto, lo cual no permite concluir que estas diferencias tengan gran relevancia y sean significativas, a excepción de lo encontrado para la tenacidad a la fractura en el esmalte interno, donde se encontró que si son significativas dichas diferencias entre parazona y diazona. Una mejoría en la realización de los ensayos podría disminuir los porcentajes de error, lo cual se vería reflejado en el resultado final.
- Mediante el uso de técnicas de microindentación, tenacidad a la fractura aparente y fragilidad para el esmalte dental, fueron calculados para pacientes Colombianos. La tenacidad a la fractura aparente se incrementó al acercarse a la unión amelodentinaria, en comparación con la fragilidad del material que se incrementó con la proximidad a la superficie oclusal. Ambas propiedades y sus distribuciones mostraron un desempeño consistente a los resultados obtenidos en ensayos realizados en paciente norteamericanos, lo cual sugiere que factores como la raza o las costumbres alimenticias no contribuyen a las propiedades mecánicas presentadas por el esmalte dental. Además, las longitudes de las grietas decrecieron respecto al tiempo, lo cual sugiere que el esmalte dental presenta comportamiento autorreparativo. El proceso de curado alcanzó su punto máximo luego de 48 horas, lo cual entregó como resultado un 10% de reducción en la longitud de las grietas. La eficiencia de la reparación fue mayor en cercanías de la unión amelodentinaria que cerca a la superficie oclusal, lo cual parece darse como

función de las distribuciones espaciales de las proteínas orgánicas. La eficiencia de la autorreparación también fue mayor para el esmalte de pacientes femeninas.

## 7.2 RECOMENDACIONES

Para obtener un completo análisis comparativo entre las propiedades mecánicas del esmalte dental, es necesario tener en cuenta la variable de la edad de los pacientes, debido a que estudios previos han reportado cambios a través de los años. Muestras de pacientes mayores a 50 años deben ser analizadas mecánicamente en estudios posteriores para completar la caracterización del material.

Las diferencias encontradas para ambos sentidos de los prismas de hidroxiapatita no son significativas estadísticamente. Sin embargo, los métodos mediante los cuales se obtuvieron los datos presentaron un alto porcentaje de error debido a las dificultades durante las indentaciones de las muestras. Es importante tener en cuenta para ensayos futuros los sentidos de los prismas de hidroxiapatita previo a la indentación para así disminuir los errores como consecuencia.

El análisis del cerramiento de las grietas en el esmalte dental debe ser completado mediante la utilización de métodos como la microscopía de fuerza atómica (AFM) debido a las altas resoluciones obtenidas mediante este método. Es importante llevar a cabo un seguimiento de las propiedades encontradas para este material, debido a su importancia como inspirador para la creación de modernos materiales ingenieriles.

Estudios acerca de la cantidad de material orgánico existente en el interior del esmalte dental pueden ser complementarios a este trabajo, debido a que entregarían una relación entre el comportamiento mecánico y las proteínas que motivan dicho comportamiento.

## 8 BIBLIOGRAFÍA

1. Vincent J. Structural Biomaterials. Princeton University Press, New Jersey. 1991.
2. Arzt E. From Micro to Nano Contacts in Biological Attachment Devices. Materials Science Engineering. 2003;; p. 10603-10606.
3. Srinivasam AV, Haritos G. Biomimetics: Advancing man-made Materials Through Guidance from Nature. Applied Mechanical Review, 44. 1991;; p. 46-82.
4. Meyers MA, Chen PY, Lin AYM, Seki Y. Biological Materials: Structure and Mechanical Properties. Progress in Materials Science 53. 2008;; p. 1-206. |
5. Meyers MA, Chen PY, López MI, Seki Y, Lin AYM. Biological Materials: A Materials Science Approach. Journal of the Mechanical Behaviour of Biomedical Materials, 4. 2011;; p. 626-657.
6. Lowestern HA, Weiner S. On Biomineralization. Oxford University Press, NY. 1989.
7. Mann S. Biomineralization: Principles and Concepts in Bioinorganic Materials Chemistry. Oxford University Press, New York. 2001.
8. Fratzl P, Weinkamer R. Nature's Hierarchical Materials. Progress in Materials Science. 2007;; p. 1263-1266.
9. Buehler MJ. Nano and Micromechanical Properties of Hierarchical Biological Materials and Tissues. Journal of Materials Science. 2007;; p. 8765-8770.
10. Buehler MJ, Kelen S, Ackbarow T. Theoretical and Computational Hierarchical Nano Mechanics of Protein Materials: Deformation and Fracture. Progress in Materials Science. 2008;; p. 1101-1241.

11. Weaver JC, Wang Q, Miseres A, Tantuccio A, Stromberg R, Bozhilov KN, et al. Analysis of an Ultra Hard Magnetic Biomineral in Chiton Radular Teeth. *Materials Today* 13. 2010;; p. 42-52.
12. Saunders M, Kong C, Shaw JA, Macey DJ, Clode PL. Characterization of Biominerals in the Radular Teeth of the Chiton *Aeanthopleura Hirtosa*. *Journal of Structural Biology*. 2009;; p. 55-61.
13. ASTM. Standard Test Method for Vickers Indentation Hardness of Advanced Ceramics. ASTM1327-08. 2008.
14. Chen PY, Lin AYM, Lin YS, Seki Y, Stokes AG, Peyras J, et al. Structural and Mechanical Properties of Selected Biological Materials. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2008;; p. 208-226.
15. Ashby MF. On the Engineering Properties of Materials. *Acta Metallurgica* 37. 1989;; p. 1273-1293.
16. Wegst UGK, Ashby MF. The Mechanical Efficiency of Natural Materials. *Philosophical Magazine*. 2004;; p. 2167-2186.
17. Ashby M. *Materials Selection and Mechanical Design*. Pergamon Press; New York. 1993.
18. Lai MO, Lim KB. On the Prediction of Tensile Properties from Hardness Test. *Journal of Materials Science*, 26. 1991;; p. 2031-2036.
19. Chang SC, Jahn MT, Wan CM, Wan JYM, Hsu TK. The Strengthening Factors of Thermomechanically Treated High Carbon Steels. *Journal of Material Science*, 11. 1976;; p. 623.

20. Kohlhofer W, Penny RK. Hardness Testings as a Means for Creep Assessment. *Journal of Pressure Vessels*, 61. 1995;; p. 65-75.
21. International A. *Metallography and Microstructures*. ASM Handbook, 9. 1985.
22. Niihara K, Morena R, Hasselman DPH. Evaluation of K<sub>IC</sub> of Brittle Solids by the Indentation Method with Low Crack-to-indent Ratios. *Journal of Material Science Letters*, 1. 1982;; p. 13-16.
23. Park S, Quinn JB, Romberg E, Arola D. On the Brittleness of Enamel and Selected Dental Materials. *Dental Materials*, 24. 2008;; p. 1477-1485.
24. He B, Shengbin H, Zhang C, Jing J, Hao Y, Xiao L, et al. Mineral Densities and Elemental Content in Different Layers of Healthy Human Enamel with Varying Teeth Age. *Archives of Oral Biology*. doi:101016/j.archoralb10.2011.02.115.
25. Gao H. Application of Fracture Mechanics Concepts to Hierarchical Biomechanics of Bone and Bone-Like Materials. *International Journal of Fracture*, 138. 2006;; p. 101-137.
26. Gao H, Ji B, Jager IL, Arzt E, Fratzl P. Materials Become Insensitive to Flaws at Nanoscale: Lessons from Nature. *Process of Natural Academic Science USA* 100. 2003;; p. 5597-5600.
27. Ji B, Gao H. Mechanical Properties of Nanostructure of Biological Materials. *Journal of Mechanics and Physics of Solids*, 52. 2004;; p. 1963-1990.
28. Yao H, Gao H. Multi-Scale Cohesive Laws in Hierarchical Materials. *International Journal of Solid Structures*, 45. 2008;; p. 3627-3643.
29. White SN, Luo W, Paine ML, Fong H, Sarikaya M, Snead ML. Biological Organization of

- Hydroxyapatite Crystallites Into a Fibrous Continuum Toughens and Controls Anisotropy in Human Enamel. *Journal of Dental Restoration*, 80. 2001;; p. 321-326.
30. Bajaj D, Arola D. On the R-Curve Behavior of Human Tooth Enamel. *Biomaterials*, 30. 2009;; p. 4037-4046.
31. He LH, Swain MV. Enamel-A "Metallic-like" Deformable Composite. *Journal of Dentistry*, 35. 2007;; p. 431-437.
32. Rief M, Gauntel M, Oesterhelt F, Fernández J, Gaub H. Reversible Unfolding of Individual Titin Immunoglobuline Domains by AFM. *Science*, 276. 1997;; p. 1109-1112.
33. Fontner GE, Hasselkan T, Kindt JH, Weaver JC, Birkedal H, Pechenikil P, et al. Sacrificial Bonds and Hidden Length Dissipate Energy as Mineralized Fibrils Separate During Bone Fracture. *Natural Materials* 4. 2005;; p. 612-616.
34. Kirkham J, Andreev I, Robinson C, Bookes SJ, C SR, A SD. Evidence for Direct Amelogenin-Target Cell Interaction Using Dynamic Force Spectroscopy. *European Journal of Oral Science*, 114. 2006;; p. 219-224.
35. Lee GU, Crisey LA, Colton RJ. Direct Measurement of the Forces Between Complementary Strands of DNA. *Science*, 266. 1994;; p. 771-773.
36. Ikai A. Nanomechanics of Proteins With Possible Applications. *Supperlative Microstructures*, 31. 2002;; p. 43-62.
37. Wang T, Ikai A. Protein Stretching III: Force-Extension Curves of Tethered Bovine Carbonic Anhydrase B to the Silicon Substrate Under Native Intermediate and Dematuring Conditions. *Japan Journal of Applied Physics*, 38. 1999;; p. 3912-3917.
38. Semistonov GV, Uversky VN, Sokolovsky IV, Gutin AM, Razgulyaev OI, Rodinov NA. Two

- Slow Stages in Refolding of Bovine Carbonic Anhydrase B are Due to Proline Isomerization. *Jurnal of Molecular Biology*. 1990;; p. 561-568.
39. Smith B, Schaffer T, Viani M, Thompson J, Frederick N, Kindt J, et al. Mechanistic Origin of the Toughness of Natural Adhesives, Fibres and Composites. *Nature*, 399. 1999;; p. 761-763.
40. Carrion-Vazquez M, Oberhauser AF, Fowler S, Marszalek PE, Broedel SE, Clarke J, et al. Mechanical and Chemical Unfolding of a Single Protein: A Comparison. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96. 1999;; p. 3694-3699.
41. Israelwiz B, Gao M, Schulten K. Steered Molecular Dynamics and Mechanical Function of Proteins. *Current Opinion in Structural Biology*, 11. 2001;; p. 224-230.
42. Moore K, Dalley AF. Anatomía con Orientación Clínica. In Moore K, Dalley AF..: Editorial Médica Panamericana; 2006.
43. Guyton A, Hall JE. Tratado de Fisiología Médica, duodécima edición. In Guyton A, Hall JE.. Barcelona: Elsevier España SL; 2011.
44. Wheeler C. Anatomía, Fisiología y Oclusión Dental, Octava edición. In Wheeler C, Ash P, Nelson J. Anatomía, Fisiología y Oclusión Dental. Barcelona: Elsevier; 2003.
45. Sitio web de Wikipedia. [Online].; 2012 [cited 2010 09 23. Available from: <http://es.wikipedia.org/wiki/Dentina>.
46. Low IM, Duraman N, Mahmood U. Mapping The Structure, Composition and Mechanical Properties of Human Teeth. *Materials Science and Engineering*, 28. 2008;; p. 243-247.
47. Brés EF, Waddington G, Voegel JC, Barry JC, Frank RM. Theoretical Detection of Dark

Contrast Line in Twinned Apatite Bicrystals and its Possible Correlation with the Chemical Properties of Human Dentin and Enamel Crystals. *Biophysical Journal*. 1986;: p. 1185-1193.

48. Xu HHK, Smith DT, Jahanmir S, Romberg E, Kelly JR, Thompson VP. Indentation Damage and Mechanical Properties of Human Enamel and Dentin. *Journal of Dental Restoration*, 77. 1998;: p. 472-480.
49. Braly A, Darnell LA, Mann AB, Teaford MF, Weihs TP. The Effect of Prism Orientation on the Indentation Testing of Human Molar Enamel. *Archives of Oral Biology*, 52. 2007;: p. 856-860.
50. Cuy JL, Mann AB, Livi KJ, Teaford MF, Weihs TP. Nanoindentation Mapping of the Mechanical Properties of Human Molar Tooth Enamel. *Archives of Oral Biology*, 47. 2002;: p. 281-289.
51. He LH, Swaine MV. Understanding the Mechanical Behavior of Human Enamel from its Structural and Compositional Characteristics. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2008;: p. 18-29.
52. Khera SC, Carpenter CW, Vetter JD, Staley RN. Anatomy of Cusps of Posterior Teeth and Their Fracture Potential. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 64. 1990;: p. 139-147.
53. Macho GA, Berner ME. Enamel Thickness and The Helicoidal Occlusal Plane. *American Journal of Physical Anthropology*, 94. 1994;: p. 327-337.
54. Schwartz GT. Taxonomic and Functional Aspects of the Patterning of Enamel Thickness Distribution in Extant Large-Bodied Hominoids. *American Journal of Physical Anthropology*, 111. 2000;: p. 221-244.

55. Wu DY, Meure S, Solomon D. Self-Healing Polimeric Materials: A Review of Recent Developments. *Progress in Polymer Science*, 33. 2008;; p. 479-522.
56. Barthelat F, Tang H, Zavattieri PT, Li CM, Espinoza HD. On the Mechanics of Mother of Pearl. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 55. 2007;; p. 306-337.
57. Rim JE, Zavattieri PD, Juster A, Espinoza HD. Dimensional Analysis and Parametric Studies for Designing Artificial Nacre. *Journal of the Mechanical Behavior of Biological Materials*. 2011;; p. 190-211.
58. Habelitz S, Marshall SJ, Marshal GW, Balooch M. Mechanical Properties of Human Dental Enamel on the Nanometer Scale. *Archives of Oral Biology*, 46. 2001;; p. 173-183.
59. Park S, Wang DH, Zhang D, Romberg E, Arola D. Mechanical Properties of Human Enamel as a Function of Age and Location in the Tooth. *Journal of Materials Science*, 19. 2008;; p. 2317-2324.
60. Balooch G, Marshall , W G, Marshall SJ, Warren OL, Asif SA, et al. Evaluation of a New Modulis Mapping Technique to Investigate Microstructural Features of Human Teeth. *Journal of Biomechanics*, 37. 2004;; p. 1223-1232.
61. Quinn GD, Bradt RC. On the Vickers Indentation Fracture Toughness Test. *Journal of American Ceramics Society*, 90. 2007;; p. 673-680.
62. Weber DF. Sheat Configurations oçin Human Cuspal Enamel. *Journal of Morphology*, 141. 1973;; p. 479-489.
63. Quinn JB, Quinn GD. Indentation Britlleness of Ceramics; a Fresh Approach. *Journal of Materials Science*, 32. 1997;; p. 4431-4436.

64. Ten Cate AR. Oral Histology: Development, Structure and Function. St Louis: Mosby, vol5. 1998;; p. 218-221.
65. Robinson C, Kirkham J, Shore R. Dental Enamel: Formation to Destruction. Boca Raton; CRC Press. 1995;; p. 151-152.
66. Boyde A. Handbook of Microscopic Anatomy, Springer Verlag, Berlin. 1989;; p. 309.
67. Ge J, Cui FZ, Wang XM, Feng HL. Property Variations on the Prism and the Organic Sheat Within Enamel by Nanoindentation. Biomaterials, 26. 2005;; p. 3333-3339.
68. Arola D, Bajaj D, Ivancik J, H M, Zhang D. Fatigue of Biomaterials: Hard Tissues. International Journal of Fatigue, 32. 2010;; p. 1400-1412.
69. Hassan R, Caputo AA, Bunshan RF. Fracture Toughness of Human Enamel. Journal of Dental Restoration, 60. 1981;; p. 820-827.
70. Padmanabhan SK, Balakrishnan A, Chu MC, Kim TN, Cho SJ. Micro-Indentation Fracture Behavior of Human Enamel. Dental Materials, 26. 2010;; p. 100-104.
71. Bajaj D, Arola D. Role of Prism Decussation of Fatigue Crack Growth and Fracture of Human Enamel. Acta Biomaterialia. 2009;; p. 3045-3056.
72. Bechtle S, Habelitz S, Klocke A, Fett T, Schneider GA. The Fracture Behavior of Dental Enamel. Biomaterials, 31. 2010;; p. 375-384.
73. Sognaes RF. The Organic Elements of Enamel II: The Organic Framework of the Internal Part of the Enamel, With Special Regard to the Organic Basis for the so-called Tufts and Screeger Bands. Journal of Dental Restoration, 28. 1949;; p. 549-557.
74. Osborn JW. The 3-Dimensional Morphology of the Tufts in Human Enamel. Acta

- Anatomica, 73. 1969;; p. 481-495.
75. Hayashi Y. High Resolution Electron Microscopy of a Small Crack at the Superficial Layer of Enamel. *Journal of Electronical Microscopy*, 43. 1994;; p. 398-401.
76. Myoung S, Lee J, Constantino P, Lucas P. Morphology and Fracture of Enamel. *Journal of Biomechanics*, 42. 2009;; p. 1947-1951.
77. Svensson RB, Hassenkham T, Hansen P, Magnusson SP. Viscoelastic Behavior of Discrete Human Collagen Fibrils. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2010;; p. 112-115.
78. Yang L, Van der Werf KO, Dijkstra PJ, Freijen J, Bennink ML. Micromechanical Analysis of Native and Cross-Linked Collagen Type I Fibrils Supports the Existence of Moco-fibrils. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2012;; p. 148-158.
79. Dugdale DS. Yielding of Steel Sheets Containing Slits. *Journal of the Mechanical and Physics of Solids*. 1960;; p. 100-104.
80. Ang SF, Schulz A, Pacher-Fernández R, Schneider GA. Sub 10 Micrometer Toughening and Crack Tip Toughness of Dental Enamel. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2011;; p. 423-432.
81. Mann AB, Dickinson ME. Nanomechanics, Chemistry and Structure at the Enamel Surface. *Monographs in Oral Science*, 19. 2006;; p. 105-131.
82. He LH, Fujisawa N, Swain MV. Elastic Modulus and Stress-Strain Response of Human Enamel by Nanoindentation. *Biomaterials*, 27. 2006;; p. 4388-4398.
83. Sakar-Deliormanli AGM. Microhardness and Fracture Toughness of Dental Materialsby

- Indentation Method. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 76;; p. 257-264.
84. Yettram A, Wright K, Pickard H. Finite Element Stress Analysis of the Crowns of Normal and Restored Teeth. *Journal of Dental Restoration*, 55. 1976;; p. 1004-1011.
85. Spears I, Van Noort R, Crompton R, Cardew G, Howard I. The Effects in the Enamel Anisotropy on the Distribution of Stress in a Tooth. *Journal of Dental Restoration*, 72. 1993;; p. 1526- 1531.
86. Lawn B. *Fracture of Brittle Solids*, 2nd Ed. Cambridge University Press. 1993;; p. 55.
87. Thompson JB, Kindt JH, Drake B, Hansma HG, Morse DE, Hansma PK. Bone Indentation Recovery Time Correlates with Bond Reforming Time. *Nature* 414. 2001;; p. 773-776.
88. Nakonechna O, Cselle T, Morstein M, Kasimi A. On the Behavior of Indentation Fracture in TiAlSiN Hard Thin Films. *Thin Solid Films*, 147. 2004;; p. 406-412.
89. Lin CM, Chang CM, Chen JH, Wu W. Hardness, Toughness and Cracking Systems of Primary (Cr, Fe)<sub>23</sub>C<sub>6</sub> and (Cr, Fe)<sub>7</sub> C<sub>3</sub> Carbides in High-Carbon Cr-Based Alloys by Indentation. *Materials, Science and Engineering*, 527. 2010;; p. 5038-5043.
90. Gautieri A, Vesentini S, Radaelli A, Buehler M. Viscoelastic Properties of Model Segments of Collagen Molecules. *Matrix Biology*, 31. 2012;; p. 141-149.
91. Hayashi-Sakai S, Sakai J, Sakamoto M, Endo H. Determination of Fracture Toughness of Human Permanent and Primary Enamel Using an Indentation Microfracture Method. *Journal of Materials Science and Materials of Medicine*. 2012;; p. PMID:22639149.
92. Meredith N, Sherriff F, Setchell DJ, Swanson SAV. Measurement of the Microhardness and Young's Modulus of Human Enamel and Dentine Using Indentation Technique.

Archives of Oral Biology, 41. 1996;; p. 539-545.

93. Wang JL, Parnianpour M, Shirazi-Adl A, Engin A. Failure Criterion of Collagen Fiber: Viscoelastic Behavior Simulated by Using Load Control Data. Theoretical and Fracture Mechanics, 27. 1997;; p. 1-12.

94. Willems JP, Celis P, Lambrechts M, Braem M, Vanherle G. Hardness and Young's Modulus Determined by Nanoindentation Technique of Filler Particles of Dental Restorative Materials Compared With Human Enamel. Journal of Biomedical Materials Research. 1993;; p. 747-755.