



FACULTAT
**DE CIÈNCIES
I TECNOLOGIA**

UVIC | UVIC·UCC



Grup de Recerca TR2Lab
Reparació i Regeneració Tissular
UVIC·UCC

Treball Fi de Grau

ESTUDI DE LA LÍNIA NEONATAL EN TALLS HISTOLÒGICS DE DENTS HUMANES

ARIADNA SOLÉ MARTÍNEZ

Grau en Biotecnologia

Tutors: Xavier Jordana Comín i Judit Molera Marimon

Vic, juny de 2021

Agraïments

En primer lloc, m'agradaria començant agraint principalment a en Xavier Jordana Comín, pel seu vot de confiança i tot el suport rebut durant tot el desenvolupament del TFG, i per compartir amb mi tots els seus coneixements sobre l'àmbit i també, per la seva constant dedicació i perseverança en el seguiment i desenvolupament del meu treball. M'agradaria agrair també a la Judit Molera Marimon, per acceptar-me en el seu laboratori per a la realització del TFG i per la seva constant amabilitat i disponibilitat que ha tingut sempre per resoldre i ajudar-me en qualsevol dubte o problema que pogués sorgir. A tots dos, moltes gràcies per la confiança dipositada en mi i per tots els consells oferts al llarg del treball.

Tanmateix, aprofito per donar les gràcies a la Núria Domenech Moreno, estudiant del Màster Interuniversitari en Antropologia Biològica a la Universitat Autònoma de Barcelona-Universitat de Barcelona, per la predisposició que ha tingut sempre per ajudar-me, per compartir informació rellevant amb mi i sobretot, per ajudar-me en tota la part metodològica del procés creant un bon ambient de treball.

Resum / Abstract

Títol: Estudi de la línia neonatal en talls histològics de dents humanes.

Autora: Ariadna Solé Martínez

Tutors: Xavier Jordana Comín (UVic-UCC) i Judit Molera Marimon (UVic-UCC)

Data: Juny de 2020

Paraules clau: *làmines primes, dents decidues, esmalt, línies de creixement periòdiques, línies de creixement no periòdiques, estries transversals, línia neonatal (NNL), període de supervivència, taxa de secreció diària (DSR).*

Arribar a distingir entre un naixement viu i un naixement mort en restes humanes esqueletitzades és un dels reptes que hi ha avui dia en les ciències forenses, per la manca d'estudis especialitzats en restes fetals i infantils. L'objectiu d'aquest estudi, es centra en l'optimització de la tècnica de preparació de làmines primes en dents decidues humanes provinents de jaciments arqueològics i de donacions d'infants actuals, amb la finalitat d'analitzar la microestructura de l'esmalt, per identificar tant línies de creixement periòdiques com no periòdiques. Els resultats obtinguts, han validat l'eficàcia de l'optimització de la tècnica, identificant així la presència de la línia neonatal (neonatal line; NNL) en 3 individus diferents, demostrant un naixement viu, i s'ha calculat el període de supervivència a partir de les línies de creixement diàries. A més, gràcies a les línies de creixement periòdiques (estries transversals) que s'han vist en 11 individus diferents, s'ha calculat la taxa de secreció d'esmalt diària mitjana (daily secretion rate; DSR) per cada individu. Els resultats de les comparacions realitzades entre la DSR dels diferents individus i els diferents tipus de dent, han mostrat diferències significatives, presentat les dents amb majors dimensions, com les incisives centrals superiors i les canines, una DSR més elevada. A més, en els individus provinents d'infants actuals, s'ha vist que la DSR és superior, demostrant un creixement més ràpid en comparació amb les dents dels jaciments arqueològics. Per acabar, l'anàlisi de micro-difracció de raig X realitzat amb font de llum sincrotró per determinar diferències en quant a la composició físico-química de l'esmalt, ha demostrat que la presència de la NNL no afecta a la cristal·linitat dels cristalls d'hidroxiapatita que la componen.

Title: Study of the neonatal line in histological sections of human deciduous teeth.

Author: Ariadna Solé Martínez

Supervisor: Xavier Jordana Comín (UVic-UCC), Judit Molera Marimon (UVic-UCC)

Date: Juny 2020

Keywords: *deciduous teeth, enamel, periodic growth lines, non-periodic growth lines, cross-striations, neonatal line (NNL), survival period, daily enamel secretion rates (DSR).*

Distinguish between a living birth and a stillbirth in skeletal human remains are one of the challenges in forensic science, as there are few studies specializing in fetal and infant remains. The aim of this study is to optimize the preparation of thin sections in human deciduous teeth from archaeological sites and donations of current children, to analyse the microstructure of enamel, for identify periodic and non-periodic growth lines. The results demonstrated the effectiveness of the technique that has been optimized and is used to identify the neonatal line (NNL) in 3 different individuals demonstrating a live birth. Also, it has been calculate survival period from the daily growth lines. On the other hand, periodic growth lines corresponding to the cross-striations were visualized in 11 individuals, and the average daily enamel secretion rate (DSR) was determined for each individual. The results of the comparisons made between the DSR of individuals and their different type of tooth shown significant differences. Teeth with larger dimensions, such as the upper central incisors and canines, have higher DSR. Furthermore, in individuals from current infants, DSR it was higher, demonstrating faster growth compared to the teeth from archaeological sites. Finally, X-ray micro-diffraction analysis performed with a synchrotron light source in order to determine physic-chemical differences in the enamel, shown that the presence of NNL does not affect the crystallinity of the hydroxyapatite crystals.

Continguts

Agraïments

Resum / Abstract

1. Introducció	9
1.1. La dent.....	10
1.1.1 Estructura morfològica de les dents.....	11
1.1.2 Teixits dentals.....	12
1.1.2.1 Esmalt dental	12
1.1.2.2 Dentina dental.....	16
1.1.2.3 Ciment dental.....	18
1.1.2.4 Polpa dentària	18
1.1.3 Teixits peridentals.....	18
1.1.4 Cronologia de la dentició.....	19
1.1.4.1 Dentició temporal	19
1.1.4.2 Dentició permanent o definitiva	20
1.1.5 Classificació.....	20
1.1.6 Nomenclatura dentària.....	21
1.1.6.1 Codi Universal	21
1.1.6.2 Sistema Palmer	21
1.1.6.3 Codi Internacional de la FDI	21
1.2. La línia neonatal (NNL)	22
1.3. Justificació del tema	24
2. Objectius.....	25
2.1. Objectiu general.....	25
2.2. Objectius específics.....	25
3. Metodologia.....	26
3.1. Àrea i població d'estudi	26
3.2. Entorn.....	26
3.3. Obtenció de làmines primes de dents humanes	27
3.4. Anàlisi d'imatge	27
3.5. Anàlisi estadístic	28
3.6. Anàlisi de difracció de raig X	28
4. Resultats	29
4.1. Optimització de la tècnica de preparació de làmines primes	29
4.1.1 Identificació i classificació	29
4.1.2 Inclusió	30

4.1.3	Primer tall per obtenir la secció longitudinal de les dents	32
4.1.4	Enganxar la mostra amb el portaobjectes	33
4.1.5	Talls histològics	34
4.1.6	Desbastat de les mostres i polit.....	34
4.1.7	Muntatge amb DPX.....	35
4.1.8	Visualització amb el microscopi òptic.....	36
4.2.	Determinació de la presència de la NNL	37
4.3.	Creixements diaris i període de supervivència	40
4.3.1	Comparació del DSR entre individus	42
4.3.2	Comparació del DSR segons el tipus de dent.....	43
4.3.3	Comparació del DSR entre una peça dental moderna i una antiga	43
4.4.	SR-μXRD d'una dent moderna i una dent arqueològica.....	44
5.	Discussió	47
5.1.	Limitacions i millores a realitzar en projectes futurs	48
6.	Conclusions.....	49
7.	Referències bibliogràfiques.....	50
ANNEX.....	i
Annex A.	Atles del desenvolupament dentari i erupció.	i
Annex B.	Cronologia de la dentició temporal i permanent.	iii
Annex C.	Classificació i identificació de dents temporals i permanents.	v
Annex D.	Anàlisi d'imatge i anàlisi estadístic	ix
Annex E.	Metodologia	xiii
Annex F.	Identificació i classificació de les dents modernes i arqueològiques....	xv
1.	Dents modernes provinents d'infants actuals.	xv
2.	Castell de Besora.....	xvi
3.	Camp de les Lloses.....	xvii
4.	Ullastret	xxi

Llista de figures

Figura 1. Maxil·lar superior (esquerra) i mandíbula (dreta) vist des del lateral. A l'esquerra hi ha representades les dents superiors i a la dreta les dents inferiors d'un ésser humà. <i>Font: "Cara Latral Externa del Maxilar Superior e Inferior Dental Art, Portrait Drwaing, Head Anatomy" n.d.</i>	10
Figura 2. Esquema de l'estructura de les dents. S'indiquen les 3 parts, corona, coll i arrel, els teixits dentals com l'esmalt, la dentina, el cement dentari, la polpa i altres teixits peridentals. <i>Font: "Dent / Enciclopèdia.Cat" n.d.</i>	11
Figura 3. Esquema dels teixits dentals. S'indiquen els 4 teixits principals que componen una dent, l'esmalt, la dentina, el ciment dental i la polpa dentària d'una dent molar inferior. <i>Font: Pròpia.</i>	12
Figura 4. Diagrama d'un cristall d'hidroxiapatita. Presenta una morfologia hexagonal en un tall perpendicular a l'eix longitudinal del esmalt i una morfologia rectangular si és fa un secció en paral·lel al seu eix longitudinal. <i>Font: "Histología y Embriología Bucodental de Gómez de Ferraris, María Elsa, Campos Muñoz." - 2002.</i>	13
Figura 5. Tall histològic d'un primordi dentari. A: òrgan del esmalt, B: papil·la dentària, C: fol·licle dentari. <i>Font: "File:Toothbud11-19-05labeled.Jpg – Wikimedia Commons" – 2005.</i>	13
Figura 6. Disposició dels prismes en respecte a la superfície de la dentina. S'indiquen els 4 teixits principals que componen una dent: l'esmalt, la dentina, el ciment dental i la polpa dentària d'una dent molar, i s'observa la distribució dels prismes hexagonals. <i>Font: "Histología y Embriología Bucodental de Gómez de Ferraris, María Elsa, Campos Muñoz." - 2002.</i>	14
Figura 7. Tall longitudinal d'un prisma observats amb el MER, 800x. S'observen els prismes disposats paral·lelament entre ells. <i>Font: "Histología y Embriología Bucodental de Gómez de Ferraris, María Elsa, Campos Muñoz." - 2002.</i>	14
Figura 8. Prisma disposats longitudinalment en un tall transversal amb el MER, 300x. S'observa una morfologia hexagonal, ovoide i irregular. <i>Font: "Histología y Embriología Bucodental de Gómez de Ferraris, María Elsa, Campos Muñoz." - 2002.</i>	14
Figura 9. Tall longitudinal d'una dent. S'observen les estructures de creixement. E = esmalt i D = dentina. Les línies negres són les estries o línies de Retzius que van des de la dentina fins a la superfície externa de l'esmalt. Les línies blaves representen els prismes de l'esmalt i per últim, les línies vermelles són les estries o línies transversals diàries que representen el creixement diari de l'esmalt. <i>Font: "Histología y Embriología Bucodental de Gómez de Ferraris, María Elsa, Campos Muñoz." - 2002.</i>	15
Figura 10. Tall transversal d'un túbul dental. S'observa la dentina tubular o peritubular amb tres zones diferenciades (d'exterior cap a l'interior: la zona hipomineralitzada externa, la zona mitjana hipermineralitzada i la zona hipomineralitzada interna), l'espai periprocesal i el procés odontoblàstic a la part interna del túbul. <i>Font: "Histología y Embriología Bucodental de Gómez de Ferraris, María Elsa, Campos Muñoz." - 2002.</i>	16
Figura 11. Composició de la dentina. S'observen els odontoblasts a la part més interna i els túbuls dentals amb el fluid. <i>Font: "Reacción Celular En La Protección Pulpar - YouTube" n.d.</i>	17
Figura 12. Tall longitudinal d'una peça dental. S'indica l'esmalt, la dentina i el ciment dental. A la zona de la dentina, hi ha representades les línies de Owen i les línies de von Ebner. <i>Font: "Histología y Embriología Bucodental de Gómez de Ferraris, María Elsa, Campos Muñoz." - 2002.</i>	17
Figura 13. Teixits peridentals de la dent. S'indica la geniva, l'os alveolar i el lligament peridontal d'una peça dental. <i>Font: pròpia.</i>	18
Figura 14. Taula de la dentició temporal. S'indiquen els 3 grups de dents (incisives, canines i molars) amb el període aproximat d'erupció i el període aproximat de caiguda de cada tipus de dent. <i>Font: "Tablas de Erupción – American Dental Association" n.d.</i>	19
Figura 15. Taula de la dentició definitiva o permanent. S'indiquen els 4 grups de dents (incisives centrals i laterals, canines, premolars i molars) del maxil·lar superior i inferior amb el període d'erupció aproximat per cada peça. <i>Font: "Tablas de Erupción – American Dental Association" n.d.</i>	20
Figura 16. Esquema dels diversos sistemes de nomenclatura dentària utilitzats, el Sistema Palmer, el sistema FDI i per últim, el Codi Internacional. Al representar la classificació dibuixada, apareix de forma invertida, és a dir, la nostra part dreta la veiem a la part esquerra del dibuix i es va seguint tot el recorregut en el sentit de les agulles del rellotge. <i>Font: "Juvenile Osteology: A Laboratory and Field Manual – Louise Scheuer, Sue Black, Maureen C. Schaefer – Google Libros" n.d.</i>	22
Figura 17. Visualització microscòpica d'una dent incisiva central inferior, vist des del microscopi òptic a 40x. S'observa la línia neonatal (NNL) en la zona de l'esmalt (E) i també hi ha representada part de la dentina (D). <i>Font: Janardhanan et al. 2011.</i>	23
Figura 18. Dent arqueològica inclosa amb la resina en volum, observat amb el microscopi de llum polaritzat a 5x. <i>Font: pròpia.</i>	31

Figura 19. Dent arqueològica inclosa amb la resina en pes, observat amb el microscopi de llum polaritzada a 5x.	Font: pròpia.	31
Figura 20. Muntatge del sistema al buit (esquerra) i resultat final després de fer la inclusió de la mostra amb el buit (dreta). La resina ha quedat amb moltes bombolles i a més a més, ha quedat molt inflada.	Font: pròpia.	31
Figura 21. Tall realitzat sobre el pla labiolingual de la dent. S'observa el tipus de tall que s'ha de realitzar, paral·lel al seu eix longitudinal.	Font: "Tema Iii 2013 2.-" n.d.	32
Figura 22. Primer tall longitudinal de la peça dental. S'ha retallat l'excés de resina dels voltants de la mostra per facilitar el següent pas de protocol.	Font: pròpia.	32
Figura 23. Comparació utilitzant els 2 tipus de cola sobre la mateixa dent amb diferent gruix, vist amb el microscopi de llum polaritzada a 5x. A l'esquerra s'indiquen les bombolles que apareixen quan s'utilitza la cola Araldite Cristal mentre que, a la dreta, hi ha la fotocomposició de la dent enganxada amb la cola de polibutí metacrilat (EUKITT®) on la quantitat de bombolles disminueix notablement.	Font: pròpia.	33
Figura 24. Resultat del desbastat, observat a 5x amb el microscopi de llum polaritzada, utilitzant els 3 papers de mides diferents. S'observen moltes ratlles.	Font: pròpia.	35
Figura 25. Resultat del desbast amb el paper de 2000 µm, observat a 5x amb el microscopi de llum polaritzada. El nombre de ratlles disminueix.	Font: pròpia.	35
Figura 26. Muntatge amb DPX vist amb el microscopi de llum polaritzada a 5x. S'observa al fons alguna bombolla provocada pel DPX i alguns fongs provocats per l'estat de conservació de la dent.	Font: pròpia.	36
Figura 27. Muntatge sense el DPX vist amb el microscopi de llum polaritzada a 5x. S'observa la dent amb molts fongs que impedeixen veure bé la microestructura de la dent.	Font: pròpia.	36
Figura 28. Incisiva lateral superior (AS3.Moderna_62) vist amb el microscopi de llum polaritzada a 5x (imatge superior) i 20x (imatge inferior). Presència de la NNL que separa l'esmalt pre-natal amb l'esmalt post-natal i ampliació de la imatge a 20x on s'indica el final de la NNL.	Font: pròpia.	37
Figura 29: Canina superior (AS7.CB_63) vist amb el microscopi de llum polaritzada a 10x. Presència de la NNL donant la volta a la dent.	Font: pròpia.	38
Figura 30: Incisiva central inferior (AS23.CLNT04_81) vist amb el microscopi de llum polaritzada a 5x (fotocomposició) i a 10x (NNL). Observació de la línia neonatal (NNL).	Font: pròpia.	39
Figura 31. Creixements diaris de l'individu provinent d'un infant actual, AS3.Moderna_62 vist amb el microscopi de llum polaritzada a 20x. S'indiquen les línies transversals dels prismes corresponents als creixements diaris i també, s'indica la NNL i el seu final en l'esmalt que separa l'esmalt pre-natal del post-natal.	Font: pròpia.	40
Figura 32. Creixements diaris de l'individu AS10.CB_51 corresponent al jaciment arqueològic del Castell de Besora, vist amb el microscopi de llum polaritzada a 20x. A la dreta hi ha la imatge de la regió ampliada, amb les estries transversals marcades al llarg dels diferents prismes.	Font: pròpia.	40
Figura 33. Boxplot entre el DSR dels diferents individus. A l'eix de les Y hi ha representada la taxa de secreció diària (DSR) mentre que, a l'eix de les X hi tenim els diferents individus. Com es pot observar, sembla que hi ha diferències entre els individus.	Font: pròpia.	42
Figura 34. Boxplot entre el DSR de cada tipus de dent. A l'eix de les Y hi ha la taxa de secreció diària (DSR) i a l'eix de les X, tenim els diferents tipus de dent que s'han estudiat.	Font: pròpia.	43
Figura 35. Boxplot entre el DSR entre la mostra d'un infant actual (AS3.Moderna) i les 2 mostres provinents de jaciments arqueològics (AS24.CLNT05 i AS30.PDSA12).	Font: pròpia.	44
Figura 36. Imatge al microscopi de la dent moderna on s'han analitzat 37 punts al llarg de la línia groga, des de l'esquerra (aire) fins a la dreta (dentina).	44
Figura 37. Difractogrames integrats de la dent moderna, AS3.Moderna. No s'aprecien diferències en la zona de l'esmalt que indiquin diferències en la NNL. També s'indiquen les regions de la dentina on sí que hi ha diferències en quant a la intensitat dels pics, en comparació amb les regions de l'esmalt.	45
Figura 38. Imatges 2D de difracció de raig x. A l'esquerra tenim la imatge obtinguda d'una zona de l'esmalt mentre que a la dreta, hi ha la zona de la dentina.	45
Figura 39. Micro-difracció de raig X en diferents regions de l'esmalt i la dentina.	46
Figura 40. Difractograma integrat de les diferents regions corresponent a la dent antiga.	46
Figura 41. Imatges 2D de la micro-difracció de raig x. En l'esmalt els cristalls estan orientats mentre que, en la dentina, els cristalls no estan orientats.	46

Lista de taules

Taula 1. Resum de les 28 peces dentals utilitzades en l'estudi. *Font: pròpia* **27**

Taula 2. Resultats obtinguts de cada tipus de dent de cada individu amb la mitjana del DSR obtinguda, que correspon al ritme del creixement diari, la desviació estàndard, i el número de mesures total que s'ha realitzat per cada individu. *Font: pròpia.* **41**

Taula 3. Període de supervivència del individu AS7.CB_63 corresponent al jaciment arqueològic del Castell de Besora i del individu AS23.CLNT04_81 del Camp de les Lloses. *Font: pròpia.*..... **42**

1. Introducció

La neonaticida, és a dir, l'homicidi del nounat durant les primeres 24 hores de vida, és una pràctica habitual en diverses nacions com la Xina, l'Índia i el Pakistan, especialment contra les nenes nounades a causa del baix estatus social en què la dona es veu en les societats patriarcals [1]. Malauradament, la majoria dels casos no s'arriben mai a difondre's al món exterior i els que es presenten davant la llei continuen sense demostrar-se a causa de la manca de proves sòlides. Es per això que, arribar a distingir entre un naixement viu o un naixement mort, seria una prova vàlida per demostrar un cas d'infanticidi.

En la pràctica forense, si les restes de teixits tous estan intactes poden proporcionar informació sobre l'existència independent del nen. El problema sorgeix quan el cos es recupera, ja que les restes de teixits tous (tendons, lligaments, pell, múscul, nervis, vasos sanguinis, etc.) estan pràcticament descomposts i el cos sovint es troba en estat de putrefacció i esqueletitzat. Els principals mètodes per avaluar l'edat de les persones es centren amb l'estudi del creixement esquelètic. No obstant això, a través de diversos estudis, s'ha vist que els mètodes utilitzats mitjançant els paràmetres esquelètics no són suficientment precisos i tenen una taxa d'error elevada [2]. Així doncs, no ajuda a distingir entre un naixement viu d'un naixement mort. En aquests casos, l'examen de les dents decidues o de la dentadura temporal, que és el primer conjunt de dents que apareixen durant l'ontogènesi dels humans, proporciona una resposta més fiable sobre l'edat fetal, la possibilitat d'una existència independent i fins i tot, es pot arribar a calcular el període de supervivència que ha tingut l'individu després del naixement [1], [3]. Tanmateix, a diferència dels mètodes basats amb el desenvolupament esquelètic, s'ha vist que els estudis basats amb el desenvolupament de les dents són més adequats per avaluar l'edat perquè ofereixen certs avantatges que s'han de considerar. D'una banda, són els únics mètodes que es poden aplicar des de l'edat prenatal fins a l'adolescència. D'altra banda, molts estudis han demostrat que la maduració òssia està influenciada per factors externs com ara factors ambientals, nutricionals i hormonals. És per això que en molts casos, s'ha trobat una divergència entre l'edat òssia i l'edat cronològica. A més, gràcies a diversos estudis, s'ha demostrat que els mètodes basats amb el desenvolupament dental són un indicador molt útil, ja que estan menys influenciats pels factors externs a diferència de l'edat òssia, mostrant així menys variabilitat, fet que fa que augmenti la precisió analítica

[4], [5], [6]. Finalment, les dents són un dels teixits més resistents del cos humà, inclús s'ha demostrat que és superior al teixit ossi, de manera que resisteixen molt bé les alteracions post mortem i sovint, són l'única evidència física disponible per estudiar aquells individus cremats o que han estat en un entorn arqueològic o fins i tot, en males condicions funeràries gràcies a la seva resistència en la que poden romandre ben conservats [7]. Per tot això, la investigació forense s'ha centrat en buscar i investigar noves estratègies i mètodes odontològics per proporcionar proves contra l'afirmació d'un naixement d'un nen mort i determinar l'edat a través de la dentició temporal.

Antigament, les tècniques principals per realitzar l'estimació dels individus consistien en observacions del grau de maduració i erupció de les dents utilitzant com a referència atles i/o sistemes de puntuació (veure [Annex A](#)). Tot i això, s'ha vist que és una tècnica amb criteris subjectius, ja que segons qui realitza l'observació els resultats poden divergir i a més a més, no sempre resulta fàcil discriminar entre les diferents etapes de la odontologia i el grau de desenvolupament i mineralització, fent que això també comporti tenir uns coneixements i una experiència mínima. En conseqüència, en els darrers anys s'han anat desenvolupant noves tècniques alternatives més fiables i precises basades amb l'anàlisi mètric de la dentadura temporal perquè s'ha vist que poden ajudar a distingir entre etapes del desenvolupament millorant així la sensibilitat i precisió [7]. Gràcies això, els odontòlegs forenses, a través de la mida i l'estructura dels teixits de les dents humanes en desenvolupament, són capaços de proporcionar proves d'identificació fiables en relació a l'edat de l'individu fins la maduresa.

1.1. La dent

Les dents són una de les parts més importants de la cavitat bucal. Es localitzen a les cavitats alveolars de la boca que es troben situades a les vores lliures dels dos maxil·lars, superior i inferior (Figura 1) i la funció més important és la trituració dels aliments i la participació en el moviment i l'articulació necessaris per la comunicació oral [8], [9].

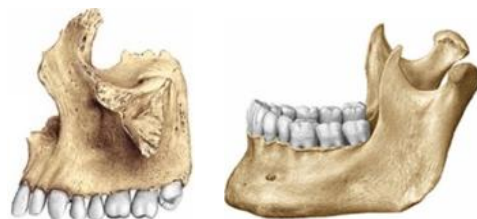


Figura 1. Maxil·lar superior (esquerra) i mandíbula (dreta) vist des del lateral. A l'esquerra hi ha representades les dents superiors i a la dreta les dents inferiors d'un ésser humà. Font: "Cara Latral Externa del Maxilar Superior e Inferior | Dental Art, Portrait Drwaing, Head Anatomy" n.d.

1.1.1 Estructura morfològica de les dents

Les característiques externes de les dents són el color, el volum i la forma que varia en funció de l'individu i per tant, està influenciat per factors genètics, tot i que també pot estar influenciat per factors ambientals. Segons el tipus de dent, la forma també pot canviar conforme la seva funció específica. Generalment presenten una coloració blanquinosa o blanc groguenc i tenen una especial duresa que les fa ser molt resistents. Això fa que és conservin molt bé durant els anys i siguin fonts d'informació molt importants en diversos estudis arqueològics i forenses [8], [9].

Pel que fa a la descripció morfològica, s'hi distingeixen tres parts importants: la **corona** que és la part visible de la dent, l'**arrel** que és la part no visible i el **coll** que es troba entre l'arrel i la corona (Figura 2).

- **La corona:** part superior visible de la dent formada per l'esmalt dental, la dentina i la polpa. Presenta morfologies diferents i irregularitats que varia segons la funció de la peça dental [8].
- **L'arrel:** part no visible que es troba a l'interior de l'os de la mandíbula formada majoritàriament per dentina i recoberta per el ciment dental. Les dents poden tenir entre una i fins a tres arrels en funció del tipus de dent. Les incisives i les canines tenen una arrel, les premolars en poden tenir una o dos mentre que, les molars, en tenen dos en el cas que siguin molars inferiors i tres si és troben a la part superior [8].
- **Coll:** unió entre la corona i l'arrel i es troba situada a la geniva [8].

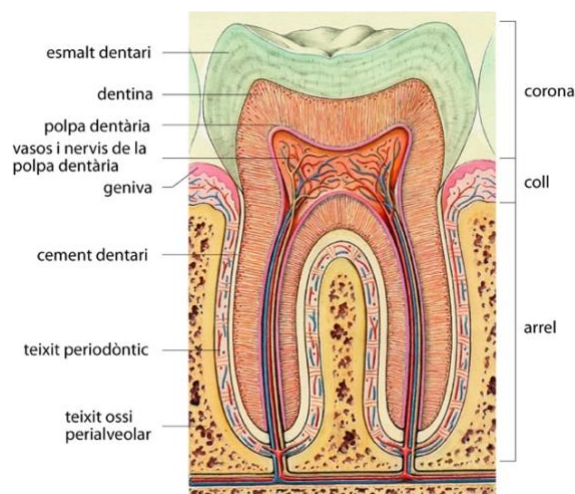


Figura 2. Esquema de l'estructura de les dents. S'indiquen les 3 parts, corona, coll i arrel, els teixits dentals com l'esmalt, la dentina, el ciment dentari, la polpa i altres teixits peridentals. Font: "Dent / Enciclopèdia.Cat" n.d.

1.1.2 Teixits dentals

Les dents estan composades per quatre teixits dentals: l'**esmalt**, la **dentina**, el **ciment dental** i la **polpa dentària** (Figura 3). Tots ells presenten funcions i característiques pròpies. L'esmalt, la dentina i el ciment dental són substàncies amb una certa duresa a causa d'un procés de mineralització mentre que, la polpa dentària és una substància més tova, ja que no ha estat mineralitzada [9].

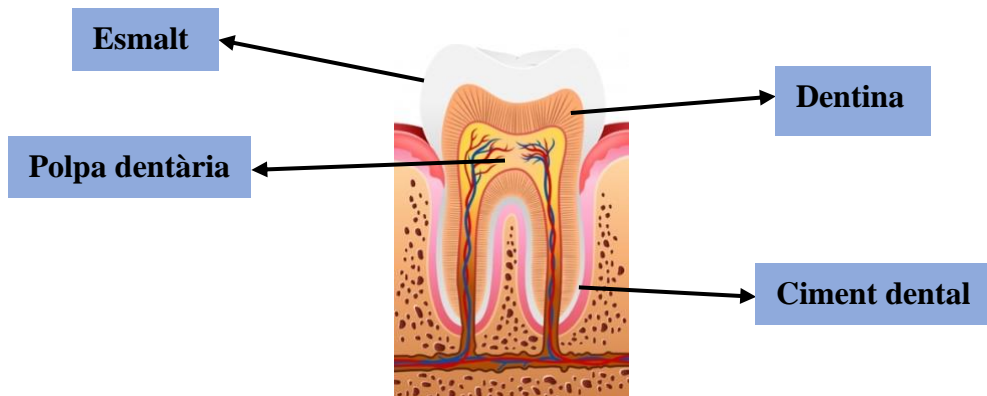


Figura 3. Esquema dels teixits dentals. S'indiquen els 4 teixits principals que componen una dent, l'esmalt, la dentina, el ciment dental i la polpa dentària d'una dent molar inferior. *Font: Pròpia.*

1.1.2.1 Esmalt dental

És la capa més externa de la dent situada a la corona i per tant, està en contacte directe amb el medi bucal i en la seva superfície interna s'ajunta amb la dentina. Té com a funció principal la protecció i la participació en la masticació dels aliments i sol tenir més gruix a la cúspide i menys gruix a la vora de la dent. És un teixit translúcid, això significa que el color de les dents ve donat per la dentina perquè és el teixit dental que trobem a la superfície interna de manera que, es reflecteix a través de l'esmalt. La coloració varia del groc pàl·lid al blanc grisós en funció dels factors genètics de cada individu [8], [10].

Una de les propietats físiques més importants de l'esmalt és que és el teixit dental visible més dur i més resistent del cos humà. Això s'explica perquè està mineralitzat per hidroxilapatita o també conegut com hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), el mineral més dur que tenim en l'organisme format per apatita, calci i fòsfor i que també trobem present en els ossos però en menys quantitat. Principalment, el 95% del esmalt està format per material inorgànic, és a dir, sals de calci i fòsfor que formen els cristalls hexagonals d'hidroxiapatita (Figura 4) mentre que, aproximadament, el 3% està format d'aigua i només un 2% per matèria orgànica que inclou principalment proteïnes i polisacàrids [9].

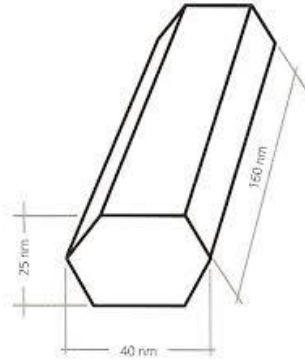


Figura 4. Diagrama d'un cristall d'hidroxiapatita. Presenta una morfologia hexagonal en un tall perpendicular a l'eix longitudinal del esmalt i una morfologia rectangular si és fa un secció en paral·lel al seu eix longitudinal. Font: "Histología y Embriología Bucodental de Gómez de Ferraris, María Elsa, Campos Muñoz." - 2002.

El primordi o germen dentari (Figura 5), és una agregació de cèl·lules que es diferenciaren per formar les dents. Aquestes cèl·lules deriven de la capa germinal, un conjunt de cèl·lules que es formen durant el desenvolupament embrionari i que posteriorment, es diferencien per originar els teixits i òrgans [11], [12] i [13].

El primordi dentari s'organitza en 3 zones diferents:

- **Òrgan de l'esmalt:** té un origen ectodèrmic i conté cèl·lules que es diferenciaren en ameloblasts i s'encarregaran de la formació i organització de l'esmalt [11].
- **Papil·la dentària:** té un origen del ectomesènquima i conté cèl·lules que es diferenciaren en odontoblasts i són les que formaran la dentina. Les cèl·lules mesenquimàtiques de la papil·la dental són les que s'encarregaran de formar la polpa [11].
- **Fol·licle dentari:** d'origen ectomesènquima. Conté els cementoblasts que produeixen el ciment dental, els osteoblasts que formen l'os alveolar i els fibroblasts que formaran el lligament peridontal [11].

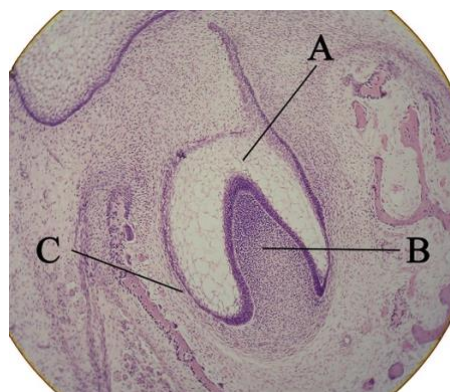


Figura 5. Tall histològic d'un primordi dentari. A: òrgan del esmalt, B: papil·la dentària, C: fol·licle dentari. Font: "File:Toothbud11-19-05labeled.Jpg - Wikimedia Commons" - 2005.

Els cristalls d'hidroxiapatita, que són el principal component de l'esmalt, s'agrupen ordenadament entre ells formant unes estructures allargades que són els prismes (Figura 6). Aquests prismes hexagonals estan secretats pels ameloblasts durant la fase de l'amelogenèsi (període de formació de l'esmalt), i van creixent des de l'interior cap a l'exterior de l'esmalt [10].

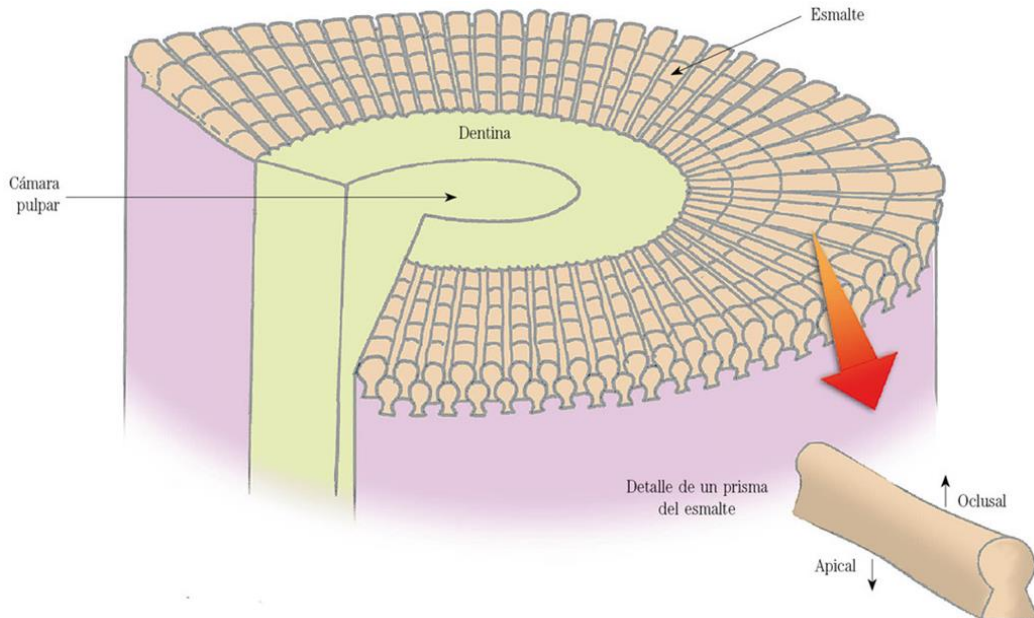


Figura 6. Disposició dels prismes en respecte a la superfície de la dentina. S'indiquen els 4 teixits principals que componen una dent: l'esmalt, la dentina, el ciment dental i la polpa dentària d'una dent molar, i s'observa la distribució dels prismes hexagonals. Font: "Histología y Embriología Bucodental de Gómez de Ferraris, María Elsa, Campos Muñoz." - 2002.

La morfologia dels prismes varia en funció del tall presentant una morfologia com bastons paral·lels i irregulars en un tall paral·lel al seu eix longitudinal de l'esmalt (Figura 7) o com formes hexagonals, ovoïdes i irregulars en un tall perpendicular al seu eix longitudinal (Figura 8) [14].

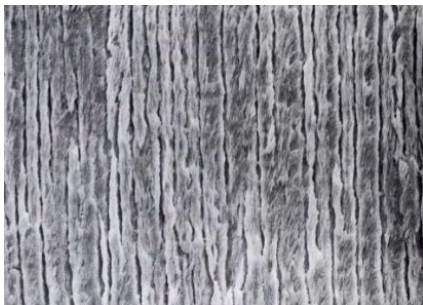


Figura 7. Tall longitudinal d'un prisma observats amb el MER, 800x. S'observen els prismes disposats paral·lelament entre ells. Font: "Histología y Embriología Bucodental de Gómez de Ferraris, María Elsa, Campos Muñoz." - 2002.



Figura 8. Prisma disposats longitudinalment en un tall transversal amb el MER, 300x. S'observa una morfologia hexagonal, ovoïde i irregular. Font: "Histología y Embriología Bucodental de Gómez de Ferraris, María Elsa, Campos Muñoz." - 2002.

Els ameloblasts, les cèl·lules que s'encarreguen de la secreció dels prismes i per tant, de la formació de l'esmalt, segueixen un ritme de creixement circadiari (al voltant de 24 hores). Aquest fet, produeix unes estries transversals diàries que són el producte del creixement diari dels prismes de l'esmalt i per tant, es formen cada 24 hores i estan disposades perpendicularment al eix del prisma (Figura 9). Cada 7 dies aproximadament, hi ha pauses on hi ha menor producció de l'esmalt i gràcies a aquests períodes de menys mineralització, es produeixen unes línies fosques incrementals en l'esmalt que reben el nom d'estries o línies de Retzius (Figura 9) [15] i [16]. Així doncs, en l'esmalt es poden observar dos tipus de línies de creixement periòdiques, d'una banda, les línies transversals que són circadiàries i d'altra banda, les estries de Retzius que tenen una periodicitat al voltant dels 7 dies en el cas dels humans.

D'altra banda, a part de les línies de creixement periòdiques, l'esmalt també pot registrar línies de creixement no periòdiques produïdes per factors estressants que afecten el creixement de l'esmalt. La primera línia d'estrès que es registra en els humans és la del naixement i s'anomena línia neonatal que més endavant s'explicarà en detall [15].

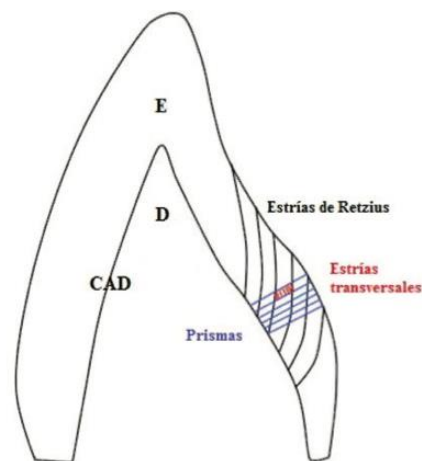


Figura 9. Tall longitudinal d'una dent. S'observen les estructures de creixement. E = esmalt i D = dentina. Les línies negres són les estries o línies de Retzius que van des de la dentina fins a la superfície externa de l'esmalt. Les línies blaves representen els prismes de l'esmalt i per últim, les línies vermelles són les estries o línies transversals diàries que representen el creixement diari de l'esmalt. *Font: "Histología y Embriología Bucodental de Gómez de Ferraris, María Elsa, Campos Muñoz." - 2002.*

Finalment, un cop s'ha format completament l'esmalt, els ameloblasts entren en apoptosi de manera que, no hi ha creixement ni remodelació del teixit de l'esmalt després de l'erupció dentària. Això fa que també presenti dificultats per reparar-se i defensar-se d'agents externs. Tanmateix, amb el pas del temps, l'esmalt dental pateix un procés de desmineralització com a conseqüència del desgast fisiològic causat en gran mesura per la masticació dels aliments. Un cop s'ha perdut l'esmalt, és perd per sempre i no se recupera això fa que acabi perdent en gran part la seva capacitat de protecció de les dents [9].

1.1.2.2 Dentina dental

La dentina és el següent teixit que hi ha sota de l'esmalt i és troba vinculada a la part interna amb la polpa dentària. Presenta una coloració blanca groguenca tot i que, varia en funció de l'individu a causa de diversos factors com el grau de mineralització i/o l'edat de l'individu [17]. Proporciona color a la dent donat que la capa externa, l'esmalt, és translúcid i és menys dur que l'esmalt a causa de la seva composició química. Un 70% de la dentina està composta per substàncies inorgàniques, un 18% per substàncies orgàniques (col·làgen I, proteoglicans i glicoproteïnes) i només un 12% d'aigua [9] i [18].

Pel que fa a la constitució de la dentina, hi ha milers de conductes petits coneguts com a túbuls dentals que són unes estructures cilíndriques que travessen la dentina des de la seva unió amb l'esmalt fins al seu límit amb la polpa dentària, i tenen com a funció principal el transport de fluids. La paret d'aquests túbuls dentals està formada per la dentina peritubular o també anomenada dentina tubular. La seva formació es produeix de forma gradual quan finalitza la mineralització de la dentina intertubular que és la part de la dentina localitzada entre els túbuls dentals formada principalment per col·lagen i per cristalls d'hydroxiapatita (Figura 10) [19], [20] i [21]. A l'interior dels túbuls dentals trobem el procés odontoblàstic, també conegut com fibra de Tomes, que són prolongacions citoplasmàtiques que deixen les cèl·lules dels odontoblasts a mesura que van formant la dentina (Figura 10) [22].

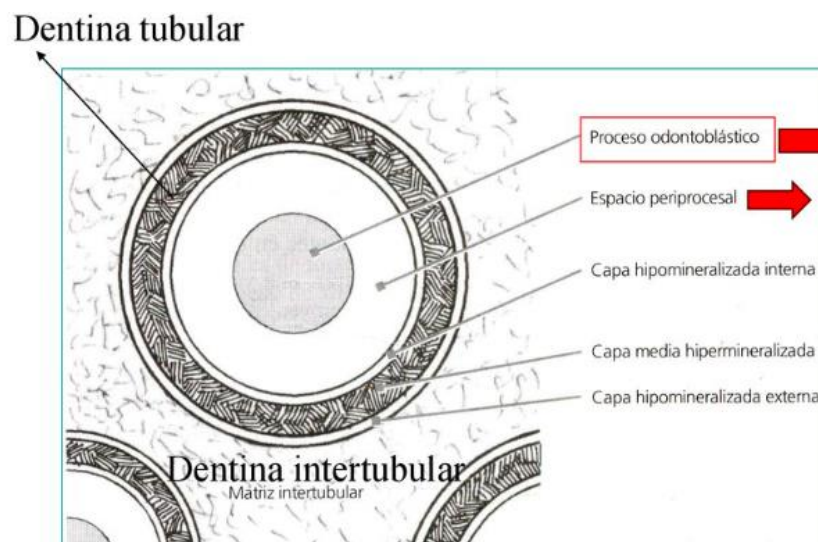


Figura 10. Tall transversal d'un túbul dental. S'observa la dentina tubular o peritubular amb tres zones diferenciades (d'exterior cap a l'interior: la zona hipomineralitzada externa, la zona mitjana hipermineralitzada i la zona hipomineralitzada interna), l'espai periprocesal i el procés odontoblàstic a la part interna del túbul. *Font: "Histología y Embriología Bucodental de Gómez de Ferraris, María Elsa, Campos Muñoz." - 2002.*

Les cèl·lules que s'encarreguen de formar la dentina són els odontoblasts i es localitzen entre la dentina i la polpa dentària. A diferència dels ameloblasts, aquests es conserven en la dentina durant tota la vida de la dent de manera que, la dentina presenta capacitats d'autoreparació [22].

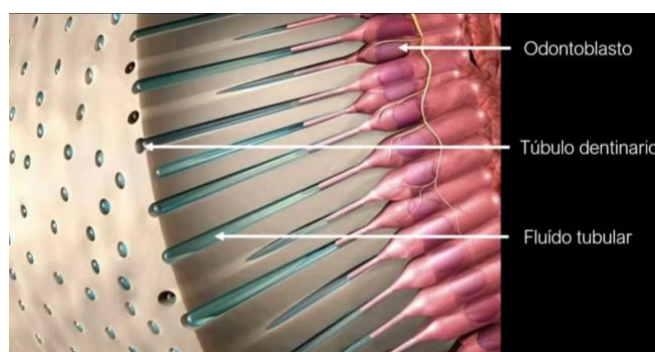


Figura 11. Composició de la dentina. S'observen els odontoblasts a la part més interna i els túbuls dentals amb el fluid. Font: "Reacción Celular En La Protección Pulpar - YouTube" n.d.

La dentina, al igual que l'esmalte, presenta un ritme de creixement discontinu. Això fa que apareguin també unes línies incrementals en la dentina: les línies de Von Ebner i les línies de Owen (Figura 12). Les línies de Von Ebner, anàlogues a les estries transversals de l'esmalte, apareixen cada 5 dies aproximadament a un ritme de $4 \mu\text{m}/\text{dia}$ i en resposta a períodes de baixa activitat secretora dels odontoblasts. D'altra banda, les línies de Owen, són producte d'alteracions en el procés de calcificació i per tant, es consideren homòlogues a les línies de Retzius de l'esmalte. A més a més, són línies d'hipomineralització més amples que les de Von Ebner [23].

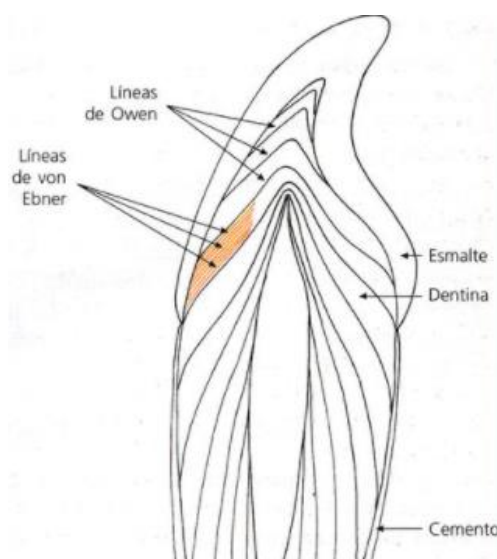


Figura 12. Tall longitudinal d'una peça dental. S'indica l'esmalte, la dentina i el ciment dental. A la zona de la dentina, hi ha representades les línies de Owen i les línies de von Ebner. Font: "Histología y Embriología Bucodental de Gómez de Ferraris, María Elsa, Campos Muñoz." - 2002.

1.1.2.3 Ciment dental

Recobreix la dentina a la zona de l'arrel i té una duresa inferior a l'esmalt i a la dentina. Un 65% de la seva composició química està formada per substàncies inorgàniques, un 23% de matèria orgànica i un 12% d'aigua. Té com a funció proporcionar subjecció a la dent per unir-se íntimament amb la cavitat alveolar [8] i [9]. Els cementoblasts són les cèl·lules que s'encarreguen de la producció del ciment (cementogènesis) i es troben a la superfície dels lligaments peridontals i s'encarreguen de la producció del ciment [24].

1.1.2.4 Polpa dentària

És el teixit més tou format per teixit connectiu, localitzat al interior de la peça dental i rodejat per la dentina. És un teixit molt ric en cèl·lules i algunes d'aquestes s'acaben diferenciant en odontoblasts que són els que s'encarregaran de formar la dentina. També hi ha fibres de col·lagen, teixit connectiu, vasos sanguinis que condueixen la sang per la dent i nervis que donen la sensibilitat. De les funcions més importants, s'hi destaca la formació i la reparació de la dentina, la innervació de les dents i la nutrició vascular per proporcionar els nutrients necessaris a la dent [8] i [9].

1.1.3 **Teixits peridontals**

Teixits que envolten la dent i proporcionen protecció i subjecció a la dent. N'hi ha 3 tipus:

- **Os alveolar:** regió de l'os maxil·lar que recobreix les arrel de les dents i s'encarrega de proporcionar suport [9].
- **Lligament peridontal:** uneix l'os alveolar amb la dent. Està format per vasos sanguinis, nervis i teixit connectiu amb fibres. Presenta diverses funcions com ara la de receptor sensorial [9].
- **Geniva:** teixit tou de coloració rosada que envolta el coll de la dent i cobreix l'os alveolar [9].

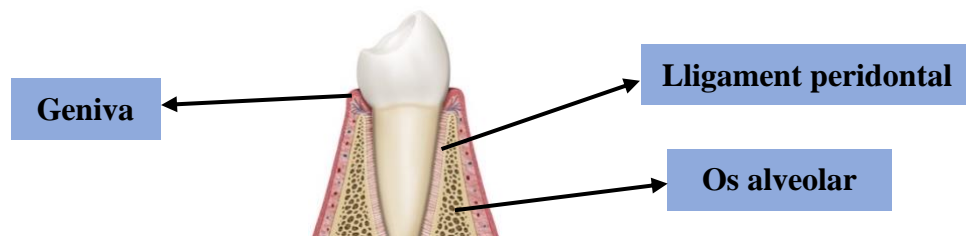


Figura 13. Teixits peridontals de la dent. S'indica la geniva, l'os alveolar i el lligament peridontal d'una peça dental. *Font: pròpia.*

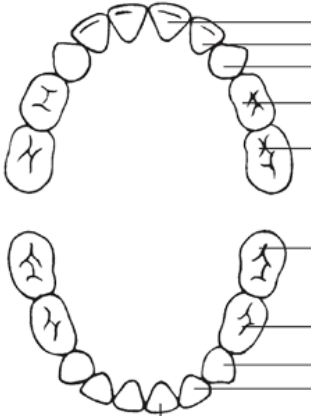
1.1.4 Cronologia de la dentició

L'odontogènesi fa referència a tot el conjunt de processos embrionaris ordenats i seqüencials que permeten l'erupció de les dents. Els humans presentem dos tipus de dentició, la dentició temporal i la dentició definitiva [13]. Això és degut perquè durant el període de naixement la cavitat bucal no és el suficientment gran com per a què hi puguin cabre les dents definitives perquè encara està en procés de formació [25].

1.1.4.1 Dentició temporal

També anomenada com dents decidues, caduques o dents de llet, inclou les peces dentals que comencen a formar-se a l'úter de la mare, aproximadament entre la setmana 13 i setmana 17, amb la mineralització de les dents incisives [26]. Es desenvolupen dins els ossos maxil·lars i la majoria fan l'erupció a la boca del nadó al cap de 6 mesos esglaonadament. Al cap de 3 anys aproximadament, hauran sortit totes les dents i a partir dels 6 anys, es començarà a reemplaçar per la dentició definitiva [9] (veure Annex B).

Les dents temporals sumen un total de 20 dents, 10 es troben al maxil·lar superior i 10 al maxil·lar inferior, i s'hi distingeixen tres grups dentals principals: **incisives**, **canines** i **molar**. Tant en la zona superior com en la zona inferior hi ha 2 incisives centrals, 2 incisives laterals, 2 canines i 4 molars (2 molars a la part esquerra i 2 molars a la part dreta) (Figura 14) [25].



Dientes Superiores	Erupción	Se Caen
Incisivo central	8-12 meses	6-7 años
Incisivo lateral	9-13 meses	7-8 años
Canino (colmillo)	16-22 meses	10-12 años
Primer molar	13-19 meses	9-11 años
Segundo molar	25-33 meses	10-12 años

Dientes Inferiores	Erupción	Se Caen
Segundo molar	23-31 meses	10-12 años
Primer molar	14-18 meses	9-11 años
Canino (colmillo)	17-23 meses	9-12 años
Incisivo lateral	10-16 meses	7-8 años
Incisivo central	6-10 meses	6-7 años

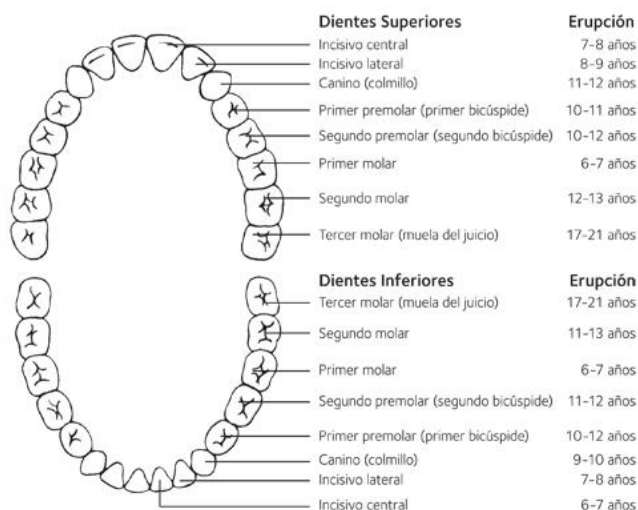
Figura 14. Taula de la dentició temporal. S'indiquen els 3 grups de dents (incisives, canines i molars) amb el període aproximat d'erupció i el període aproximat de caiguda de cada tipus de dent. Font: "Tablas de Erupción – American Dental Association" n.d.

Dintre de les funcions d'aquestes dents decidues s'inclou: la masticació dels aliments, guardar l'espai necessari per deixar lloc a les dents permanents i fer de guia per a l'erupció, l'estimulació per al creixement i desenvolupament dels maxil·lars i la mandíbula i per últim, també té funció fonètica per poder comunicar-se oralment [27].

1.1.4.2 Dentició permanent o definitiva

La dentició permanent o definitiva correspon al segon conjunt de dents. A partir dels 6 anys van reemplaçant-se progressivament per la dentició temporal i arriba al seu final a principi de l'edat adulta, entre els 18 i 25 anys aproximadament (veure [Annex B](#)) [25]. S'hi diferencien 3 períodes d'evolució provocats per l'erupció i reabsorció progressiva de les dues denticions. El període primari corresponent a la dentició temporal i va dels 6 mesos fins als 6 anys. El període mixt que va des dels 6 anys fins als 12 anys i hi ha dents que corresponen a la dentició temporal i dents que formen part de la dentició definitiva. I per últim, el període definitiu on només hi ha dents permanents i va des dels 12 anys fins als 21 anys aproximadament.

En una persona adulta hi ha 32 peces dentàries (16 al maxil·lar superior i 16 al inferior), incloent també la possible aparició dels terces molars coneguts popularment com queixals del seny. A diferència de la dentició temporal, en la dentició permanent s'hi diferencien 4 grups dentals principals: **incisives**, **canines**, **premolars** i **molars**. La distribució és la mateixa tant en la zona superior com en la zona inferior de manera que hi ha 4 incisives centrals, 4 incisives laterals, 4 canines, 8 premolars (4 premolars a la part esquerra i 4 premolars a la part dreta) i 12 molars (Figura 15) [9].



Dientes Superiores		Erupción
Incisivo central		7-8 años
Incisivo lateral		8-9 años
Canino (colmillo)		11-12 años
Primer premolar (primer bicúspide)		10-11 años
Segundo premolar (segundo bicúspide)		10-12 años
Primer molar		6-7 años
Segundo molar		12-13 años
Tercer molar (muela del juicio)		17-21 años
Dientes Inferiores		Erupción
Tercer molar (muela del juicio)		17-21 años
Segundo molar		11-13 años
Primer molar		6-7 años
Segundo premolar (segundo bicúspide)		11-12 años
Primer premolar (primer bicúspide)		10-12 años
Canino (colmillo)		9-10 años
Incisivo lateral		7-8 años
Incisivo central		6-7 años

Figura 15. Taula de la dentició definitiva o permanent. S'indiquen els 4 grups de dents (incisives centrals i laterals, canines, premolars i molars) del maxil·lar superior i inferior amb el període d'erupció aproximats per cada peça. Font: "Tablas de Erupción – American Dental Association" n.d.

1.1.5 **Classificació**

Les dents presenten diferències pel que fa a la seva morfologia externa en funció del lloc que ocupen en les cavitats alveolars. Aquest factor també influeix amb la seva funció que desenvolupa (veure [Annex C](#)). En la dentició humana, la classificació és realitzada en 4 grups dentals; incisives, canines, premolars i molars [9].

1.1.6 Nomenclatura dentària

Per simplificar-ho i fer-ho més fàcil, les peces dentals s'identifiquen a través d'una numeració concreta, evitant així confusions a l'hora de fer referència a una dent en concret. Existeixen diferents sistemes de nomenclatura com són el Codi Universal, el Codi Internacional o el Sistema Palmer [\[28\]](#).

1.1.6.1 Codi Universal

Mètode més antic i actualment, s'està intentant canviar per la nomenclatura FDI. La dentició permanent, es conta amb números de dreta a esquerra començant primer per la part superior i després la part inferior seguint les agulles del rellotge. Pel que fa a la dentició temporal, s'utilitzen lletres en comptes de números [\[28\]](#). La part superior va des de la A fins la J mentre que, la part inferior, des de la K fins la T (Figura 16).

1.1.6.2 Sistema Palmer

Poc utilitzat. Les dents es codifiquen a través de 2 caràcters igual que en la nomenclatura FDI. En les dents temporal, el primer caràcter correspon a una lletra començant per la e i anant de dreta a esquerra. El segon caràcter és un símbol que determina la posició del quadrant d'on es troba la dent. En les dents permanents és el mateix, però canviant la lletra per un número començant pel número 8 [\[29\]](#). (Figura 16).

1.1.6.3 Codi Internacional de la FDI

Codi més utilitzat i més habitual desenvolupat per la Federació Dental Internacional (FDI). És divideixen les dos mandíbules (superior i inferior) en 4 quadrants. En la dentició permanent, el primer quadrant (1) correspon a la part superior dreta de la boca, el segon quadrant (2) a la part superior esquerra, el tercer quadrant (3) a la part inferior esquerra i el quart quadrant (4) a la part inferior dreta. El segon dígit correspon a la posició de la dent en el quadrant, començant des del centre cap enrere [\[28\]](#). La dentició temporal, segueix el mateix sistema però els quadrants s'enumeren començant pel número 5 fins al número 8 (Figura 16).

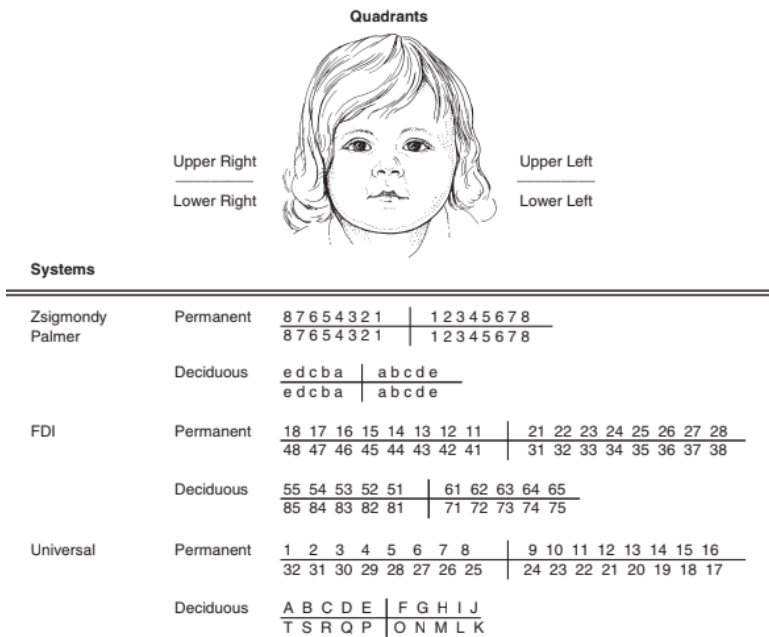


Figura 16. Esquema dels diversos sistemes de nomenclatura dentària utilitzats, el Sistema Palmer, el sistema FDI i per últim, el Codi Internacional. Al representar la classificació dibuixada, apareix de forma invertida, és a dir, la nostra part dreta la veiem a la part esquerra del dibuix i es va seguint tot el recorregut en el sentit de les agulles del rellotge. *Font: “Juvenile Osteology: A Laboratory and Field Manual – Louise Scheuer, Sue Black, Maureen C. Schaefer – Google Libros” n.d.*

1.2. La línia neonatal (NNL)

La microestructura dels teixits de les peces dentals, principalment de l'esmalt i la dentina, registra línies de creixement periòdiques i no periòdiques. D'una banda, les periòdiques és produeixen en conseqüència a l'activitat secretora de les cèl·lules formadores de l'esmalt (ameloblasts) i dentina (odontoblasts) a un ritme biològic circadiari, al voltant de 24 hores. D'altra banda, les línies de creixement no periòdiques és produeixen a causa de períodes estressants i per tant, representen moments de creixement reduït [30]. Tant les periòdiques com les no periòdiques, es poden utilitzar per calibrar el temps cronològic de formació de les dents de manera que, poden proporcionar informació important sobre els ritmes de creixement. La línia neonatal (NNL) és la primera línia d'estrès que apareix durant el naixement per tant, és una línia no periòdica. Es forma a causa d'una alteració en la dimensió i direcció del grau de mineralització dels prismes de l'esmalt, causat per un estrès biològic produït per canvis en la nutrició i l'entorn del recent nascut en el procés del part, és a dir, quan passa de la vida intrauterina a la vida extrauterina [26]. Per tant, la NNL és una línia incremental que s'observa en l'esmalt i representa el primer esmalt format després del naixement de manera que, forma una clara limitació entre l'extensió de la formació de l'esmalt prenatal i l'esmalt postnatal [1]. És per això que, la seva

presència en una dent temporal d'un individu, demostra un naixement viu . Com que les dents temporals, incisives, canines i molars i el primer molar permanent comencen la seva calcificació a l'úter de la mare i la mineralització continua temps després del naixement, aquestes dents són les presenten una NNL. En les incisives, la línia es continua i recta (Figura 17) mentre que, en les canines i molars, dents que estan menys mineralitzades, la línia es diferent i sembla que estigui formant ondes. Aproximadament, en el 90% de totes les dents temporals es pot observar una línia distintiva que correspon al moment del naixement [1].

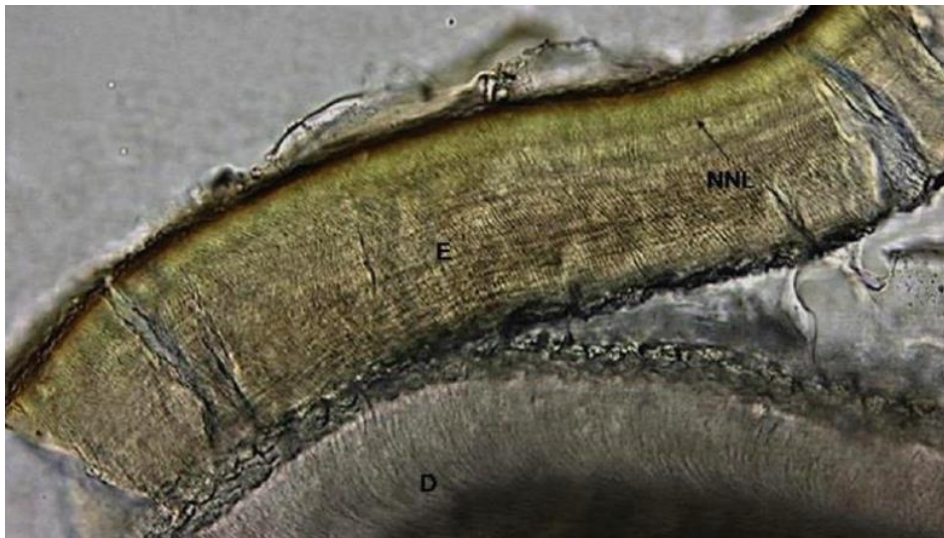


Figura 17. Visualització microscòpica d'una dent incisiva central inferior, vist des del microscopi òptic a 40x. S'observa la línia neonatal (NNL) en la zona de l'esmalt (E) i també hi ha representada part de la dentina (D). Font: Janardhanan et al. 2011.

Hi ha estudis que han trobat que hi ha diferències significatives entre els gruixos de la NNL on sembla que en els casos del naixement normal, aquesta línia és significativament més gruixuda en comparació amb els casos on el naixement s'ha produït per cesària [26]. Per tant, s'ha vist que l'amplada de la NNL es correlaciona amb l'estrès i el trauma al qual va estar exposat el nen durant el part, ja que en aquells casos en què els nadons havien patit llargs parts, la NNL era més gruixuda en comparació amb aquells nadons que havien experimentat un part més curts i/o per cesària, presentant una NNL més prima [26]. Altres estudis també han confirmat que l'amplada de la NNL és inferior tant en els naixements finals (41 setmanes o més) com en els nascut durant el termini, en comparació amb aquells nadons prematurs (abans del començament de la setmana 37) [31]. Altres observacions realitzades utilitzant talls histològics de peces dentals d'individus en creixement de la dentició temporal, han demostrat que amb la presència de la NNL es pot arribar a calcular de manera precisa i exacta el període exacte de supervivència del nadó

en dies, mesurant la quantitat formada de teixit d'esmalt postnatal [1]. Així doncs, la NNL té una gran importància, sobretot en exàmens forenses, ja que és capaç d'establir el període de temps de supervivència d'un nadó i es podria arribar a utilitzar com a prova sòlida per demostrar un cas d'infanticidi. Tot i això, presenta una limitació i és que la majoria dels infanticidis és produeixen immediatament després del naixement i per avaluar la supervivència postnatal dels lactats, és necessita com a mínim que hi hagi un parell de dies de supervivència abans de que és pugui arribar a detectar la NLL [3]. No obstant això, es podria plantejar com a possible hipòtesi si els canvis en la mida del cristall podrien ajudar a determinar casos d'infanticidi en què la mort s'ha produït durant les 24h de vida i per tant, encara no hi ha presència de la NLL, a través de l'anàlisi de difracció de raig x del Sincrotró d'una peça dental.

1.3. Justificació del tema

Avui dia, la gran majoria de les investigacions i mètodes d'identificació forense, s'han dirigit a joves i adults més grans i per tant, encara hi ha pocs estudis especialitzats en restes fetals i infantils [3], [7]. És per això que s'ha realitzat aquest estudi de posar en marxa la tècnica de preparació de làmines primes en dents humanes decidues, ja que pot tenir una gran importància i utilitat quan només es disposen de restes esquelètiques provinent de restes arqueològiques i/o restes forenses. En el món forense per exemple, ens pot servir de prova per demostrar un cas d'infanticidi d'una mort natural. Així doncs, es pretén que aquest estudi contribueixi en futures investigacions forenses.

2. Objectius

2.1. Objectiu general

- ◆ Identificar línies de creixement en l'esmalt dental, tant periòdiques (estries transversals o creixements circadiaris) com no periòdiques (línia neonatal; NNL), en talls histològics de dents decidues humanes modernes i arqueològiques.

2.2. Objectius específics

- ◆ Optimitzar la tècnica de preparació de làmines primes de dents humanes amb l'objectiu de visualitzar les línies de creixement en l'esmalt.
- ◆ Identificar la línia neonatal (NNL) (línia de creixement no periòdica) en diferents dents decidues humanes i analitzar la seva variabilitat microscòpica i estructural.
- ◆ Estimar el temps de supervivència en les dents humanes provinents de jaciments arqueològics a partir de la línia neonatal (NNL) i la taxa de secreció diària de l'esmalt (DSR).
- ◆ Analitzar la taxa de secreció diària de l'esmalt (DSR) en els diferents tipus de dents decidues humanes.
- ◆ Determinar diferències a nivell estructural dels cristalls d'hidroxiapatita (HA) al llarg de la dent.

3. Metodologia

3.1. Àrea i població d'estudi

Per realitzar l'estudi, s'ha treballat amb mostres de peces dentals d'individus provinents de diferents jaciments arqueològics de l'àrea de Catalunya, sent els més importants el Castell de Besora del terme municipal Santa Maria de Besora (Osona), del segle XII al XIX, el Camp de les Lloses del municipi de Tona (Osona) i el jaciment d'Ullastret del municipi d'Ullastret (Baix Empordà) dels segles III-a.C. Tanmateix, també s'ha treballat amb dents provinents de donacions per realitzar les proves pilot inicials de la tècnica de preparació de les làmines, abans de posar-la en marxa amb els jaciments més importants, per així corregir i modificar errors previs en la tècnica.

En total, s'ha treballat amb un total de 28 peces dentals. 10 corresponents a peces dentals actuals i per tant, són mostres amb un bon estat de conservació i 18 peces dentals corresponents als diferents jaciments arqueològics: 6 del Castell de Besora (CB), 9 del Camp de les Lloses (CL) i 3 d'Ullastret (Taula 1). Aquestes dents, han estat prèviament seleccionades de manera que, s'han escollit aquelles peces dentals amb la corona en creixement en el moment del naixement, ja que són amb les que és possible observar la línia neonatal (NNL).

De les 9 dents provinents del Camp de les Lloses, també s'han fet repeticions de les mostres dels individus AS17.CLNT10, AS18.CLNT02, AS20.CLNT08 i AS21.CLNT09.

3.2. Entorn

Tant la posada en marxa de la tècnica de preparació de làmines histològiques de les peces dentals dels diferents individus, com la part d'anàlisi posterior, s'ha dut a terme en el laboratori de materials de la Universitat de Vic – Universitat Central de Catalunya (UVic-UCC) i en col·laboració amb la Unitat d'Antropologia Biològica de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), on s'ha realitzat el muntatge final de les làmines histològiques i també, s'ha dut a terme el registre fotogràfic per fer la identificació de les peces dentals provinents dels jaciments arqueològics.

Taula 1. Resum de les 28 peces dentals utilitzades en l'estudi. Font: pròpia

<u>NUMERACIÓ</u>	<u>TIPUS DENT</u>	<u>FDI</u>	<u>PROCEDÈNCIA</u>	<u>NUMERACIÓ</u>	<u>TIPUS DENT</u>	<u>FDI</u>	<u>PROCEDÈNCIA</u>
AS1.Moderna	Incisiva lateral	52	Infant actual	AS15.Moderna	Segon molar	75	Infant actual
AS2.Moderna	Incisiva inferior	71	Infant actual	AS16.Moderna	Segon molar	55	Infant actual
AS3.Moderna	Incisiva lateral	62	Infant actual	AS17.CLNT10*	Incisiva lateral	52	CL
AS4.Moderna	Incisiva inferior	81	Infant actual	AS18.CLNT02*	Incisiva central	71	CL
AS5.Moderna	Canina superior	63	Infant actual	AS19.CLNT07	Incisiva inferior	81	CL
AS6.Moderna	Canina superior	53	Infant actual	AS20.CLNT08*	Incisiva lateral	52	CL
AS7. CB	Canina superior	63	CB	AS21.CLNT09*	Incisiva central	71	CL
AS8.CB	Canina inferior	83	CB	AS22.CLNT11	Primer molar	54	CL
AS9.CB	Canina superior	53	CB	AS23.CLNT04	Incisiva central	81	CL
AS10. CB	Incisiva central	51	CB	AS24.CLNT05	Incisiva lateral	62	CL
AS11.CB	Incisiva lateral	62	CB	AS29.CLNT12	Incisiva central	61	CL
AS12.CB	Primer molar	73	CB	AS30.PDSA12	Incisiva lateral	62	Ullastret
AS13.Moderna	Primer molar	54	Infant actual	AS31.ILU71	Incisiva lateral	52	Ullastret
AS14.Moderna	Segon molar	85	Infant actual	AS32.PDSA13	Incisiva central	51	Ullastret

3.3. Obtenció de làmines primes de dents humanes

S'entén per làmina prima a la preparació realitzada en el laboratori d'una mostra de roca, mineral, ceràmica, sòl, teixits durs com són els ossos i fins i tot, de metalls, per tal d'obtenir seccions histològiques que posteriorment, seran visualitzats sota un microscopi de llum polaritzada o bé, sota microscopi electrònic o petrogràfic per fer l'estudi corresponent. Aquest procés d'obtenció de làmines primes consisteix en fer un tall fi de la mostra amb una serra de diamant per obtenir les seccions histològiques i a continuació, muntar-les sobre un portaobjectes per posteriorment, fer un allisat progressivament per tal de desbastar la mostra utilitzant un abrasiu, fins tenir un gruix que pot anar entre els 200 µm fins als 30 µm, depenent el tipus de mostra que es vulgui analitzar.

3.4. Anàlisi d'imatge

Per la fotocomposició de les imatges s'ha utilitzant el programari obert AutoStich (accessible a: <http://matthewalunbrown.com/autostitch/autostitch.html>) (veure Annex D punt 1). Per realitzar les mesures de la taxa de secreció diària de l'esmalt i la longitud total del prisma de la peça dental, s'ha utilitzat el programari obert ImageJ (accessible a: <https://imagej.nih.gov/ij/download.html>) (veure Annex D punt 2).

3.5. Anàlisi estadístic

Les dades obtingudes s'han descarregat amb format .csv i s'han calculat els estadístics descriptius (mitjana i desviació estàndard) de cadascuna de les mesures de les línies de creixement i la mitjana total per trobar el període de supervivència utilitzant l'Excel. Posteriorment, per realitzar l'anàlisi estadístic s'ha utilitzant la versió demo del programari Jamovi (accessible a: <https://cloud.jamovi.org/1d375dab-dc9f-4511-9569-bbb47bac4bc8/>) (veure [Annex D](#) punt 3).

3.6. Anàlisi de difracció de raig X

La micro-difracció de raig X de radiació sincrotró (SR-uXRD) per tal d'analitzar d'una banda, diferències a nivell estructural en quant als dels cristalls d'hidroxiapatita (HA) al llarg d'una dent moderna i d'altra banda, identificar si l'estat de conservació i els agents externs com són els fongs, afecten a la cristal·linitat de la HA en les dents antigues, s'ha dut a terme a la línia de feix de Ciència de Materials i Difracció de Pols (MSDP-BLO4) del Sincrotró ALBA. Les zones d'interès de les seccions primes polides s'han mesurat en geometria de transmissió, amb un feix focalitzat de $15 \times 15 \mu\text{m}^2$ (amplada completa a la meitat màxima). L'energia utilitzada ha estat de 29,2 keV ($\lambda = 0.4246 \text{ \AA}$) i s'han registrat patrons de difracció amb un detector CCD Rayonix SX165 (àrea activa de 165 mm de diàmetre, mida de fotograma 2048 x 2048 píxels, mida de píxel de 79 μm , rang dinàmic de 16 bits). El calibratge de la mostra per a la distància del detector i el centre de feix, la integració radial, les parcel·les azimuthals i el processament de les imatges 2D-XRD s'han realitzat amb el programari D2Dplot. S'han utilitzat dades d'hexaborur de lantà (NIST 660b) per calibrar i determinar la funció instrumental per a l'anàlisi de microestructures, que s'ha dut a terme mitjançant l'aproximació d'harmònics esfèrics implementada a FullProf. Per la mostra de dent actual es va adquirir patrons 2D-DRX en una línia que anava des de la zona exterior fins a la dentina travessant l'esmalt i la NNL. Per la mostra arqueològica, es van prendre patrons a diferents zones de la dent per comprovar si els fongs i l'alteració de la dent afectava a la cristal·lització de la dent.

4. Resultats

Per assolir l'objectiu inicial de desenvolupar el protocol de preparació de làmines primes, en primer lloc, s'han dut a terme diverses proves pilot utilitzant diferents tècniques i mètodes amb la finalitat d'arribar a trobar el millor mètode de preparació. Aquest primer estudi per determinar i aconseguir el protocol amb el qual s'obtinguessin els millors resultats per realitzar el posterior anàlisi i discussió, s'ha realitzat en les dents més modernes, provinents d'infants actuals (dents decidues caigudes). Gràcies això, s'ha obtingut el protocol definitiu de preparació de làmines i és el que s'ha posat en pràctica per realitzar l'estudi i anàlisi posterior de tota la resta de peces dentals dels diferents jaciments.

4.1. Optimització de la tècnica de preparació de làmines primes

Els passos que inclouen el protocol de preparació de làmines primes en dents humanes és divideixen en: identificació i classificació, inclusió de cada una de les dents en resina, preparació del primer tall per obtenir la secció longitudinal de les dents, enganxar les mostres en el portaobjectes, realització de talls histològics, polit de la mostra per aconseguir el gruix desitjat i muntatge final amb DPX per revelar millor la microestructura de la dent i visualització i anàlisi amb el microscopi de llum polaritzada.

4.1.1 Identificació i classificació

Inicialment, per poder començar amb la tècnica de preparació de les làmines, s'ha dut a terme un primer anàlisi a nivell macroscòpic amb l'objectiu d'identificar i classificar cada peça dental de la qual s'ha volgut realitzar el corresponent estudi. Com que les peces dentals dels individus que s'estan analitzant provenen d'individus lactants i fetals, és a dir, nadons i per tant, estan en procés de creixement, s'ha utilitzat la lupa binocular Kyowa amb els oculars SWF10X/23mm (veure [Annex E](#)) per tal d'ampliar el camp de visualització i així poder veure la morfologia més completa (nombre de cúspides, forma plana, punxant, mida, etc.). S'ha procedit a fotografiar cada peça dental per tenir el registre fotogràfic de cada dent i alhora, aquest arxiu podrà servir d'utilitat en un futur per classificar i identificar altres dents provinents d'altres individus i poder fer comparacions entre les diferents peces dentals.

Un cop identificada la peça dental que es vol estudiar, s'ha classificat amb la numeració corresponent d'acord amb el codi de la FDI (veure [Annex C](#)). Aquesta numeració ha servit per identificar quin tipus de dent s'està analitzant: incisiva, canina o molar, superior o inferior.

Del total de les 28 dents (10 provinents d'infants actuals i 18 provinents de diferents jaciments arqueològics) que s'han emprat tant per posar en marxa la tècnica de preparació de làmines primes com per fer l'anàlisi de l'estudi posterior per calcular el creixement diari i el temps de supervivència de l'individu, s'han seleccionat i per tant, identificat i classificat, les que trobem a [l'Annex F](#).

4.1.2 Inclusió

Finalitzada la classificació i la identificació de la peça dental, s'ha procedit amb la inclusió en resina de les mostres, per així poder realitzar el posterior tall histològic amb la serra. Aquesta part del procés és molt important, ja que en funció de com s'hagi preparat la resina, afectarà a la qualitat dels resultats finals. La resina utilitzada en aquest cas per fer la inclusió ha estat una resina acrílica d'ús universal. Concretament s'ha utilitzat el ClaroCit Kit, que és tracta d'un kit de preparació que conté 800 g de pols de ClaroCit i 500 ml de líquid ClaroCit (veure [Annex E](#)).

Inicialment, s'ha realitzat la mescla volumètrica de la resina la qual presenta una ràtio 5:2 de pols-líquid en volum. Amb això s'ha comprovat que no és un bon mètode, ja que no és molt precís i per tant, presenta una taxa d'error elevada. La polimerització de la resina no polimeritza del tot bé i apareixen moltes bombolles les quals acaben interferint posteriorment en el resultat final de la làmina prima, tal com s'observa en la figura 18. Seguidament, s'ha provat de fer la mescla en pes. Com que la ràtio de pols i líquid és de 20:12 en pes, s'ha procedit a pesar en una balança 20 g del ClaroCit en pols i 12 g del ClaroCit líquid per separat (veure [Annex E](#)). Tot seguit, un cop s'ha tingut pesat el pes amb exactitud, amb molta cura s'ha afegit la pols al líquid mentre s'ha anat remenant suaument. Aquest punt del procés és molt crític perquè un cop s'ha afegit tota la pols, s'ha de remenar molt bé durant 1 min i 30 segons i amb molta cura per impedir que s'introdueixin bombolles d'aire en la mescla. Immediatament, després de mesclar els components, s'inicia la polimerització de la resina i la viscositat augmenta és per això que, s'ha d'utilitzar la resina tant aviat com sigui possible després de fer la mescla. En

aquest cas, s'ha introduït la quantitat necessària (fins a cobrir les mostres) en els diferents motlles de muntatge prèviament numerats i col·locats amb la dent en posició vertical o horitzontal i al centre del motlle. Els motlles que s'han utilitzat en aquest cas per fer la inclusió són els FixiForm (veure [Annex E](#)), i finalitzat el procés, s'ha deixat reposar la resina tota la nit a temperatura ambient per a que polimeritzi i és pugui treure la mostra embotida fàcilment. El resultat utilitzant aquesta metodologia és la que hi ha en la figura 19, on es pot veure que fent la mescla de la resina en pes, la quantitat de bombolles és inferior en comparació amb la mescla volumètrica.

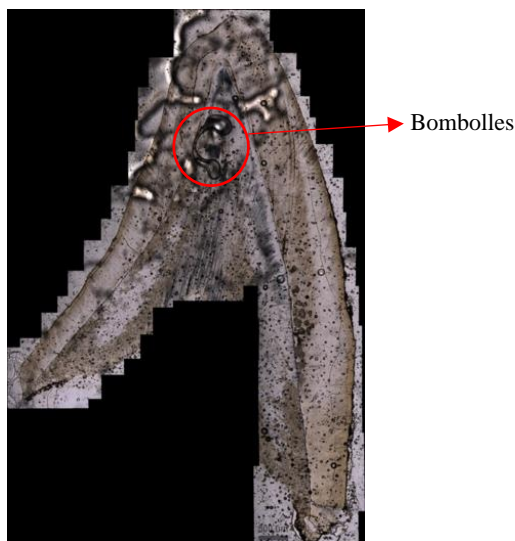


Figura 18. Dent arqueològica inclosa amb la resina en volum, observat amb el microscopi de llum polaritzat a 5x. *Font: pròpia.*



Figura 19. Dent arqueològica inclosa amb la resina en pes, observat amb el microscopi de llum polaritzat a 5x. *Font: pròpia.*

Per últim, per intentar eliminar al màxim les bombolles provinents de la preparació es va provar de fer la inclusió de les mostres en un sistema per fer el buit com recomanen alguns fabricants. Tot i això, el resultat obtingut va ser que la resina va quedar completament bombollejada, com s'observa en la figura 20. Per tant, el sistema de fer el buit es va descartar des d'un bon principi.



Figura 20. Muntatge del sistema al buit (esquerra) i resultat final després de fer la inclusió de la mostra amb el buit (dreta). La resina ha quedat amb moltes bombolles i a més a més, ha quedat molt inflada. *Font: pròpia.*

4.1.3 Primer tall per obtenir la secció longitudinal de les dents

Un cop s'han tingut les mostres embotides i s'han retirat dels motlles de muntatge, amb l'ajuda d'un regle s'ha dibuixat una línia a la zona del mig de la peça dental per facilitar l'orientació precisa del tall segons el seu eix longitudinal (veure [Annex E](#)). Aquesta orientació és molt important perquè serà sobre el qual farem l'estudi.

La millor manera per obtenir un tall histològic correcte i poder observar-lo en perfectes condicions, és fer un tall sagital en el seu pla labiolingual, és a dir, paral·lelament al seu eix longitudinal de manera que, la dent es divideix en dues parts iguals (Figura 21).



Figura 21. Tall realitzat sobre el pla labiolingual de la dent. S'observa el tipus de tall que s'ha de realitzar, paral·lel al seu eix longitudinal. *Font: "Tema Iii 2013 2.-" n.d.*

Per realitzar el tall s'ha utilitzat una serra de diamant de precisió de baixa deformació, concretament el model que s'ha utilitzat és el Minitom de la casa comercial Struers (veure [Annex E](#)) i s'ha posat la mostra de manera que es faci el tall sobre la línia recta que prèviament s'ha dibuixat sobre la resina amb el regle. Això va molt bé per tenir de referència el lloc on s'ha de fer el tall per tal que sigui el més longitudinal possible. La velocitat de tall ha estat de 300 r.p.m. i sempre s'ha tallat en aigua per lubricar la mostra i evitar l'escalfament.

Fet el tall, s'ha tallat l'excés de resina (Figura 22) que ha quedat en la mostra, ja que s'ha vist que com més petit sigui el bloc que s'enganxa al portaobjectes, menys bombolles es generen i també, facilita la realització del tall final. Un cop serrats els blocs, s'han deixat assecar unes hores (24 hores).



Figura 22. Primer tall longitudinal de la peça dental. S'ha retallat l'excés de resina dels voltants de la mostra per facilitar el següent pas de protocol. *Font: pròpia.*

4.1.4 Enganxar la mostra amb el portaobjectes

Per procedir amb el tall histològic definitiu, les mostres han d'estar prèviament enganxades al portaobjectes. Així doncs, primer que tot, s'ha marcat cada portaobjectes amb la numeració corresponent per tenir en cada punt del procés cada peça dental localitzada, i s'ha enganxat amb l'ajuda d'una cola la mostra sobre el portaobjectes. És recomana utilitzar una gravadora elèctrica o qualsevol altre eina que ralli el vidre i evitar l'ús de retoladors i/o etiquetes ja que, s'acabaran esborrant i perdent en els següents procediments. Molt important també marcar els vidres per la cara inferior, per tal que en el procés de polit no es perdi la numeració. Un cop s'han tingut els portaobjectes numerats, s'ha enganxat la mostra utilitzant inicialment una cola especial, concretament la Araldite Cristal. Com què els resultats fent servir aquest tipus de cola no eren els esperats, ja que la quantitat de bombolles que apareixien després d'enganxar-ho era molt elevat i dificultava molt el camp de visualització, s'ha utilitzant una altra cola amb polibutyl metacrilat (EUKITT®) (veure [Annex E](#)). Els resultats obtinguts utilitzant els dos tipus de cola són els que s'observen a la figura 23, on s'observa que la imatge de la esquerra on s'ha utilitzat la cola Araldite Cristal, fa que apareguin petites bombolles que interfereixen en la zona de visualització de la microestructura de la dent mentre que, utilitzant l'altra cola especial de polibutyl metacrilat (EUKITT®), es redueix molt la quantitat de bombolles i s'observa la microestructura de la dent amb més claredat.

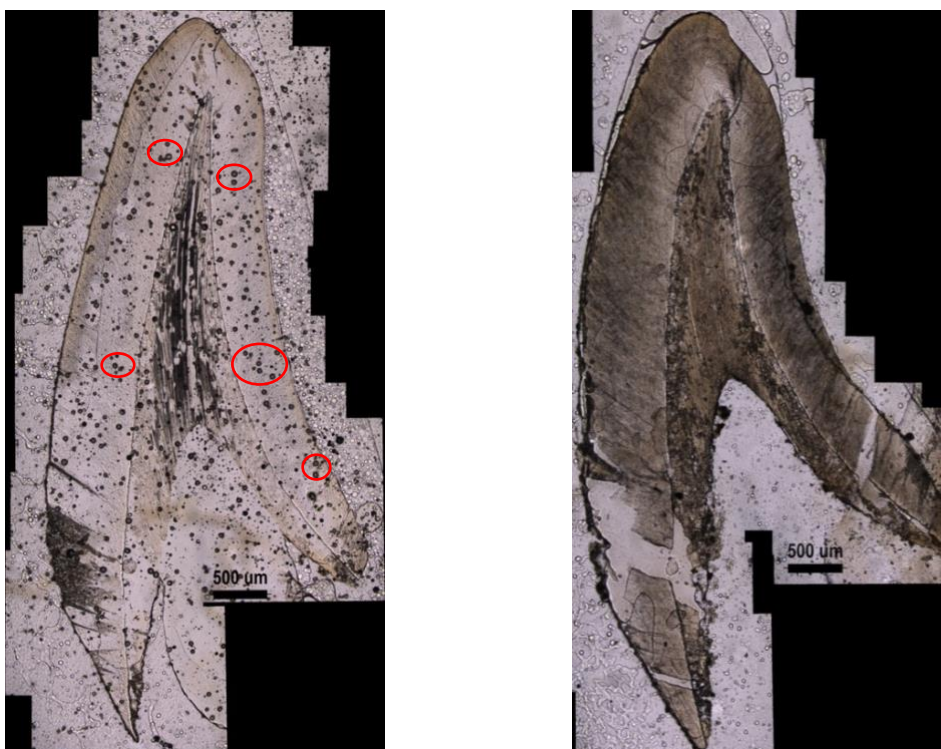


Figura 23. Comparació utilitzant els 2 tipus de cola sobre la mateixa dent amb diferent gruix, vist amb el microscopi de llum polaritzada a 5x. A l'esquerra s'indiquen les bombolles que apareixen quan s'utilitza la cola Araldite Cristal mentre que, a la dreta, hi ha la fotocomposició de la dent enganxada amb la cola de polibutyl metacrilat (EUKITT®) on la quantitat de bombolles disminueix notablement. *Font: pròpia.*

S'ha afegit un pes damunt de cada mostra per evitar que quedin bombolles d'aire atrapades que ens molestaran alhora de realitzar l'anàlisi posterior (veure [Annex E](#)). Finalment, s'han deixat assecar unes 15 hores aproximadament, per assegurar que no es desenganxi la mostra del portaobjectes en els següents procediments.

4.1.5 Talls histològics

Enganxada la mostra amb el portaobjectes i després d'haver-se assecat la cola, s'ha procedit amb el tall histològic per tal d'obtenir un tall amb un gruix aproximat entre 200-180 μm per després desbastar-ho amb paper abrasiu de SiC fins al gruix final d'unes 100 μm . Tot i això, s'ha vist que és més ràpid i la qualitat de la imatge millora considerablement fent el gruix més prim, d'entre 130-120 μm aproximadament (veure [Annex E](#)). És important col·locar la peça a la serra de manera que quedi el més recte possible per tenir un tall longitudinal.

4.1.6 Desbastat de les mostres i polit

Un cop s'ha tingut un tall d'uns 130-120 micres, cal aprimar la mostra fins a un gruix entre uns 100-80 μm , gruix òptim segons la bibliografia cercada [32]. Aquest gruix es considera el ideal per poder observar amb perfectes condicions la línia neonatal de la dent i les línies de creixement corresponents.

Aquest procés s'ha realitzat amb paper abrasiu de Carbur de Silici SiC. La mida del gra de cada paper varia en funció del nombre de grans que hi ha per unitat de superfície sent un nombre baix un paper molt groller i un nombre alt un paper molt fi. En un principi, fent els talls de la làmina amb el gruix més doble (entre 200-180 μm), s'ha desbastat amb 3 papers abrasius de Carbur de Silici de mides diferents, començant primer amb el de 800 μm , seguint amb el de 1200 μm i finalitzant amb el paper de 2000 μm . Els resultats són els de la figura 24. Vist això, s'ha decidit utilitzar directament el paper abrasiu de 2000 μm que indica un gra fi i fer el tall més prim (entre 130-120 μm) per tal d'eliminar el màxim possible les ratlles provocades pel desbast dels tres papers diferents i també, reduir el temps d'aquest procés. El resultat utilitzant aquesta tècnica s'observa a la figura 25.

És molt important realitzar el desgast de làmina mantenint el paper mullat tota l'estona. Per facilitar el treball, s'ha utilitzat un suport especial de Buheler dissenyat per polir làmines (veure [Annex E](#)) i per saber si s'ha arribat al gruix òptim desitjat (100-80 μm),

s'ha anat comprovant durant el procés visualitzant la mostra amb el microscopi de llum polaritzada LEICA, el mateix que s'ha utilitzat posteriorment per fer l'estudi de la làmina.

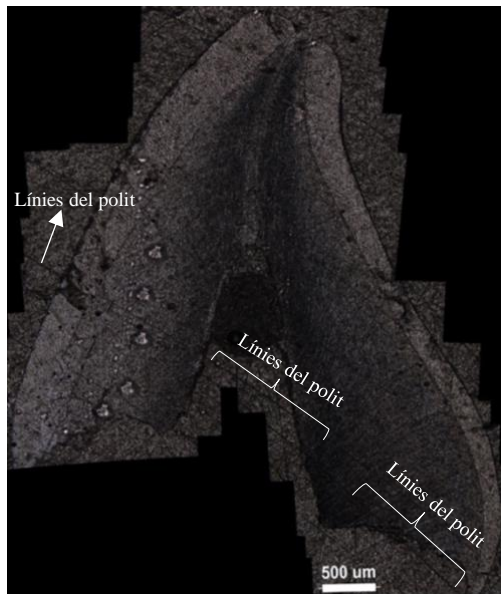


Figura 24. Resultat del desbastat, observat a 5x amb el microscopi de llum polaritzada, utilitzant els 3 papers de mides diferents. S'observen moltes ratlles. *Font: pròpia*



Figura 25. Resultat del desbast amb el paper de 2000 µm, observat a 5x amb el microscopi de llum polaritzada. El nombre de ratlles disminueix. *Font: pròpia.*

4.1.7 Muntatge amb DPX

Obtinguda la làmina amb el gruix desitjat, s'ha deshidratat a raons creixent d'etanol (70% → 96% → 100%) durant 25 segons cada bany. Tot seguit, s'ha fet una immersió amb un fixador histològic, en aquest cas, s'ha fet servir el Histolemon (2 banys de 2 min i 30 segons cadascun) i per acabar, s'ha cobert amb un cobreobjectes de vidre utilitzant com a medi de muntatge DPX (medi basat en xilè), que segons la bibliografia cercada [33], és el més òptim per visualitzar la microestructura de l'esmalt en llum polaritzada (veure [Annex E](#)). Les mostres s'han deixat assecar un mínim de 2 dies abans de ser analitzades amb el microscopi de llum polaritzada. Aquest pas s'ha realitzat al laboratori de la Universitat Autònoma de Barcelona.

Després de fer el muntatge amb el DPX, s'ha vist que aquest medi afecta molt a l'aparició de bombolles tal com s'observa a la figura 26. Per aquesta raó, s'ha provat de saltar aquest pas i observar directament la peça dental sense fer aquest muntatge amb DPX. Malauradament, tal com s'observa a la figura 27, saltant el muntatge amb el DPX, la qualitat de la mostra és veu molt alterada, ja que la dent no queda deshidratada, ni tampoc queda netejada d'altres agents externs com per exemple, fongs que han aparegut en la dent a causa de l'estat de conservació, ja que són dents antigues i per tant, no presenten

una bona conservació. Per aquesta raó, s'ha decidit continuar el procés amb el muntatge amb el DPX.

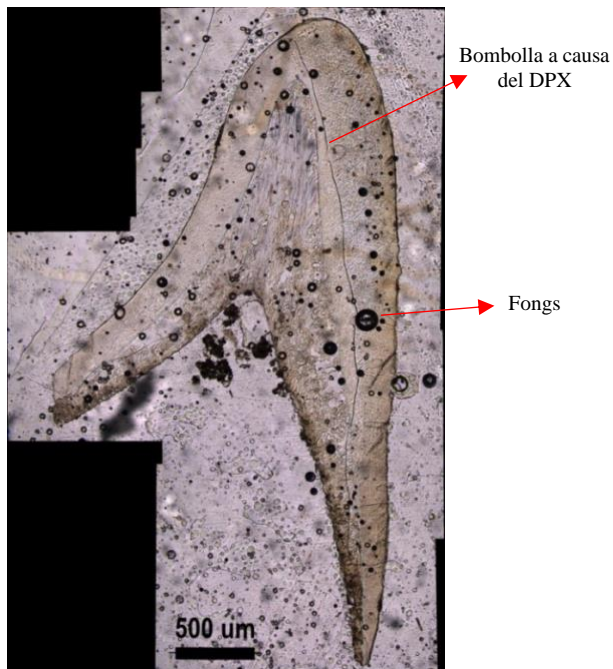


Figura 26. Muntatge amb DPX vist amb el microscopi de llum polaritzada a 5x. S'observa al fons alguna bombolla provocada pel DPX i alguns fongs provocats per l'estat de conservació de la dent. *Font: pròpia*

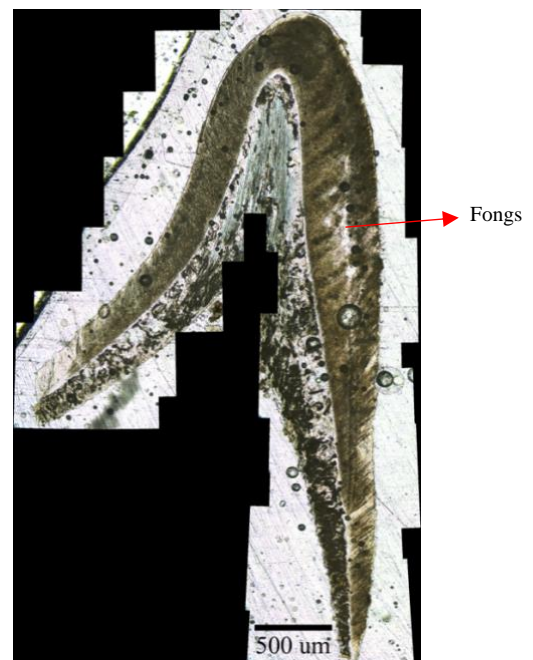


Figura 27. Muntatge sense el DPX vist amb el microscopi de llum polaritzada a 5x. S'observa la dent amb molts fongs que impedeixen veure bé la microestructura de la dent. *Font: pròpia*

També s'ha vist que encara que s'augmenti el doble de temps d'espera entre els banys d'etanol i el temps d'immersió amb el fixador histològic Histolemon, els resultats obtinguts són els mateixos i no varia entre les mostres.

4.1.8 Visualització amb el microscopi òptic

Obtinguda la làmina histològica de la peça dental, s'ha analitzat amb el microscopi vertical de llum polaritzada, Leica DM2700 P de la UVic - UCC, per observar les línies de creixement diàries i la línia neonatal. S'ha començat sempre mirant amb l'objectiu més petit (5x) per observar l'estructura completa de la dent i la línia neonatal en cas que hi sigui, i s'ha arribat fins l'objectiu 20x el qual ha servit per visualitzar els prismes amb les línies de creixement corresponents per poder fer l'anàlisi del ritme de creixement i calcular el temps de supervivència de l'individu. S'ha fotografia cada mostra utilitzant la càmera integrada del microscopi de 8 Mpx i el programari Micrometrics. Per tenir una imatge de tota la dent, s'han realitzat entre 30 i 40 fotos (segons la mida de la dent) a 5x i després s'ha fet la composició. Totes les imatges s'han calibrat a partir de les imatges d'un micròmetre preses en les mateixes condicions que les mostres de les dents.

4.2. Determinació de la presència de la NNL

Sota el microscopi de llum polaritzada, la línia neonatal (NNL) s'observa com una línia fosca diferent, localitzada molt pròxima a la superfície externa de l'esmalt. En les seccions preparades amb la tècnica de preparació de làmines primes, s'ha pogut detectar la presència d'aquesta NNL en 3 individus diferents. Una incisiva superior lateral corresponent a un nen actual (AS3.Moderna_62, veure [Annex F](#)), i 2 corresponents a jaciments arqueològics: una canina superior provinent del Castell de Besora (AS7.CB_63, veure [Annex F](#)) i una incisiva central inferior del Camp de les Lloses (AS23.CLNT04_81, veure [Annex F](#)).

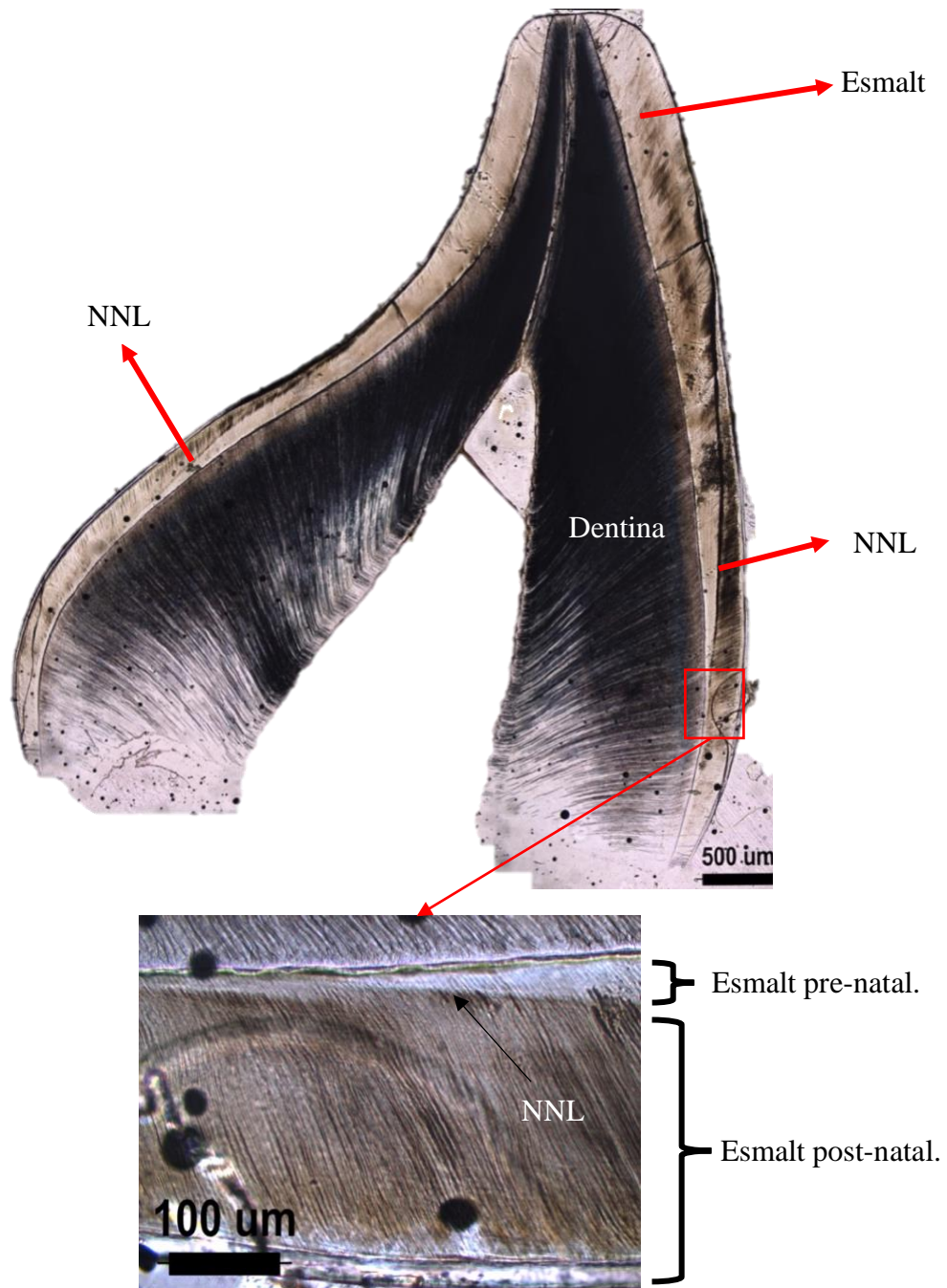


Figura 28. Incisiva lateral superior (AS3.Moderna_62) vist amb el microscopi de llum polaritzada a 5x (imatge superior) i 20x (imatge inferior). Presència de la NNL que separa l'esmalt pre-natal amb l'esmalt post-natal i ampliació de la imatge a 20x on s'indica el final de la NNL. *Font: 37 pròpia.*

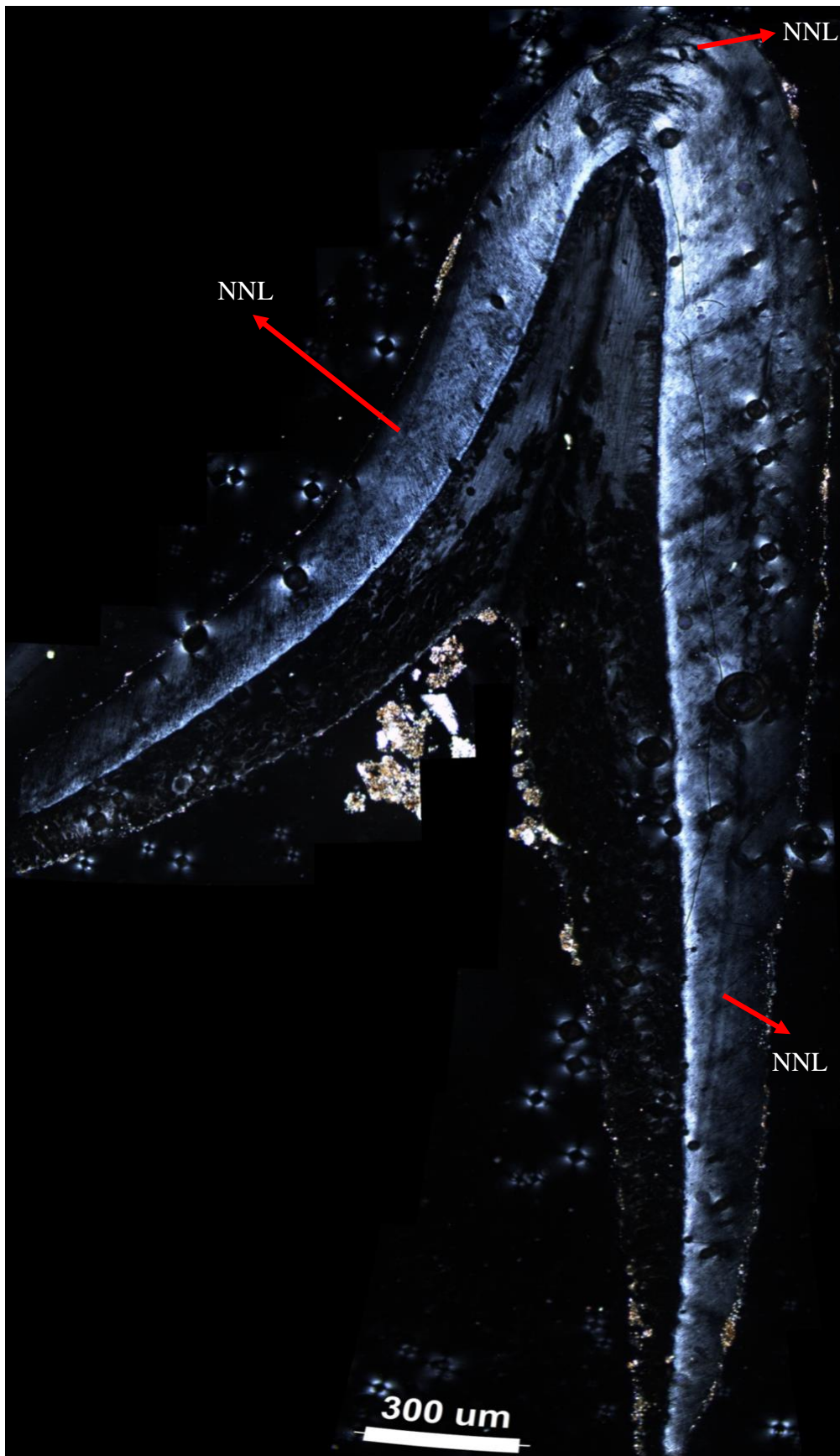


Figura 29: Canina superior (AS7.CB_63) vist amb el microscopi de llum polaritzada a 10x. Presència de la NNL donant la volta a la dent. *Font: pròpia.*

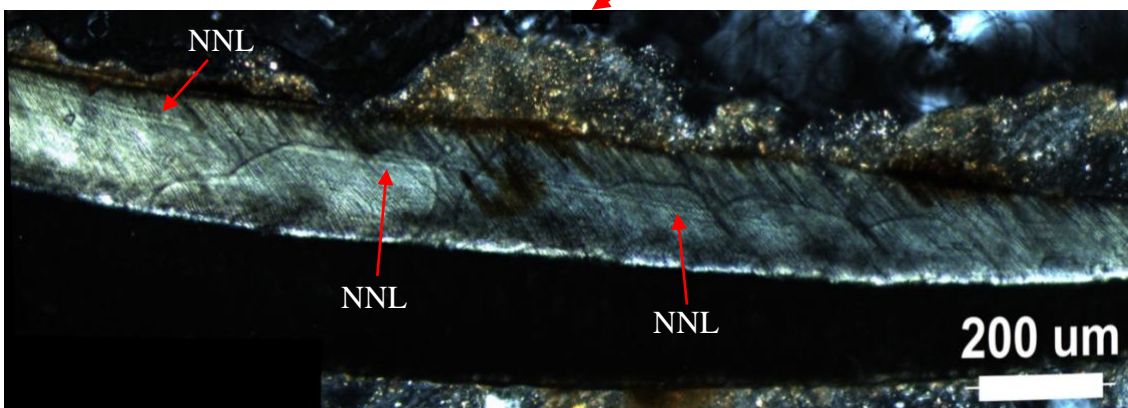
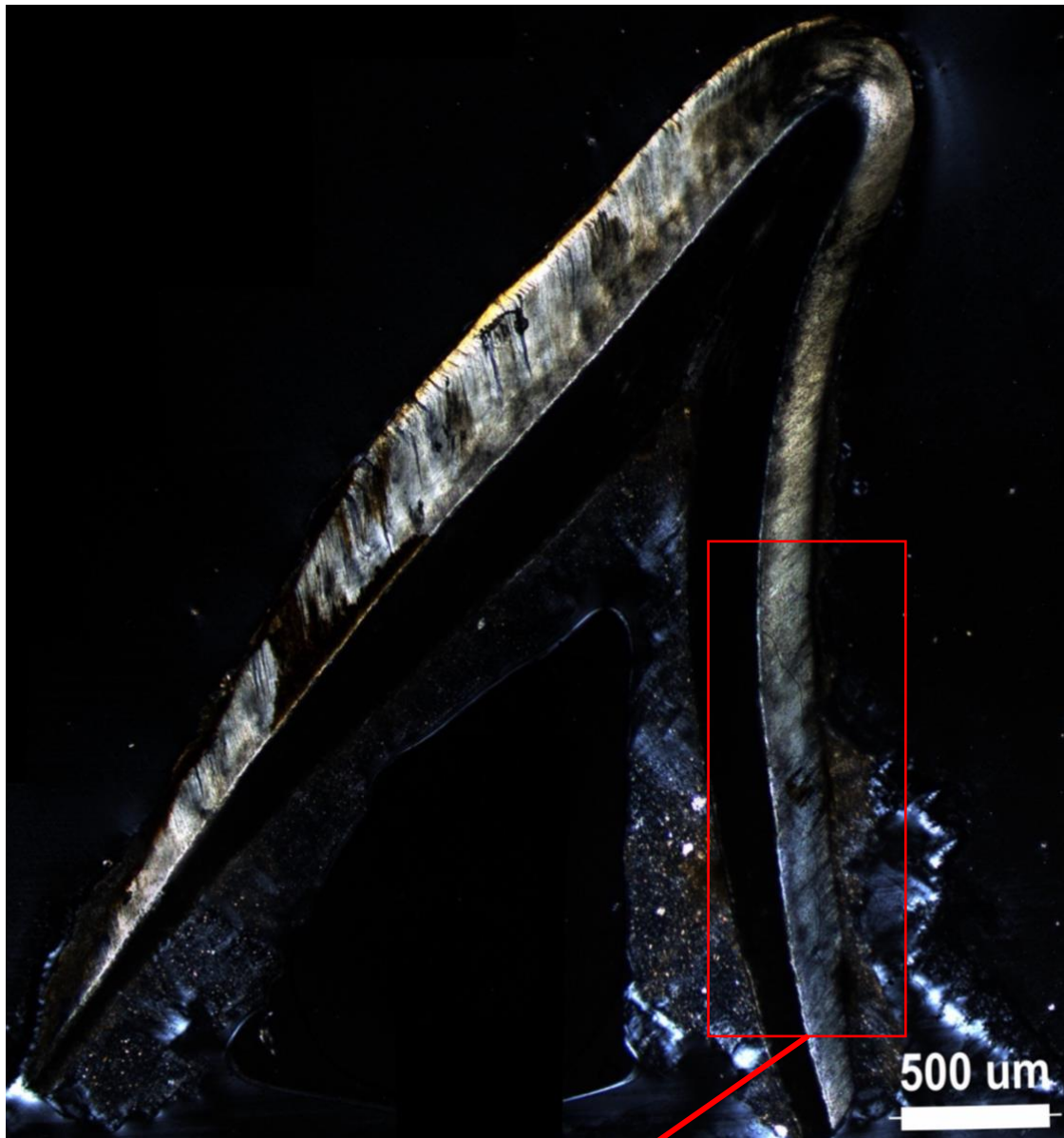


Figura 30: Incisiva central inferior (AS23.CLNT04_81) vist amb el microscopi de llum polaritzada a 5x (fotocomposició) i a 10x (NNL). Observació de la línia neonatal (NNL). Font: pròpia.

4.3. Creixements diaris i període de supervivència

Els creixements diaris s'han pogut visualitzar en un total de 11 individus diferents (veure Taula 2).

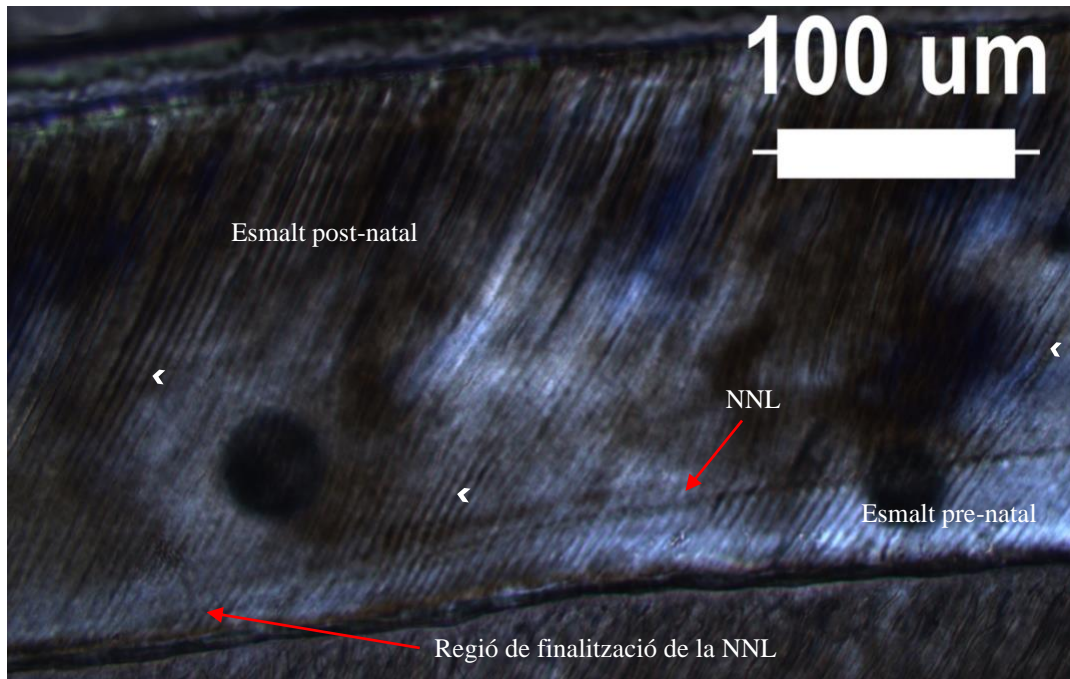


Figura 31. Creixements diaris de l'individu provinent d'un infant actual, AS3.Moderna_62 vist amb el microscopi de llum polaritzada a 20x. S'indiquen les línies transversals dels prismes corresponents als creixements diaris i també, s'indica la NNL i el seu final en l'esmalt que separa l'esmalt pre-natal del post-natal. *Font: pròpia.*

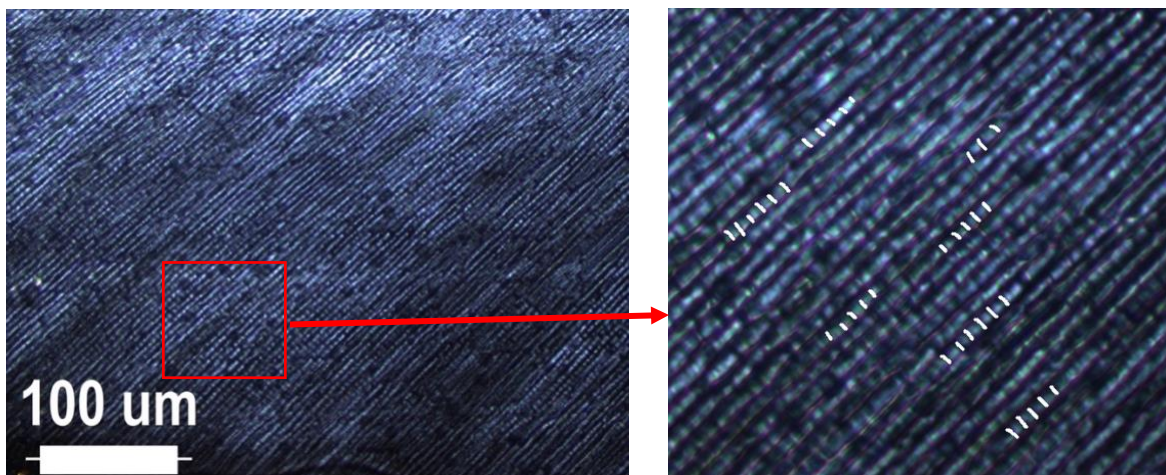
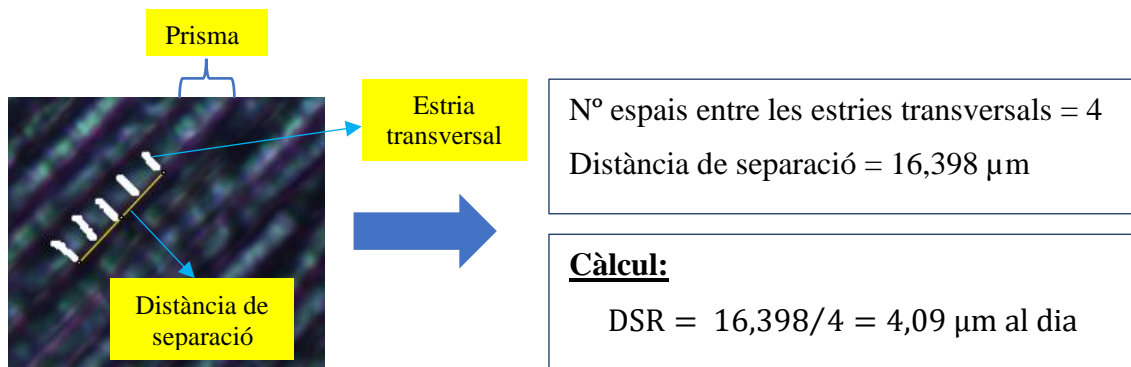


Figura 32. Creixements diaris de l'individu AS10.CB_51 corresponent al jaciment arqueològic del Castell de Besora, vist amb el microscopi de llum polaritzada a 20x. A la dreta hi ha la imatge de la regió ampliada, amb les estries transversals marcades al llarg dels diferents prismes. *Font: pròpia.*

Per cada individu, s'han comptat els espais de les estries transversals de cada prisma de l'esmalt, corresponent als creixements diaris, i s'ha dividit per la distància de separació total. El resultat obtingut és la taxa de secreció diària (daily secretion rate, DSR) per cada tipus de dent decidua humana.



De cada individu s'han realitzat diverses mesures i s'ha obtingut la taxa de secreció mitjana per cada tipus de dent (Taula 2).

Taula 2. Resultats obtinguts de cada tipus de dent de cada individu amb la mitjana del DSR obtinguda, que correspon al ritme del creixement diari, la desviació estàndard, i el número de mesures total que s'ha realitzat per cada individu. Font: pròpia.

INDIVIDU	TIPUS DE DENT	\bar{x} DSR	SD	N
AS3.Moderna	62	4,200 µm /dia	0,709	47
AS7.CB	63	4,300 µm /dia	0,599	49
AS10.CB	51	4,200 µm /dia	0,630	50
AS19.CLNT07	81	3,663 µm /dia	0,376	40
AS23.CLNT04	81	4,062 µm /dia	0,583	47
AS24.CLNT05	62	4,023 µm /dia	0,641	33
AS25.CLNT10	52	4,021 µm /dia	0,471	41
AS26.CLNT02	71	3,416 µm /dia	0,491	68
AS27.CLNT08	52	3,590 µm /dia	0,416	31
AS28.CLNT09	71	3,847 µm /dia	0,504	50
AS30.PDSA12	62	3,831 µm /dia	0,527	34

Aquells individus on també s'ha pogut identificar la presència de la NLL (AS3.Moderna_62, AS7.CB_63 i AS23.CLNT04_81), s'ha pogut calcular el període de supervivència de cada individu, a excepció de la dent provinent del infant actual (AS3.Moderna_62), ja que es tracta d'una dent decidua caiguda i només es pot calcular la supervivència en aquelles peces dentals que presenten la corona en estat de creixement. Per fer el càlcul del temps de supervivència, s'ha mesurat la longitud del prisma sencer a la zona on finalitza la NLL de manera que, és mesura la longitud total del prisma que s'ha format post-natal i s'ha dividit entre la mitjana del DSR obtinguda per cada individu. En l'individu AS7.CB_63 s'ha obtingut una supervivència aproximada de 48 dies, amb una desviació estàndard de 0,605 i en canvi, per l'individu AS23.CLNT04_81 la

supervivència ha estat major, sent de 56 dies el valor aproximat, amb la desviació estàndard de 0,583 (Taula 3).

Taula 3. Període de supervivència del individu AS7.CB_63 corresponent al jaciment arqueològic del Castell de Besora i del individu AS23.CLNT04_81 del Camp de les Lloses. Font: pròpia.

INDIVIDU	LONGITUD PRISMA	\bar{x} DSR	SD	PERÍODE DE SUPERVIVÈNCIA
AS7.CB_63	205,891 μm	4,300 μm /dia	0,605	47,88 \approx 48 dies
AS23.CLNT04_81	226,682 μm	4,062 μm /dia	0,583	55,80 \approx 56 dies

4.3.1 Comparació del DSR entre individus

S'ha comparat la taxa de secreció diària (DSR) entre les peces dentals dels individus provinents dels jaciments arqueològics, amb la finalitat de determinar si hi ha diferències en quant al creixement de l'esmalt entre els diferents individus. Segons el boxplot obtingut en la figura 33, sembla indicar que sí que hi ha diferències entre la taxa de secreció diària amb els diferents individus.

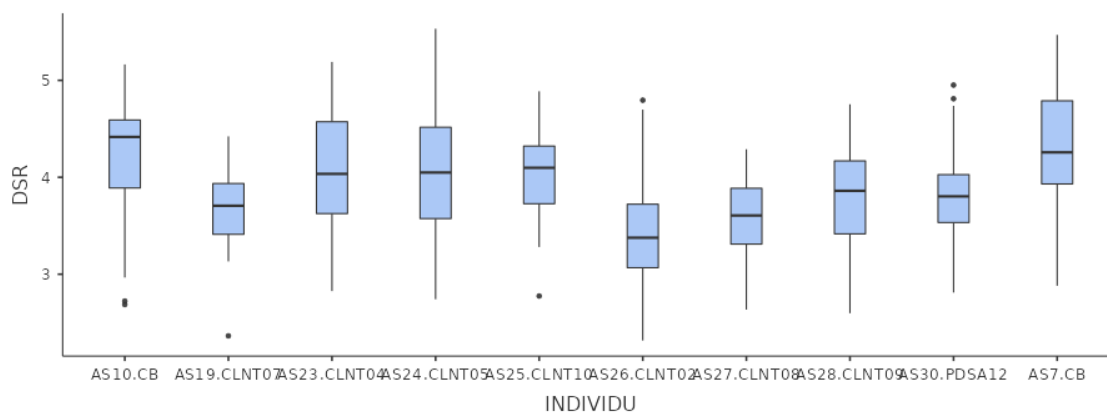


Figura 33. Boxplot entre el DSR dels diferents individus. A l'eix de les Y hi ha representada la taxa de secreció diària (DSR) mentre que, a l'eix de les X hi tenim els diferents individus. Com es pot observar, sembla que hi ha diferències entre els individus. Font: pròpia.

Les dades s'han analitzat estadísticament (ANOVA; $F = 14.2$; $df_1 = 9$; $df_2 = 166$; $p < .001$) i els resultats han confirmat que hi ha diferències significatives entre la taxa de secreció diària (DSR) de cada individu. Aquestes diferències s'han pogut observar en la majoria d'individus a excepció dels individus AS10.CB i AS7.CB, AS10.CB i AS19.CLNT07, AS10.CB i AS25.CLNT10, AS26.CLNT02 i AS25.CLNT02, AS27.CLNT08 i AS26.CLNT02, AS28.CLNT09 i AS27.CLNT08, AS25.CLNT10 i AS27.CLNT08, AS25.CLNT10 i AS30.PDSA12, AS7.CLNT08 i AS30.PDSA12.

4.3.2 Comparació del DSR segons el tipus de dent

Com que s'han vist diferències significatives en quant al DSR entre els diferents individus, s'ha comprovat si aquestes diferències poden ser degudes a què hi ha diferències en el tipus de dent. Així doncs, s'ha realitzat la comparació entre el DSR amb els diferents tipus de dent, per veure si realment hi ha diferències significatives o no. La distribució de les dades inicial, tal com s'observa en el boxplot obtingut (Figura 34), sembla indicar que en un principi hi ha diferències, d'una banda, entre les dents incisives superiors amb les incisives inferiors, les quals sembla que tinguin un creixement menys lent i també, en les canines s'observa que el creixement és superior que en les incisives inferiors. D'altra banda, en les dents incisives laterals superiors, sembla que el creixement sigui més lent que en les centrals superiors i les canines, però tot i així, continua sent superior a les incisives inferiors, on s'observa un creixement més lent.

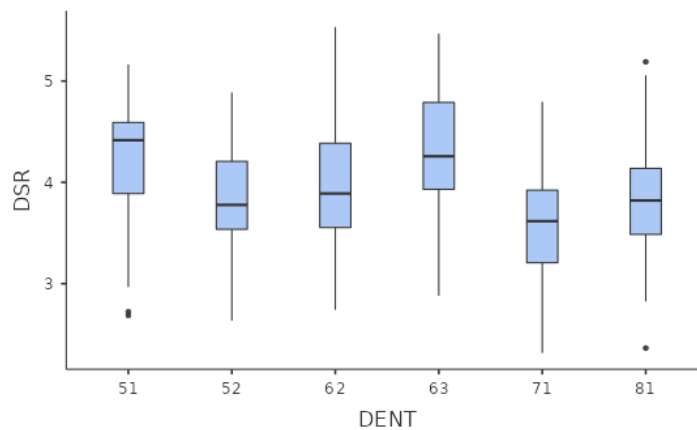


Figura 34. Boxplot entre el DSR de cada tipus de dent. A l'eix de les Y hi ha la taxa de secreció diària (DSR) i a l'eix de les X, tenim els diferents tipus de dent que s'han estudiat. *Font: pròpia.*

Després de fer l'anàlisi estadístic, s'ha pogut confirmar que sí que hi ha diferències significatives entre el DSR amb els diferents tipus de dents; (ANOVA; $F=15.2$; $df_1=5$; $df_2=437$; $p < .001$). Aquestes diferències s'han vist que existeixen entre la majoria de dents, excepte entre les dents 51 i 63, 52 i 62, 52 i 71, 52 i 81, 81 i 62.

4.3.3 Comparació del DSR entre una peça dental moderna i una antiga

Finalment, s'ha comprovat si existien diferències entre les dents més antigues amb les dents actuals. L'objectiu era determinar si amb el pas del temps, la taxa de creixement havia variat. S'ha analitzat 1 dent moderna (AS3.Moderna_62) amb 2 dents provinents de 2 jaciments diferents (AS24.CLNT05_62 del Camp de les Lloses i AS30.PDSA12_62 d'Ullastret). Les 3 mostres han estat seleccionades prèviament en relació al mateix tipus

de dent, ja que les 3 corresponen a dents incisives laterals esquerres. El boxplot obtingut (Figura 35), sembla indicar en un principi que no hi ha diferències entre les dents més modernes i les més antigues, ja que la mitjana de les dades del DSR sembla coincidir en els tres casos.

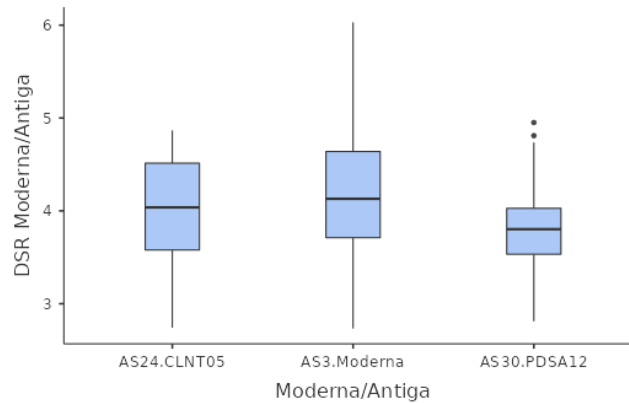


Figura 35. Boxplot entre el DSR entre la mostra d'un infant actual (AS3.Moderna) i les 2 mostres provinents de jaciments arqueològics (AS24.CLNT05 i AS30.PDSA12). Font: pròpia.

Després de fer l'estudi estadístic, s'ha vist que existeixen diferències significatives entre les dents (ANOVA; $F=3.59$; $df1=2$; $df2=108$; $p = 0.031$). Aquestes diferències s'han observat entre la mostra de dent moderna (AS3.Moderna) i la dent provinent del jaciment d'Ullastret (AS30.PDS12), on s'ha vist que la dent moderna creix més ràpid que en la dent provinent del jaciment, la qual té un creixement més lent.

4.4. SR- μ XRD d'una dent moderna i una dent arqueològica

D'una banda, s'ha seleccionat la làmina prima d'una dent moderna (AS3.Moderna) on es visualitzés la NNL, per determinar possibles diferències a nivell estructural en quant als cristalls d'hidroxiapatita (HA), al llarg de la dent. D'aquesta dent moderna, s'han recollit una sèrie de patrons de difracció 2D cada 14 μm , seguint una línia des de la superfície externa fins a l'interior de la dent (Figura 36).



Figura 36. Imatge al microscopi de la dent moderna on s'han analitzat 37 punts al llarg de la línia groga, des de l'esquerra (aire) fins a la dreta (dentina).

En els patrons de difracció obtinguts (Figura 37), s'ha vist que l'única fase cristal·lina identificada és HA, com era d'esperar, i que els pics de difracció de la dentina són més amplis que en l'esmalt, indicant així que hi ha cristalls HA més petits en la dentina. També s'ha vist que no hi ha diferències en la intensitat i amplada dels pics en la NNL respecte la resta de l'esmalt i per tant, no sembla estar relacionat amb un creixement diferent de l'HA en la NNL.

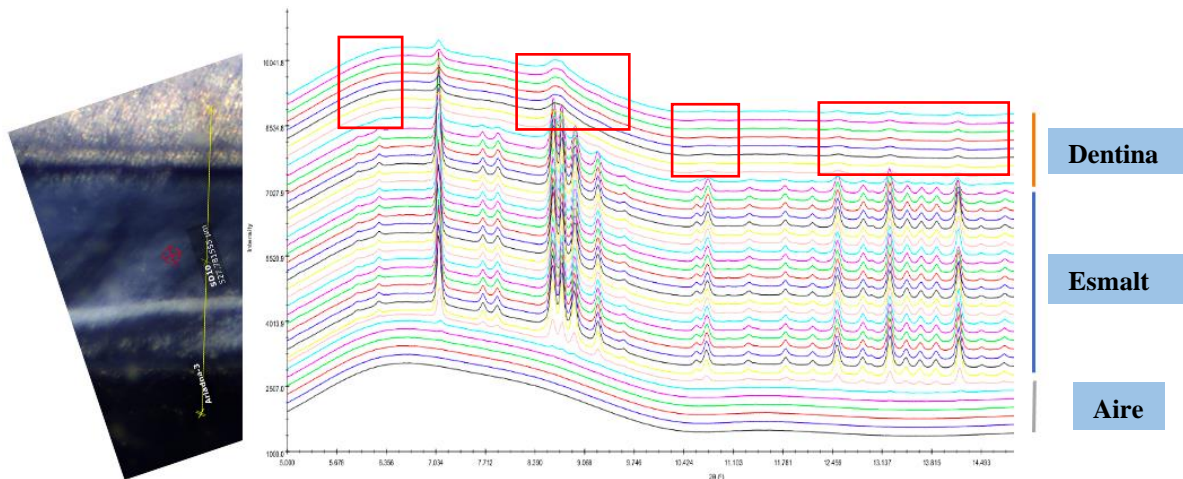


Figura 37. Diffractogrames integrats de la dent moderna, AS3.Moderna. No s'aprecien diferències en la zona de l'esmalt que indiquin diferències en la NNL. També s'indiquen les regions de la dentina on sí que hi ha diferències en quant a la intensitat dels pics, en comparació amb les regions de l'esmalt.

El que sí que s'observa clarament en les imatges 2D DRX obtingudes (Figura 38), és que hi ha una orientació preferencial clara dels cristalls d'HA en tot l'esmalt, ja que la intensitat dels anells de difracció no és homogènia i presenten zones més intenses. En la dentina, en canvi, la intensitat dels anells és homogènia, demostrant així que no hi ha una orientació dels cristalls en una direcció determinada.

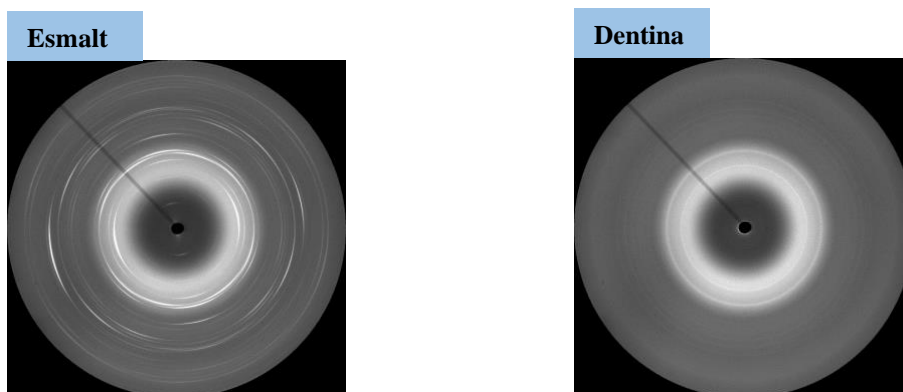


Figura 38. Imatges 2D de difracció de raig x. A l'esquerra tenim la imatge obtinguda d'una zona de l'esmalt mentre que a la dreta, hi ha la zona de la dentina.

D'altra banda, pel que fa a la dent provinent del jaciment arqueològic (AS21.CLNT09_71), s'ha realitzat una micro-difracció de raig x en diferents regions de la dent on es veien canvis en la coloració (Figura 39), per tal d'identificar si l'estat de conservació i els agents externs, com ara fongs, afectava a la cristal·linitat de l'HA. El resultat obtingut del difractograma integrat (Figura 40), ha demostrat que tot són cristalls de HA que estan també orientats al llarg de l'eix c, menys en la dentina on els cristalls són més petits i no estan orientats (Figura 41), tal com passa en la dent actual.



Figura 40. Micro-difracció de raig X en diferents regions de l'esmalt i dentina on s'ha visualitzat un comportament òptic diferent.

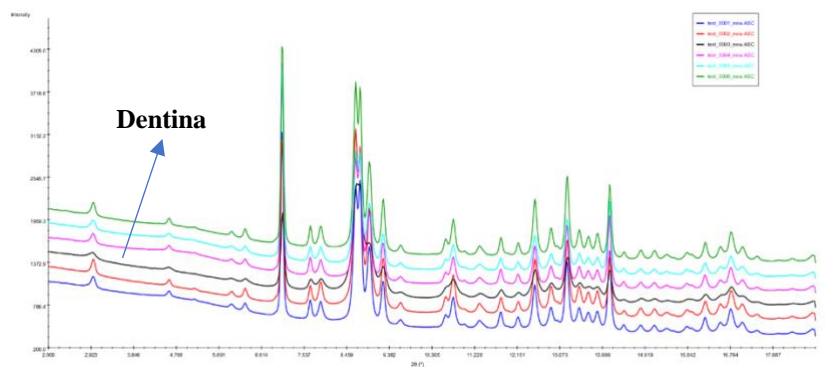


Figura 39. Diffractograma integrat de les diferents regions corresponents a la dent antiga. S'observa com en la zona de la dentina, els cristalls són més petits, ja que els pics són més amples.

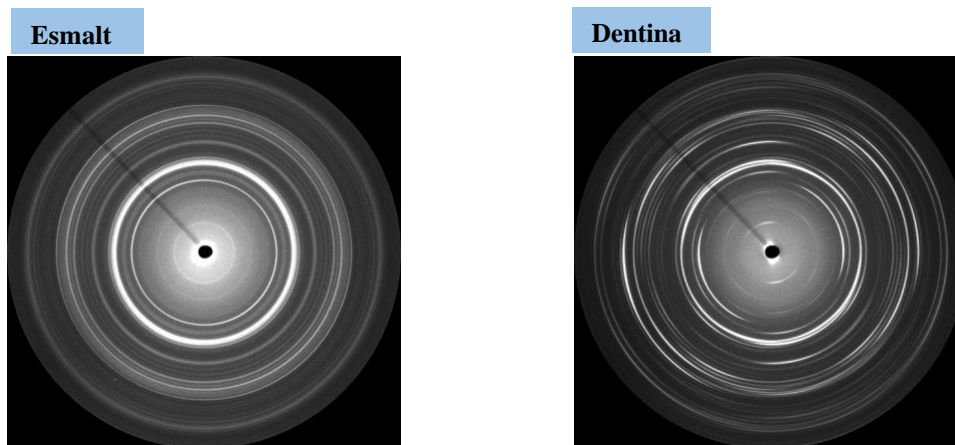


Figura 41. Imatges 2D de la micro-difracció de raig x. En l'esmalt els cristalls estan orientats mentre que, en la dentina, els cristalls no estan orientats.

5. Discussió

L'optimització de la tècnica de preparació de làmines primes en dents decidues humanes, ha demostrat ser una tècnica eficaç, ja que s'ha pogut determinar la microestructura de l'esmalt amb perfectes condicions. El gruix òptim aproximat de les làmines primes al qual s'ha aconseguit arribar amb aquesta optimització de la tècnica (entre 100-80 μm), ha permès identificar línies de creixement no periòdiques com és la NNL, línia de creixement més gruixuda i paral·lela a les línies de Retzius, la qual també pot ser més ampla o menys, i s'ha identificat en zones semblants on també s'ha vist en altres estudis [\[1\]](#) i [\[31\]](#). Els individus amb la NNL present, s'ha calculat el període de supervivència a partir de les línies de creixement diàries (estries transversals), les quals s'han visualitzat a 20x augment, demostrant així, els bons resultats que s'han assolit en la preparació i obtenció de les seccions longitudinals de les peces dentals. Això ha permès també, calcular la taxa de secreció de l'esmalt diària (DSR) dels diferents individus obtenint com a mitjana una DSR de 3,923 $\mu\text{m}/\text{dia}$, molt semblant segons el que hi ha descrit en la literatura, on la mitjana oscil·la entre 3,8-4,1 $\mu\text{m}/\text{dia}$ segons aquest estudi [\[30\]](#) o entre 2,40 μm fins a un màxim de 5.570 μm per cada dia, tal com s'explica en aquest altre estudi [\[34\]](#). Comparacions entre la DSR dels diferents individus, han demostrat diferències significatives, possiblement perquè presentaven diferències en quant al tipus de dent, ja que no s'estava analitzant la mateixa dent per cada individu. Comparant la DSR amb els diferents tipus de dent, s'ha afirmat que no totes les dents tenen una taxa de secreció igual, tal com també s'ha demostrat en altres estudis [\[35\]](#), on han vist que les incisives tenen una DSR superior, comparant-ho amb les molars. En aquest estudi, s'ha vist que les dents més grans com són les incisives centrals superiors i les canines, tenen la DSR més gran, fet que podria explicar el perquè aquestes dents tenen unes dimensions tant grans, en comparació amb altres dents, com les incisives centrals inferiors, on la DSR ha estat inferior, demostrant un creixement més lent. La possible hipòtesi que es planteja és que la dimensió de les dents està relacionada amb la quantitat secretada cada dia per un ameloblast, sent superior en aquelles dents amb dimensions més grans. Finalment, en les dents més actuals, sembla ser que el creixement sigui més ràpid en comparació amb les dents antigues. Això podria estar causat per canvis en la nutrició, i/o canvis en els factors genètics que s'hagin pogut produït amb el pas del temps, esdevenint en un canvi en el ritme de creixement, fet que actualment sigui més ràpid. Aquest resultat, és contradictori amb un altre estudi en el que s'ha comparat la DSR entre individus actuals i poblacions

romanes i medievals, on s'ha vist que les mitjanes de les DSR romanes eren significativament més ràpides que les poblacions medievals i modernes [36].

L'anàlisi de difracció de raig X amb llum sincrotró, demostren que els cristalls d'hidroxiapatita de l'esmalt estan orientats mentre que, en la dentina, no presenten una orientació preferencial i tenen una mida molt més petita que en l'esmalt. Això s'explica perquè el teixit de la dentina, presenta una duresa inferior que l'esmalt i per tant, no necessita aquesta orientació tan definida. D'altra banda, no s'han pogut detectar canvis en la mida i orientació dels cristalls d'HA en la NNL.

5.1. Limitacions i millores a realitzar en projectes futurs

El nivell d'evidència del resultat obtingut de la variació de la DSR en quant als individus antics en comparació amb els més actuals, és molt limitat pel que fa al número de mostres analitzades. Per afirmar aquest resultat, es requeriria una validació externa amb un estudi més ampli on s'involucressin més mostres per confirmar aquesta hipòtesi. Per acabar, els resultats obtinguts de l'anàlisi de micro-difracció de raig X, no són gaire precisos, ja que no es va tenir en compte la direccionalitat del prisma sencer i per tant, podria estar interferint amb els resultats obtinguts. S'hauria de realitzar un altre estudi, seguint la direccionalitat del prisma, per mirar si hi ha diferències rellevants en quant a la cristal·linitat de l'HA, sobretot en presència de la NNL.

6. Conclusions

Recuperant els objectius marcats inicialment en aquest treball i en base als resultats obtinguts i discutits anteriorment, les conclusions a les quals s'han arribat són:

- ♦ El kit de preparació de la resina ClaroCit Kit, amb la preparació de la mescla en pes, per incloure les mostres i l'obtenció de talls d'entre 130-120 μm els quals s'han desbastat i polit amb paper abrasiu de Carbur de Silici amb una mida de gra de 2000 μm fins arribar al gruix òptim d'entre 100-80 μm , i el muntatge posterior amb medi de muntatge amb DPX, ha permès la visualització òptima de la microestructura de l'esmalt, on s'han pogut identificar línies de creixement tant paròdiques (estries transversals) com no periòdiques (NNL).
- ♦ La presència de la NNL s'ha pogut identificar en 3 individus diferents, una dent provinent d'un infant actual (AS3.Moderna_62) i 2 provinents de jaciments arqueològics (AS7.CB_63 i AS23.CLNT04_81). D'aquests dos individus, s'ha pogut calcular el temps de supervivència donant com a resultat una supervivència de 48 dies per l'individu AS7.CB_63 i de 56 dies per l'individu AS23.CLNT04_81.
- ♦ La mitjana total de la DSR obtinguda en les 11 peces dentals ha estat de 3,923 $\mu\text{m}/\text{dia}$. En les incisives centrals superiors, el ritme de creixement ha estat 4,200 $\mu\text{m}/\text{dia}$. Pel que fa a les incisives laterals superiors, el ritme de creixement ha estat inferior, sent de 3,933 $\mu\text{m}/\text{dia}$, mentre que, en les canines superiors, s'ha obtingut el valor més alt, de 4,300 $\mu\text{m}/\text{dia}$. En les incisives centrals inferiors, el ritme de creixement ha estat de 3,747 $\mu\text{m}/\text{dia}$, per tant, inferior en comparació a la resta de dent, demostrant així un creixement més ràpid en les dents amb dimensions més grans, que en les dents amb dimensions més petites.
- ♦ La presència de la NNL no provoca canvis estructurals en quant a la mida i cristal·linitat dels cristalls d'hidroxiapatita.

7. Referències bibliogràfiques

- [1] Janardhanan, M., Umadethan, B., Biniraj, K., Vinod Kumar, R., & Rakesh, S. (2011). Neonatal line as a linear evidence of live birth: Estimation of postnatal survival of a new born from primary tooth germs. *Journal of Forensic Dental Sciences*, 3(1), 8. <https://doi.org/10.4103/0975-1475.85284>
- [2] Alqahtani, S. J., Hector, M. P., & Liversidge, H. M. (n.d.). *Brief Communication: The London Atlas of Human Tooth Development and Eruption*. <https://doi.org/10.1002/ajpa.21258>
- [3] Bonda, S. M. (2018). Neonatal Line as a Tool to Investigate Neonaticide Cases - A Review of its Genesis and Structure. *Forensic Science & Addiction Research*, 2(3). <https://doi.org/10.31031/fsar.2018.02.000542>
- [4] Molinero Mourelle, P. (2014). *Aplicación de la maduración y desarrollo dental en niños en Odontología legal y forense*. 6(4), 281–286.
- [5] Odontología, F. D. E. (2019). *Departamento de Especialidades Clínicas Odontológicas Joaquín de Nova García*.
- [6] Haavikko, K. (1974). Tooth Formation Age Estimated on a Few Selected Teeth A Simple Method for Clinical Use. In *DENT. soc* (Vol. 70).
- [7] Viciano, J., De Luca, S., Irurita, J., & Alemán, I. (2018). Age Estimation of Infants Through Metric Analysis of Developing Anterior Deciduous Teeth. *Journal of Forensic Sciences*, 63(1), 20–30. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.13505>
- [8] LES DENTS - HIGIENE BUCODENTAL. (n.d.). Retrieved April 26, 2021, from <https://higienebucodental.weebly.com/les-dents.html>
- [9] Catalunya, I. O. de. (n.d.). *Tècniques d'ajuda odontològica/estomatològica*.
- [10] Generalidades del Esmalte. (n.d.). Retrieved April 28, 2021, from <http://podemossonreir.blogspot.com/2018/03/generalidades-del-esmalte.html>
- [11] *HISTOLOGIA BUCODENTARIA: EMBRIOLOGÍA DENTARIA*. (n.d.).
- [12] Desarrollo dentario - Wikipedia, la enciclopedia libre. (n.d.). Retrieved April 28, 2021, from https://es.wikipedia.org/wiki/Desarrollo_dentario
- [13] Odontogénesis - Wikipedia, la enciclopedia libre. (n.d.). Retrieved April 28, 2021, from <https://es.wikipedia.org/wiki/Odontogénesis>
- [14] Composición química del diente. (n.d.). Retrieved April 28, 2021, from <https://es.slideshare.net/histoembriogen/composicin-qumica-del-diente>
- [15] Petrone, S., & Garizoain, G. (2017). *Cuadernos del Instituto Nacional de Antropología y Pensamiento Latinoamericano-Series Especiales ANÁLISIS HISTOLÓGICO DEL ESMALTE DENTARIO DESDE UNA PERSPECTIVA ANTROPOLÓGICA. TÉCNICA DE CORTE DELGADO PARA MICROSCOPIA ÓPTICA*. 4(4), 108–116.
- [16] De Barrido, E., Los, D. E., & Navarro Garre, R. (n.d.). *UNIVERSIDAD DE MURCIA “ESTUDIO MEDIANTE MICROSCOPIO ORTODÓNICA.”*
- [17] De Medicina, F., Cerrato, A. M., Labajo González, E., Bolaños, J. C., & Perea Pérez, B. (2010). *UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID RELACIÓN ENTRE EDAD DENTAL Y EDAD CRONOLÓGICA. MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR PRESENTADA POR.*
- [18] Dentina - EcuRed. (n.d.). Retrieved April 29, 2021, from <https://www.ecured.cu/Dentina>
- [19] Dentina. (n.d.). Retrieved April 29, 2021, from https://es.slideshare.net/cdfesaragoza/dentina-10243517?next_slideshow=1
- [20] Dentina y dentinogénesis. (n.d.). Retrieved April 29, 2021, from <https://es.slideshare.net/dentistanico/dentina-y-dentinogenesis>

- [21] Histología de la dentina. (n.d.). Retrieved April 29, 2021, from <https://es.slideshare.net/jenniferortega14/histologa-de-la-dentina-72445012>
- [22] Proceso de odontoblastos - Odontoblast process - other.wiki. (n.d.). Retrieved April 29, 2021, from https://es.other.wiki/wiki/Odontoblast_process
- [23] Apuntes de Histología oral by Daniel Bautista - issuu. (n.d.). Retrieved April 29, 2021, from <https://issuu.com/dbautistaq/docs/namefa4a64/23>
- [24] Cemento. (n.d.). Retrieved April 29, 2021, from https://es.slideshare.net/Daniella_0215/cemento-45837021
- [25] La dentición temporal y la dentición permanente. (n.d.). Retrieved May 5, 2021, from <https://www.ilerna.es/blog/fp-online/denticion-temporal-permanente/>
- [26] Canturk, N., Atsu, S. S., Aka, P. S., & Dagalp, R. (2014). Neonatal line on fetus and infant teeth: An indicator of live birth and mode of delivery. *Early Human Development*, *90*(8), 393–397. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2014.05.002>
- [27] Etapas De La Dentición Y Cuidados En Cada Una De Ellas • Clínicas Cleardent. (n.d.). Retrieved May 5, 2021, from <https://www.cleardent.es/etapas-de-la-denticion-y-cuidados/>
- [28] Numeración de los dientes, ¿qué número corresponde a cada pieza dental? (n.d.). Retrieved May 6, 2021, from <https://www.dvd-dental.com/blogodontomecum/numeracion-de-los-dientes/>
- [29] Nomenclatura Dentaria Zsigmondy Palmer - Fabián Villena Rodríguez. (n.d.). Retrieved May 6, 2021, from <https://fabianvillena.cl/blog/nomenclatura-dentaria-zsigmondy-palmer/>
- [30] Witzel, C., & Carsten. (2014). Echoes from birth – Mutual benefits for physical and forensic anthropology by applying increment counts in enamel of deciduous teeth for aging. *Anthropologischer Anzeiger*, *71*(1–2), 87–103. <https://doi.org/10.1127/0003-5548/2014/0386>
- [31] Hassett, B. R., Dean, M. C., Ring, S., Atkinson, C., Ness, A. R., & Humphrey, L. (2020). Effects of maternal, gestational, and perinatal variables on neonatal line width observed in a modern UK birth cohort. *American Journal of Physical Anthropology*, *172*(2), 314–332. <https://doi.org/10.1002/ajpa.24042>
- [32] Dean, M. C., Spiers, K. M., Garvoet, J., & Le Cabec, A. (2019). Synchrotron X-ray fluorescence mapping of Ca, Sr and Zn at the neonatal line in human deciduous teeth reflects changing perinatal physiology. *Archives of Oral Biology*, *104*, 90–102. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2019.05.024>
- [33] Silva, G. A. B., Moreira, A., & Alves, J. B. (2011). Histological processing of teeth and periodontal tissues for light microscopy analysis. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, *689*, 19–36. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-950-5_2
- [34] Mahoney, P. (2015). Dental fast track: Prenatal enamel growth, incisor eruption, and weaning in human infants. *American Journal of Physical Anthropology*, *156*(3), 407–421. <https://doi.org/10.1002/ajpa.22666>
- [35] Mahoney, P. (n.d.). *Incremental Enamel Development in Modern Human Deciduous Anterior Teeth*. <https://doi.org/10.1002/ajpa.22029>
- [36] Aris, C., Mahoney, P., & Deter, C. (2020). Enamel growth rates of anterior teeth in males and females from modern and ancient British populations. *American Journal of Physical Anthropology*, *173*(2), 236–249. <https://doi.org/10.1002/ajpa.24068>

ANNEX

Annex A. Atlas del desenvolupament dentari i erupció.

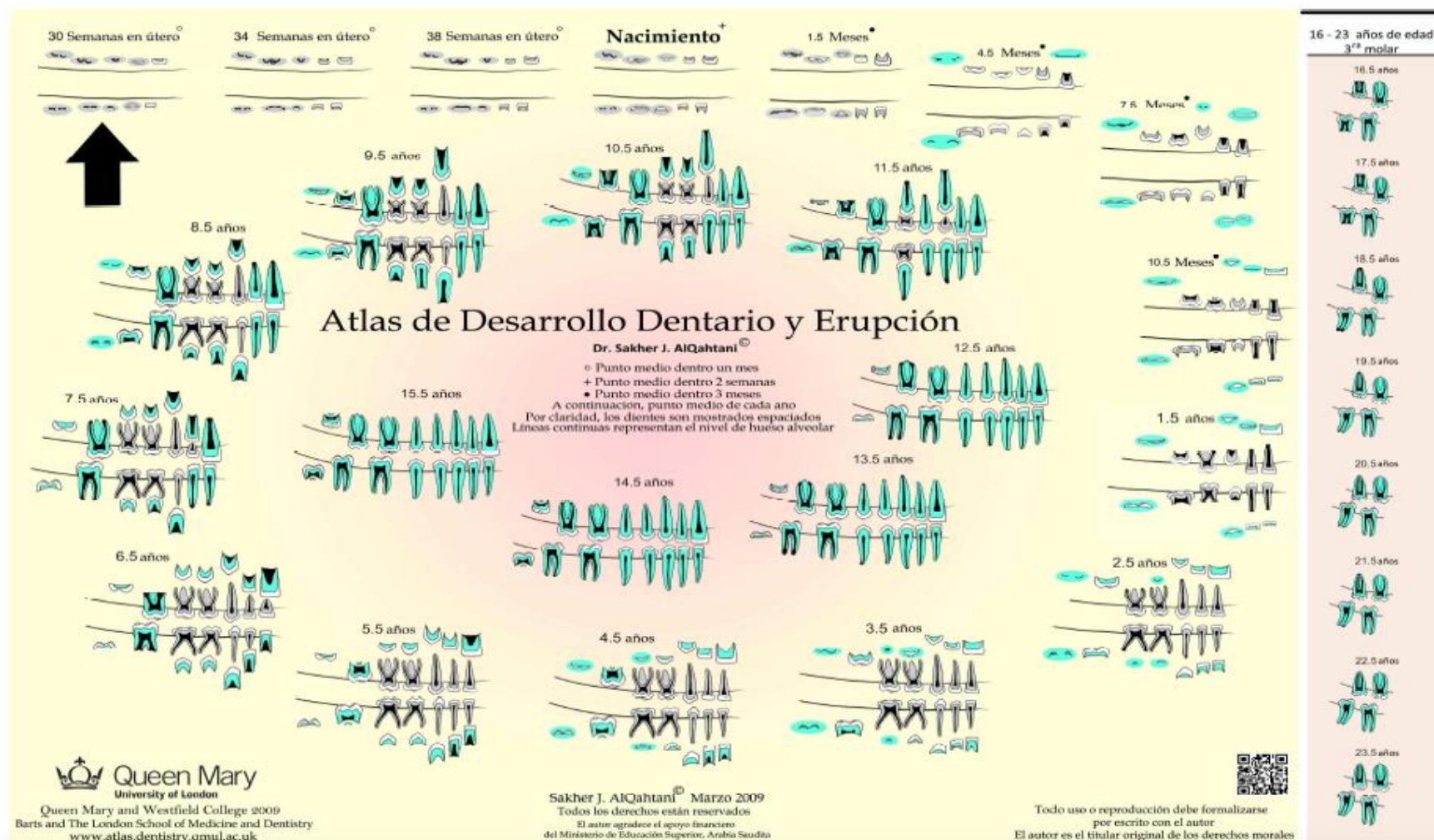


Figura 1: Atlas del desenvolupament dentari i erupció. S'indica el període de temps del desenvolupament dental amb la seva erupció, tant de la dentadura temporal com la dentadura permanent.

Font: "(No Title)." [Online]. Available:

https://www.qmul.ac.uk/dentistry/media/dentistry/images/atlas/spanish/atlas_of_tooth_development_in_Spanish.pdf. [Accessed: 1-May-2021].

Descripción de los estadios de Moorrees (1963) utilizados para identificar los estadios de desarrollo dentario de un diente uniradicular

	Ci: Formación inicial de cúspide		Ri: Formación radicular inicial con bordes divergentes
	Cco: Coalescencia de cúspides		R 1/4: Longitud de la raíz menor que longitud de la corona
	Coc: Cúspide completa		R 1/2: Longitud de la raíz igual a la longitud de la corona
	Cr 1/2: Mitad de corona completa con formación de dentina		R 3/4: Tres cuartos de longitud de la raíz desarrollados con extremos divergentes
	Cr 3/4: Tres cuartos de corona completa		Rc: longitud de la raíz completa con extremos paralelos
	Crc: Corona completa con techo de cámara pulpar definido		A 1/2: Ápice cerrado (extremos de la raíz convergentes) con amplio LPD
			Ac: Ápice cerrado con ancho normal de LPD

Descripción de los estadios de Moorrees (1963) utilizados para identificar los estadios de desarrollo dentario de un diente multiradicular

	Ci: Formación inicial de cúspide		
	Cco: Coalescencia de cúspides		R 1/4: Longitud de la raíz menor que longitud de la corona con área de bifurcación visible
	Coc: Cúspide completa		R 1/2: Longitud de la raíz igual a la longitud de la corona
	Cr 1/2: Mitad de corona completa con formación de dentina		R 3/4: Tres cuartos de longitud de la raíz desarrollados con extremos divergentes
	Cr 3/4: Tres cuartos de corona completa		Rc: longitud de la raíz completa con extremos paralelos
	Crc: Corona completa con techo de cámara pulpar definido		A 1/2: Ápice cerrado (extremos de la raíz convergentes) con amplio LPD
	Ri: Formación radicular inicial con bordes divergentes		Ac: Ápice cerrado con ancho normal de LPD

Descripción de los estadios de Moorrees (1963) utilizados para identificar reabsorción radicular en dientes uni- y multiradiculares

	Ac: Ápice cerrado con ancho normal de LPD	
	Res 1/4: Reabsorción del cuarto apical de la raíz	
	Res 1/2: Reabsorción de la mitad de la raíz	
	Res 3/4: Reabsorción de tres cuartos de la raíz	

Descripción de los estadios de Bengston utilizados para identificar erupción dentaria

	Posición 1: Cuando la superficie oclusal o incisal está completamente cubierta por hueso	
	Posición 2: Cuando la superficie oclusal o incisal atraviesa la cresta de hueso alveolar	
	Posición 3: Cuando la superficie oclusal o incisal se encuentra a mitad de camino entre el hueso alveolar y el plano gingival	
	Posición 4: Cuando la superficie oclusal o incisal alcanza en el plano oclusal	

Figura 2: Descripció dels estadis del desenvolupament dental. S'indica una breu descripció dels diferents estadis de la formació dental amb el període de temps del seu desenvolupament i erupció, tant de la dentadura temporal com la dentadura permanent, utilitzats per la seva identificació. Font: "(No Title)." [Online]. Available: https://www.qmul.ac.uk/dentistry/media/dentistry/images/atlas/spanish/atlas_of_tooth_development_in_Spanish.pdf. [Accessed: 1-May-2021].

Combined Methods

Ubelaker

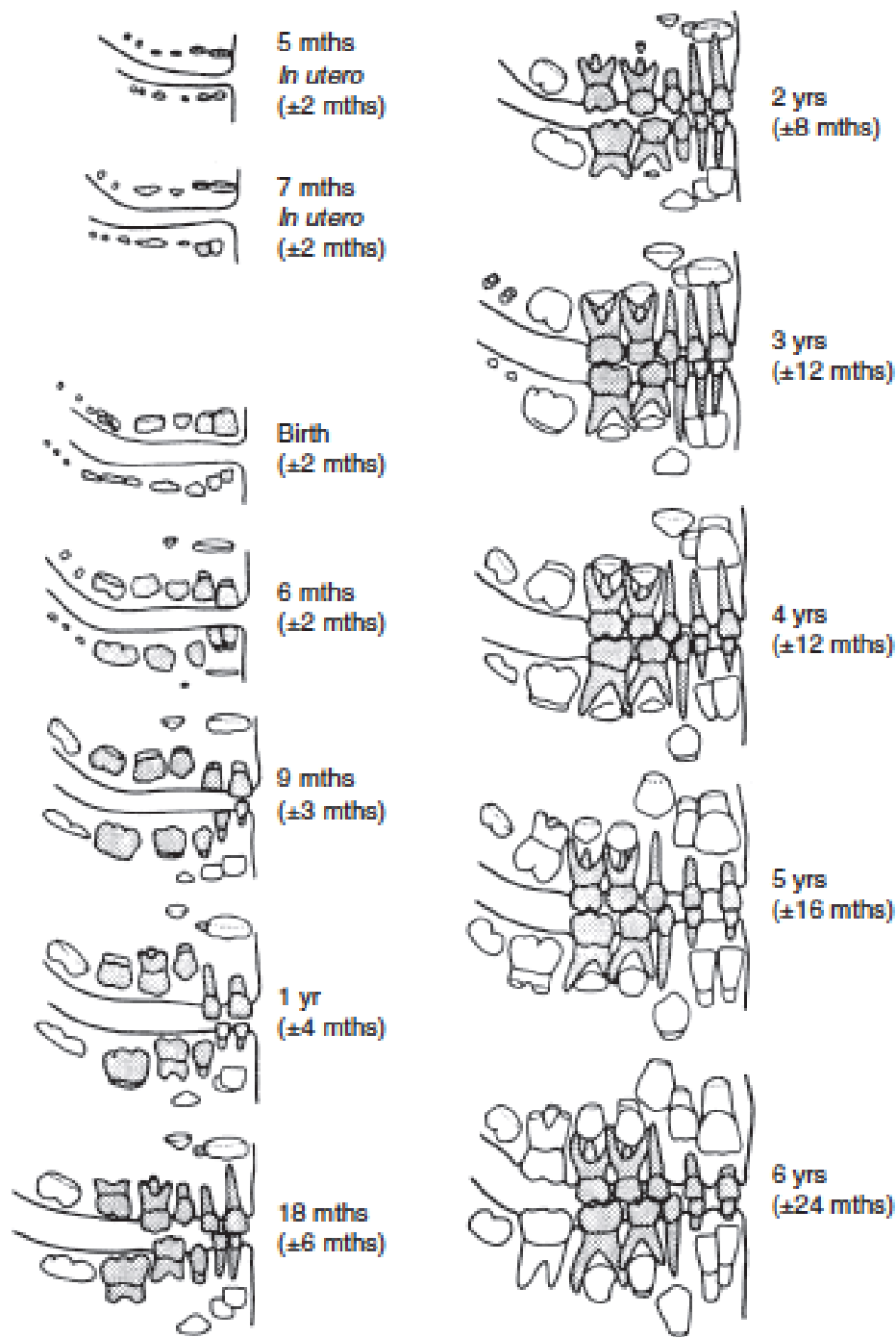
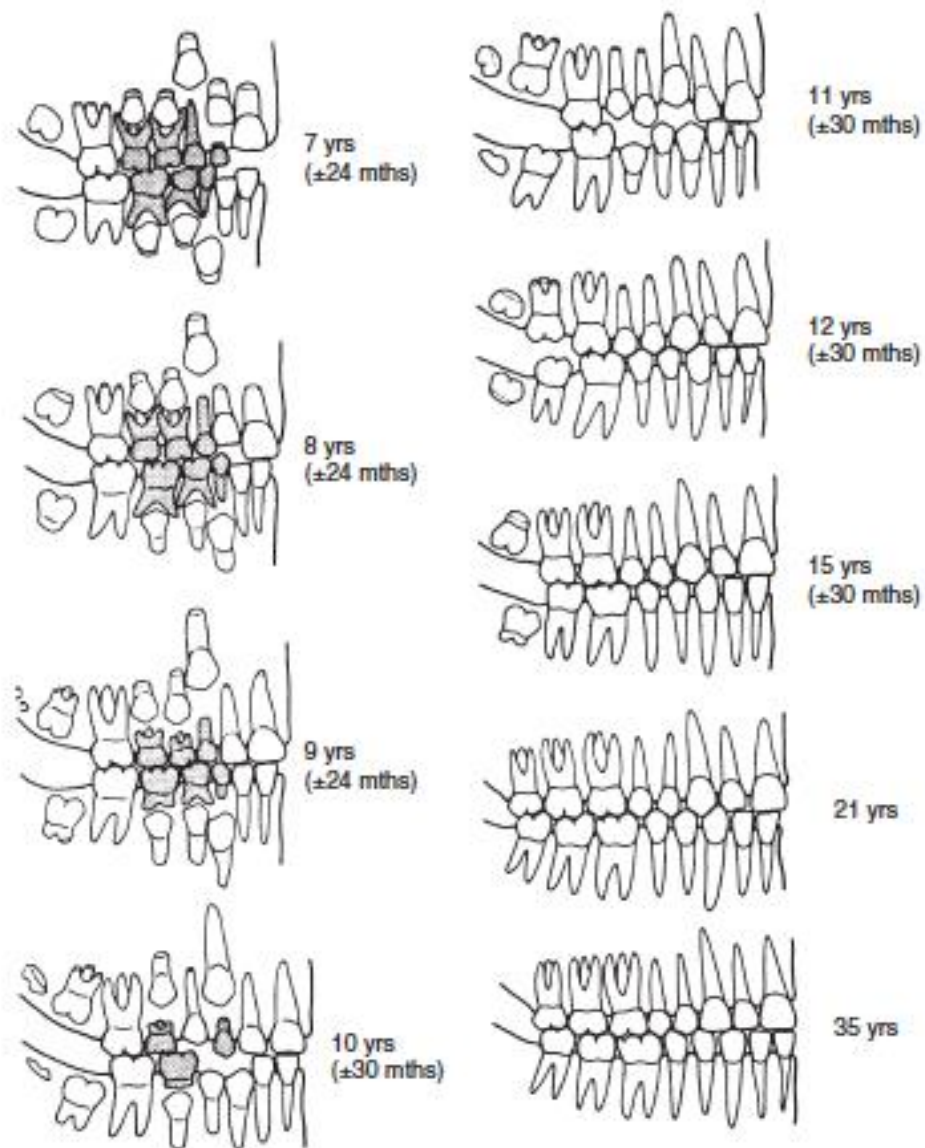


Figura 3: Període de formació i erupció de la dentadura temporal. S'indica el temps de formació a partir dels 5 mesos a l'úter de la mare, fins als 6 anys després de néixer, on ha finalitzat l'erupció de la dentadura temporal del individu. *Font: Ubelaker, D.H. (1979). Human Skeletal Remains: Excavation, Analysis and Interpretation. Washington, DC: Smithsonian Institution Press.*



Development of the teeth from 5 months *in utero* to 35 years

Figura 4: Substitució de la dentadura temporal per la dentadura permanent. S'indica el període de temps on esdevé el canvi de la dentadura temporal per la permanent, des dels 7 anys fins als 35 anys, on ja ha finalitzat el procés. Font: Ubelaker, D.H. (1979). *Human Skeletal Remains: Excavation, Analysis and Interpretation*. Washington, DC: Smithsonian Institute Press.

Annex C. Classificació i identificació de dents temporals i permanents.

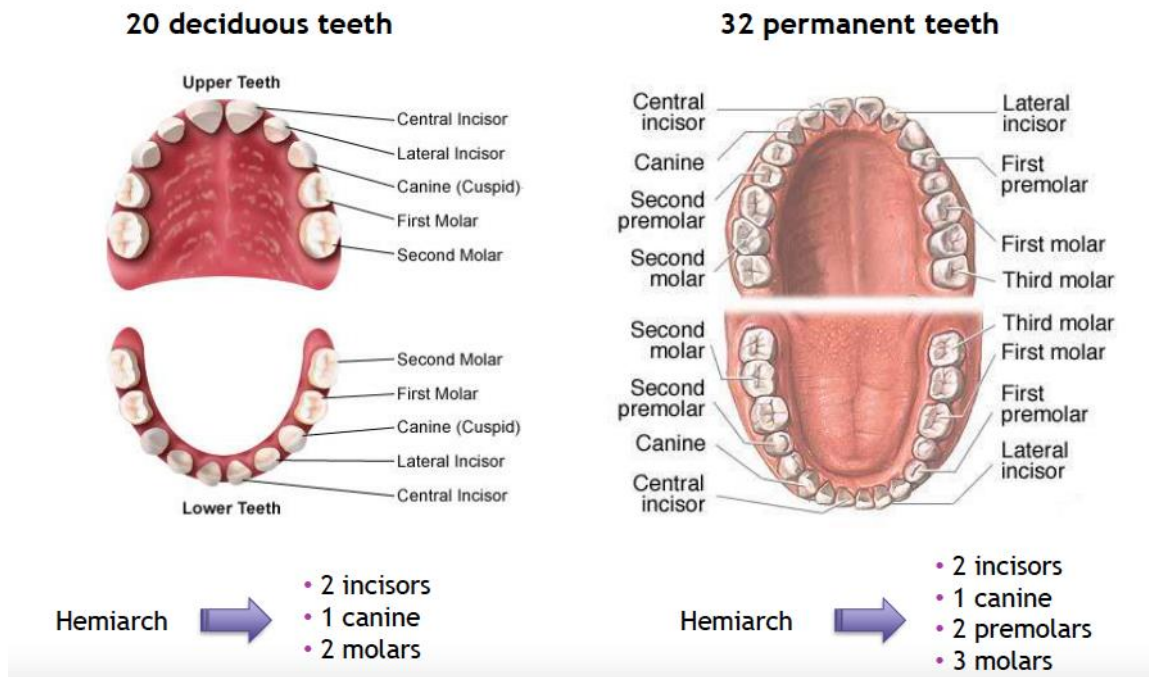


Figura 5. Classificació de les dents temporals (esquerra) i de les dents permanents (dreta) d'un individu. S'indica el número de peces dentals (incisives, canines, premolars i molars) per cada hemisferi de la mandíbula superior i inferior. *Font: "Human Osteology | ScienceDirect." [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/book/9780123741349/human-osteology>. [Accessed: 27-May-2021].*

Skull - Dentition



FDI notation system

Permanent Teeth															
Upper Right								Upper Left							
18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38
Lower Right								Lower Left							

Primary teeth									
Upper Right					Upper Left				
55	54	53	52	51	61	62	63	64	65
85	84	83	82	81	71	72	73	74	75
Lower Right					Lower Left				

Tens: quadrants

- 1 -> upper right
- 2 -> Upper left
- 3 -> Lower left
- 4 -> Lower right

Units: piece

- 1 -> 1st incisor
- 2 -> 2nd incisor
- 3 -> canine
- 4 -> 1st premolar
- 5 -> 2nd premolar
- 6 -> 1st molar
- 7 -> 2nd molar
- 8 -> 3rd molar

Figura 6: Sistema de classificació de les dents temporals i de les dents permanents segons el codi de la FDI. *Font: "Human Osteology | ScienceDirect." [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/book/9780123741349/human-osteology>. [Accessed: 27-May-2021].*

INCISORS

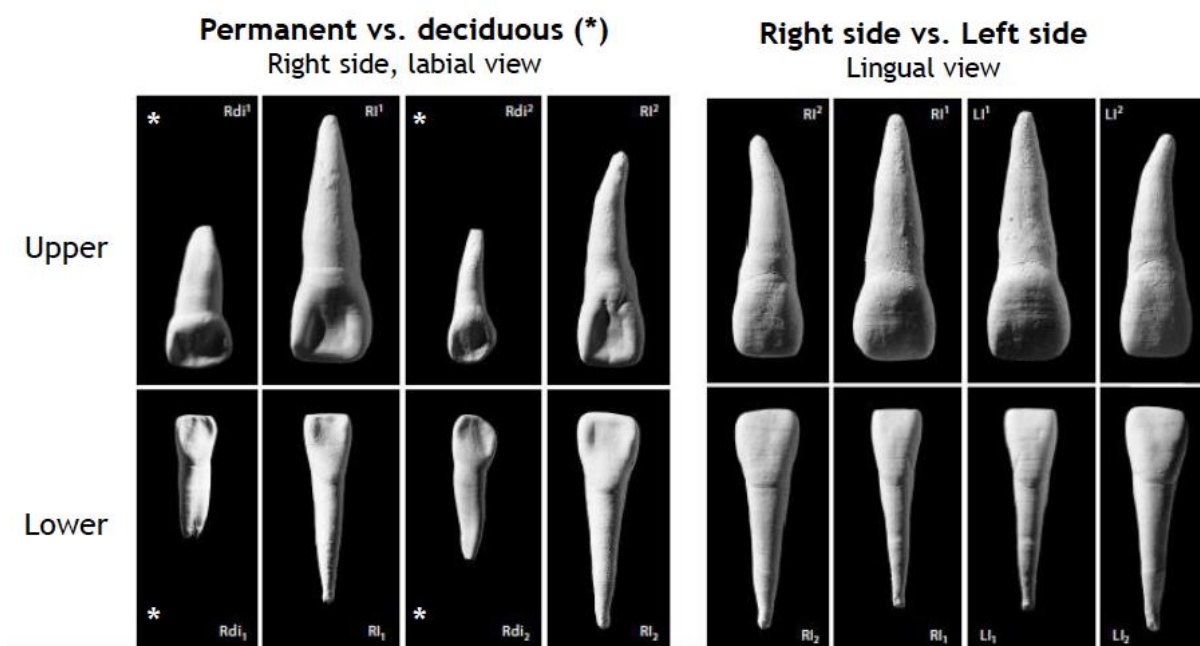


Figura 7: Visualització des de totes les perspectives de les dents incisives permanents i temporals, tant superiors com inferiors. Font: “Human Osteology | ScienceDirect.” [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/book/9780123741349/human-osteology>. [Accessed: 27-May-2021].

CANINES

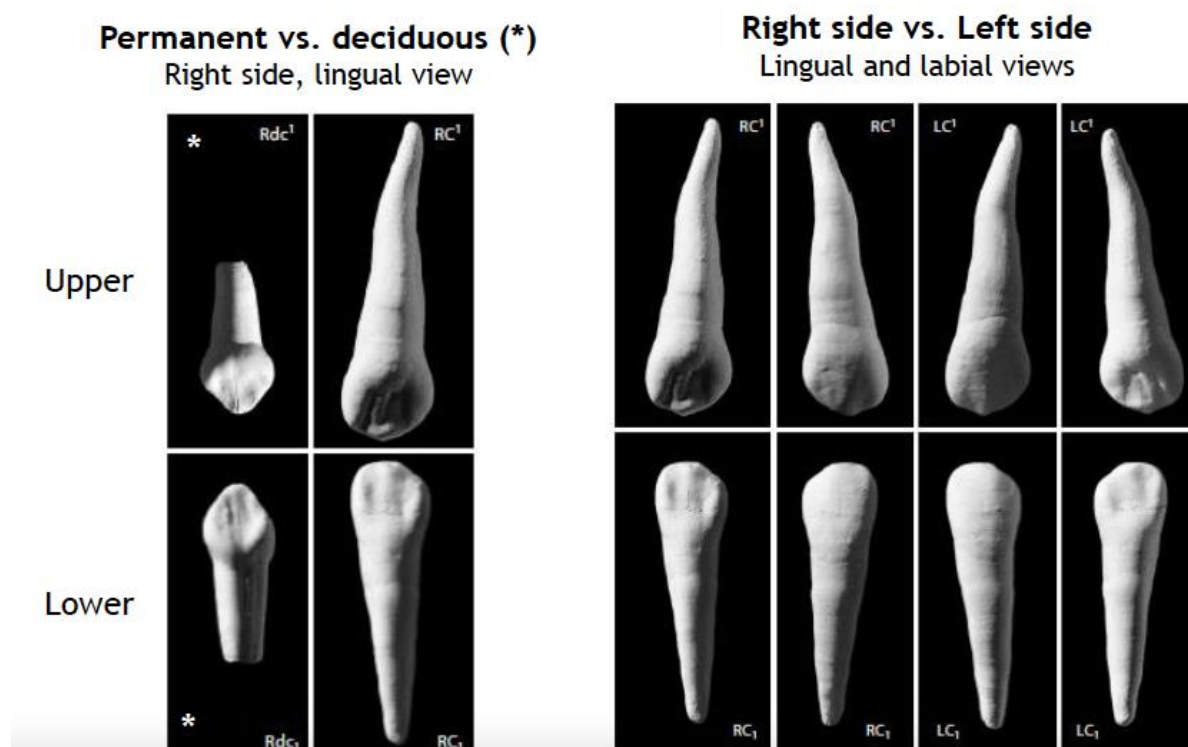
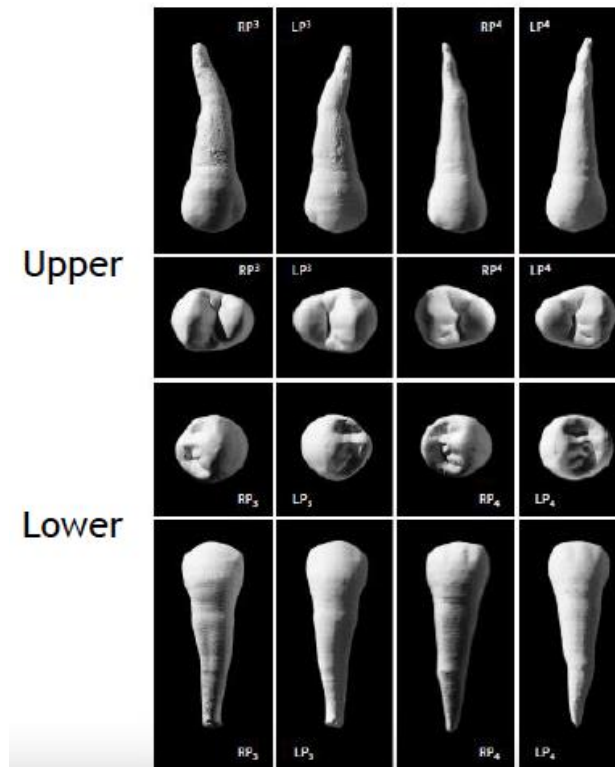


Figura 8: Visualització des de totes les perspectives de les dents canines, permanents i temporals, tant superiors com inferiors. Font: “Human Osteology | ScienceDirect.” [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/book/9780123741349/human-osteology>. [Accessed: 27-May-2021].

PREMOLARS

Right side vs. Left side
Buccal and occlusal views



Right side, buccal, mesial and occlusal view

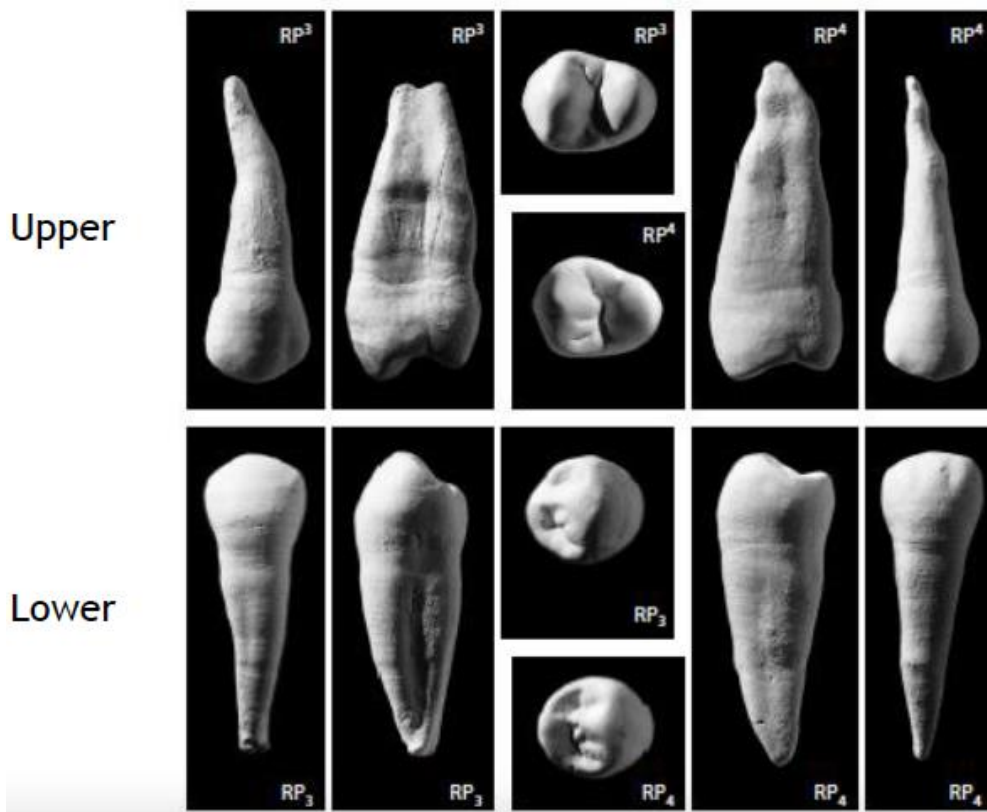


Figura 9: Visualització des de totes les perspectives de les dents premolars, superiors i inferiors. Font: "Human Osteology | ScienceDirect." [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/book/9780123741349/human-osteology>. [Accessed: 27-May-

MOLARS

Right side vs. Left side
Mesial, buccal and occlusal views

Permanent vs. deciduous (*)
Right side, buccal and occlusal view

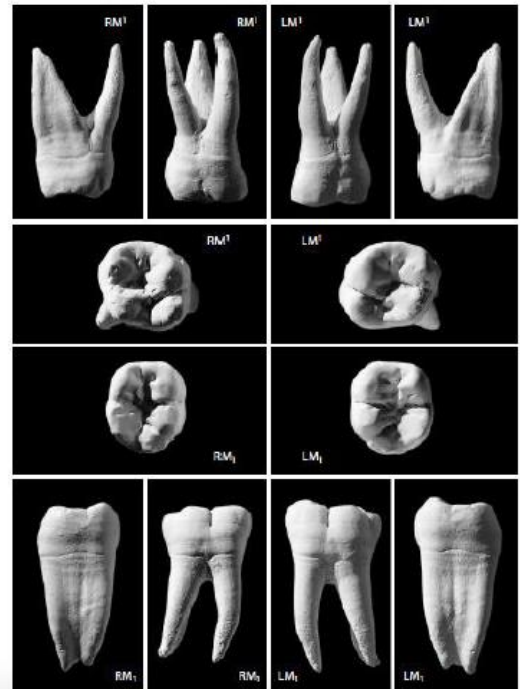
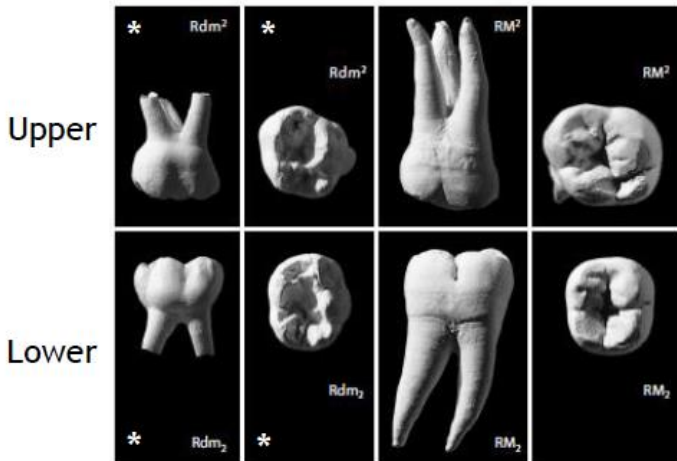


Figura 10: Comparació dels molars permanents i temporals (esquerra) i entre els molars de la part esquerra i de la part dreta de la mandíbula. Font: "Human Osteology | ScienceDirect." [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/book/9780123741349/human-osteology>. [Accessed: 27-May-2021].

MOLARS

Right side

M1 vs. M2 vs. M3

Upper

Lower

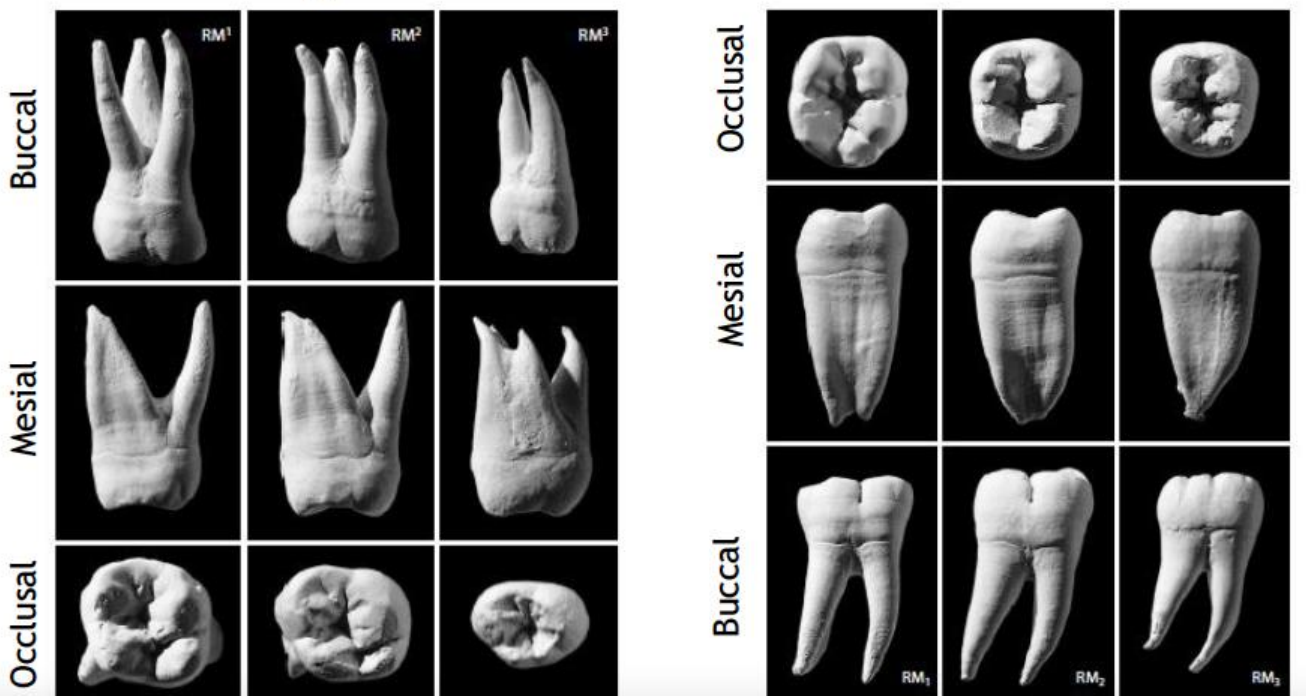


Figura 11: Visualització bucal, mesial i oclusal dels tres tipus de molars tant superiors com inferiors. Font: "Human Osteology | ScienceDirect." [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/book/9780123741349/human-osteology>. [Accessed: 27-May-2021].

Annex D. Anàlisi d'imatge i anàlisi estadístic

1. Fotocomposició amb AutoStitch

- ◇ Obrir el programa (Figura 1A).
- ◇ Clicar a la carpeta blava per seleccionar les imatges que es vulguin processar per realitzar la fotocomposició (Figura 1B) i carregar-les.
- ◇ Esperar uns segons i automàticament apareixerà la fotocomposició de les imatges seleccionades (Figura 1C).

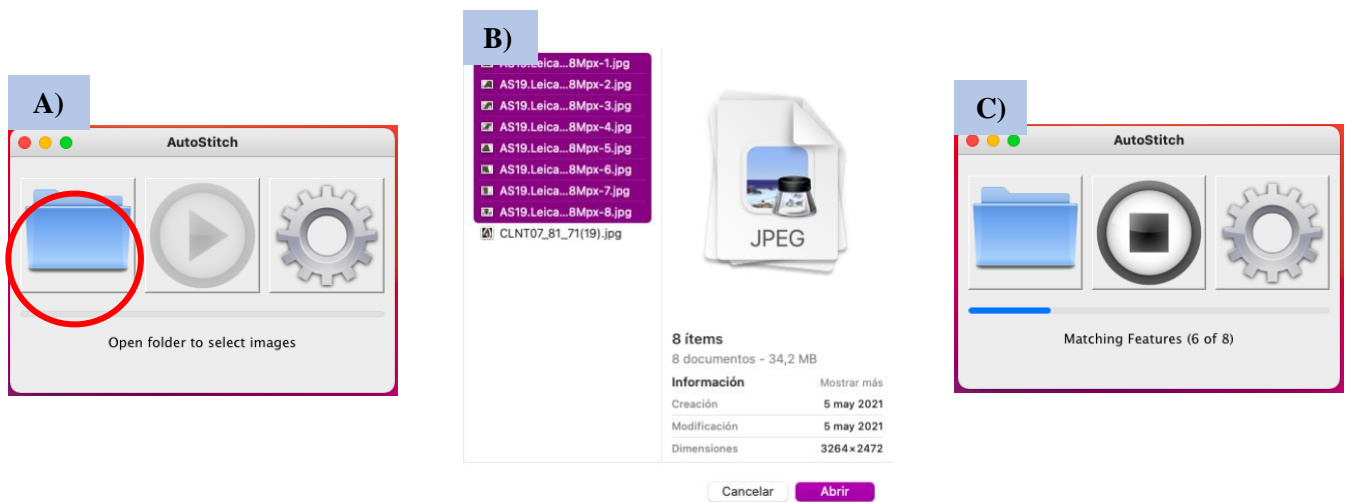


Figura 12. Programa AutoStitch. A) El cercle vermell indica la carpeta blava que s'ha d'obrir per seleccionar i carregar les imatges al programa. B) Selecció de les imatges. C) Processament de la fotocomposició.

2. Anàlisi amb ImageJ

- ◇ Obrir el programa ImageJ i carregar la imatge que es vol processar (Figura 2): **File** → **Open...**
- ◇ Seleccionar l'eina per mesurar la distància de l'escala (eina que s'indica en vermell a la Figura 3) i realitzar el dibuix de la línia sobre l'escala.
- ◇ **Analyze** → **Set scale**: s'obrirà una finestra com la que es veu a la Figura 3B on s'ha d'introduir el valor de la distància de l'escala (100 μm , en aquest exemple) i l'unitat de mesura (μm).
- ◇ Seleccionar l'eina per pintar i resseguir les línies de creixement (Figura 4A) i mesurar la distància tal com s'indica en la Figura 4B.
- ◇ **Analyze** → **Mesure**: s'obrirà una finestra com la que es veu a la Figura 4C amb els resultats de la mesura realitzada.
- ◇ Repetir el procés en els diferents llocs de la imatge i fer el mateix per les altres imatges de diferents zones de la mateixa dent.

- ◇ Mesurar la distància del prisma sencer allà on finalitza la NNL tal com s'indica en la Figura 5 i guardar les dades amb format .csv (**File** → **Save As...**).

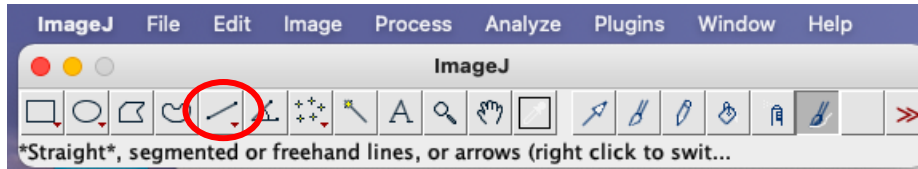


Figura 13. Barra d'eines de l'ImageJ. El cercle vermell indica els passos que s'han de seguir per obrir la imatge (**File** → **Open...**).



Figura 14. Barra d'eines de l'ImageJ. A) El cercle vermell indica l'eina per realitzar la mesura de l'escala. B) Finestra Set Scale on s'han d'introduir els valors de la distància coneguda i la unitat de mesura.

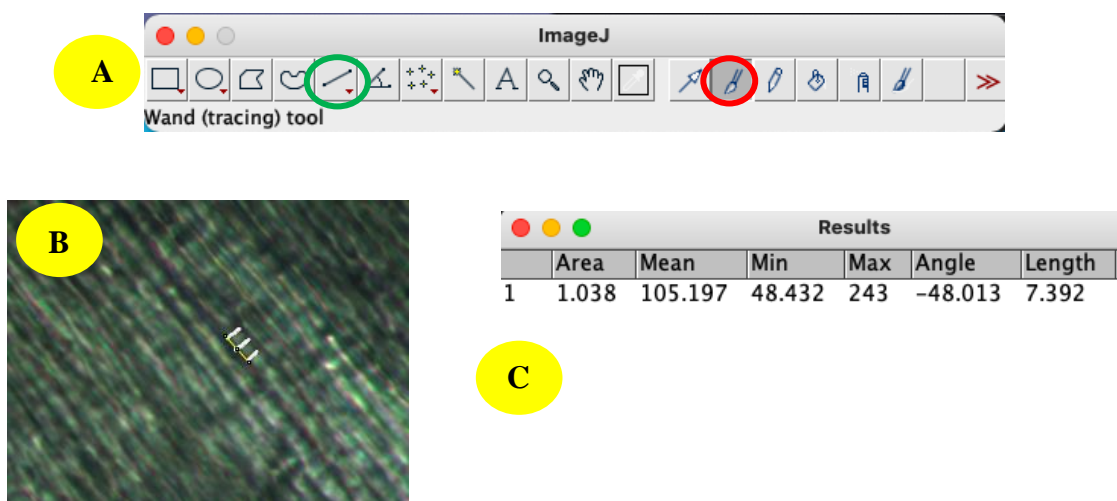


Figura 15. Barra d'eines de l'ImageJ. A) El cercle vermell indica l'eina per pintar i resseguir les línies de creixement i tenir de referència per fer la mesura. El cercle verd indica l'eina per mesurar la distància entre les línies prèviament resseguides. B) Exemple de mesura. C) Finestra que s'obri amb els resultats (àrea, mitjana, mínim, màxim, angle i la llargada total dels creixements).

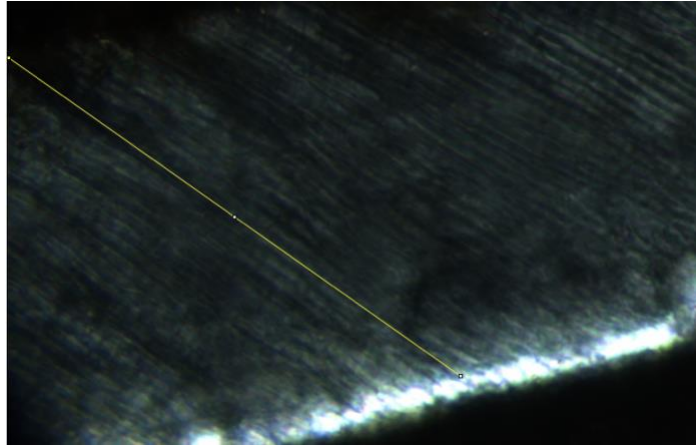


Figura 16. Mesura de la distància del prisma sencer.

3. Anàlisi dels resultats amb [Jamovi](#)

- ◇ Carregar el fitxer amb la base de dades creada prèviament amb les dades que és vulguin analitzar, amb el format .csv.
- ◇ Fer doble clic sobre el títol de cada variable per assignar a les variables categòriques (individu i tipus de dent) com a dades del tipus nominal i les variables contínues (DSR) com a dades del tipus continu.

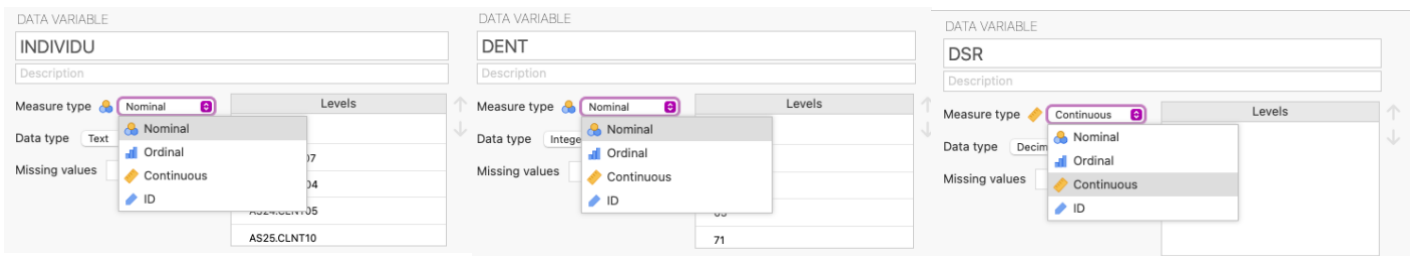


Figura 17. Finestra del Jamovi per assignar les variables categòriques i contínues al format de dades correcte.

- ◇ Analitzar la distribució de les dades: **Analyses** → **Exploration** → **Descriptives**.
- ◇ Posar les variables contínues (DSR) i les variables categòriques (individu o tipus de dent) corresponents per fer l'estudi, tal com s'indica en la Figura 18 i automàticament, apareixerà a la dreta de la pantalla la descripció de les dades (mitjana, mediana, nombre de dades, desviació estàndard, màxim, mínim, etc.).

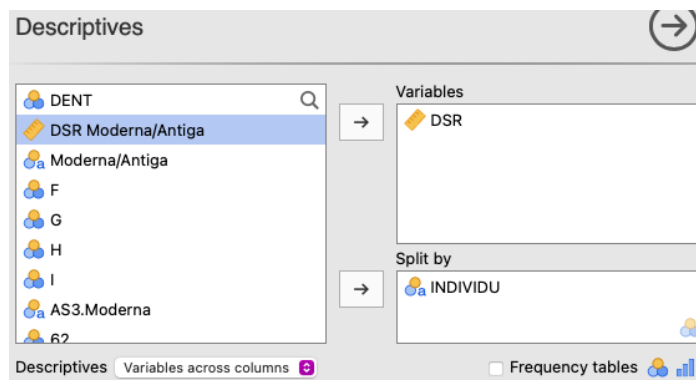


Figura 18. Seleccionar les variables contínues i les variables categòriques per fer l'estudi.

- ◇ Anar a la barra de plots i seleccionar la casella de box plot (Figura 19).

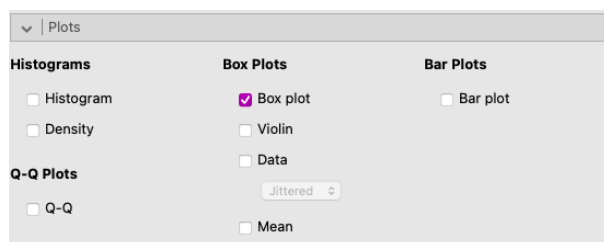


Figura 19. Marcar l'opció de Box plot per a que aparegui amb la distribució de les dades.

- ◇ Per fer l'estudi ANOVA i comparar les mitjana de més de 2 grups anar a: **ANOVA → One-Way ANOVA** i introduir les variables dependents i independents sobre les quals es vulgui fer l'estudi.
- ◇ Seleccionar el test de normalitat per mirar si les dades segueixen una distribució normal i el test d'homogeneïtat per mirar si les variàncies són iguals o no (Figura 20). Això determinarà el tipus de test (Welch's test en cas que les variàncies siguin diferents o Fisher's en cas que les variàncies siguin iguals).

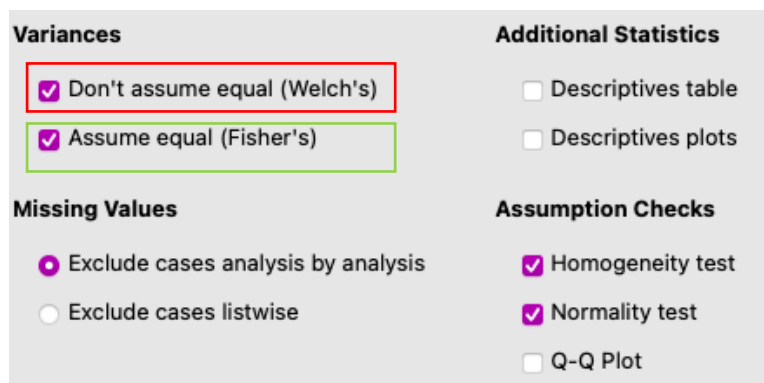
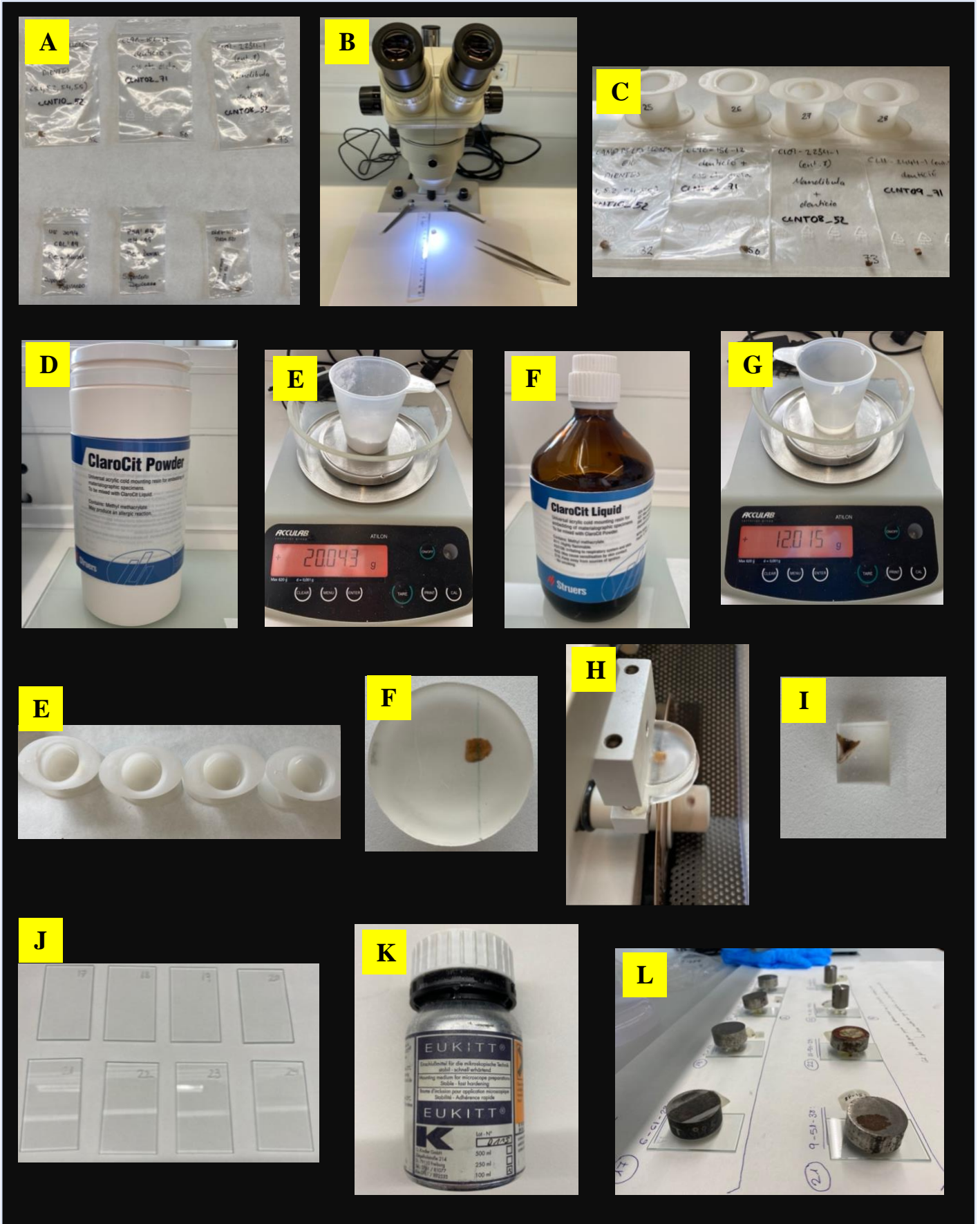


Figura 20. Seleccionar el test de normalitat i d'homogeneïtat per mirar si les dades segueixen una distribució normal i presenten diferències en quant a les variàncies. Si les variàncies són iguals, seleccionar el test de Fisher's (verd). Si són diferents, seleccionar el test de Welch's (vermell).

Annex E. Metodologia

1. Procés d'obtenció de làmines histològiques



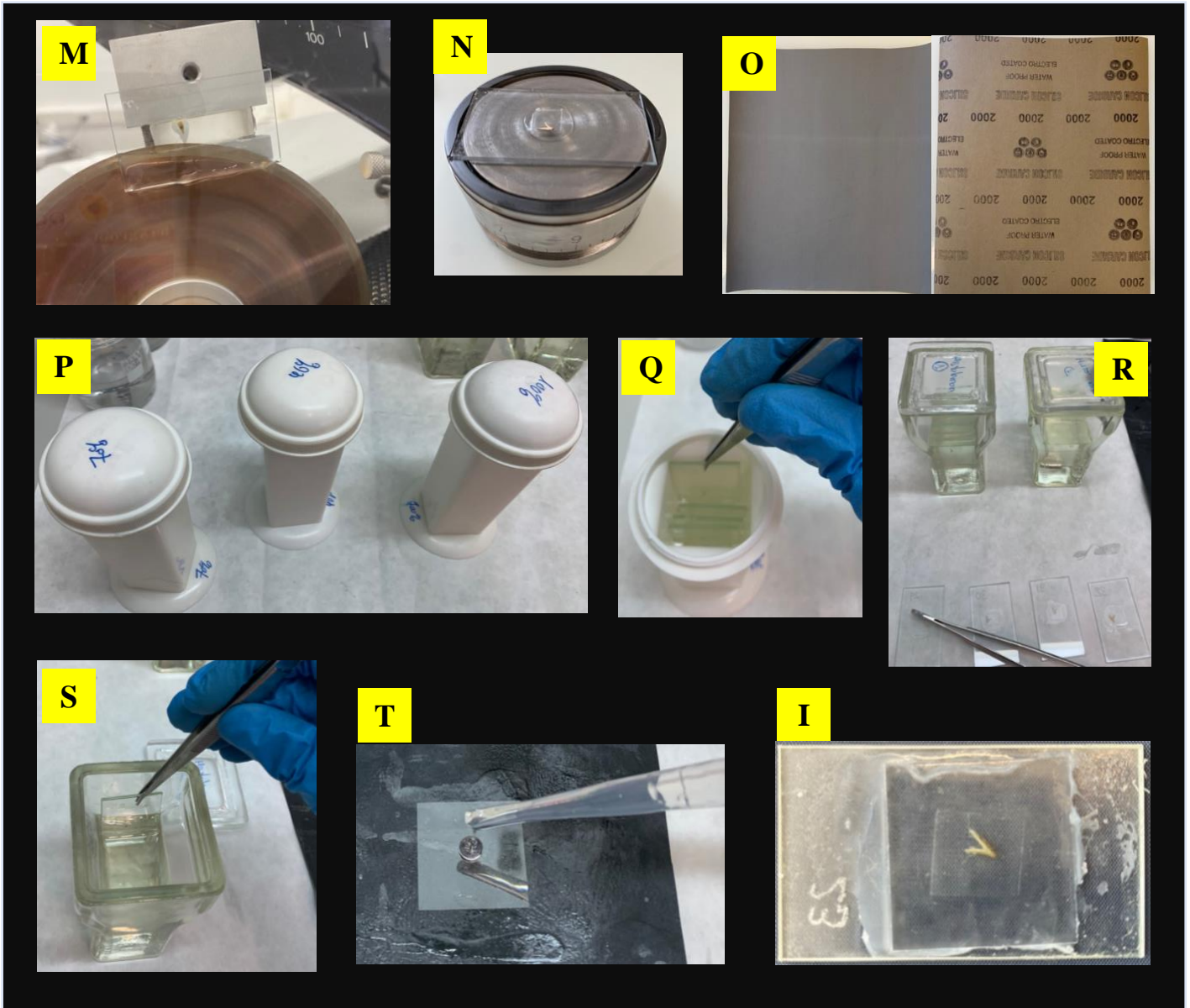
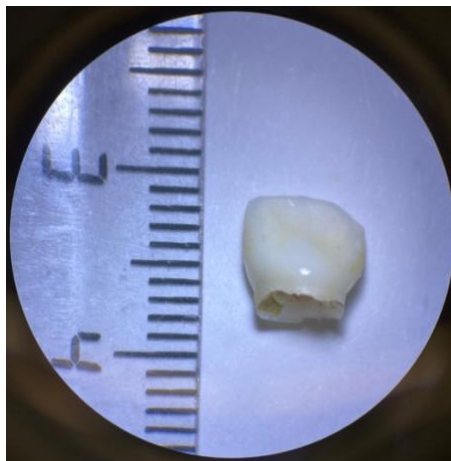


Figura 21: Procés de preparació de les làmines histològiques. A-C: identificació i classificació de les peces dentals. D-G: preparació de la resina en pes. E: procés d'inclusió de les mostres. F: dibuix de la línia longitudinal per tenir com a referència per fer el tall de la peça sobre el seu pla labiolingual. H-I: realització del primer tall. J: numeració dels portaobjectes. K: cola amb polibutil metacrilat (EUKITT®). L: enganxament de les mostres amb la cola sobre el portaobjectes. M: realització del tall final de la mostra amb un gruix d'entre 130-120 μm . N-O: procés de polit per obtenir el gruix desitjat de 100 μm . P-Q: deshidratació de la mostra a raons creixents d'etanol (70% \rightarrow 96% \rightarrow 100%). R-S: immersió amb el fixador histològic Histolemon per fixar la mostra. T: muntatge amb el medi DPX per poder visualitzar la microestructura de la dent. I: làmina prima final obtinguda després de realitzar tot el procediment.

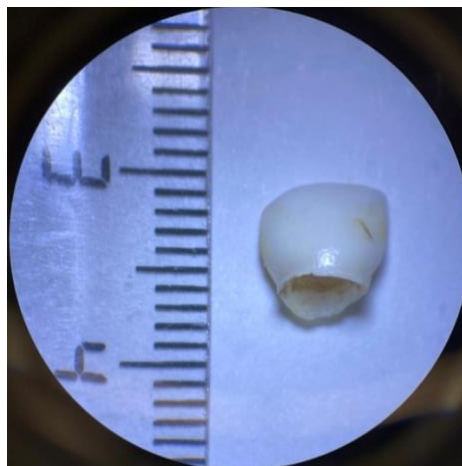
Annex F. Identificació i classificació de les dents modernes i arqueològiques

1. Dents modernes provinents d'infants actuals.

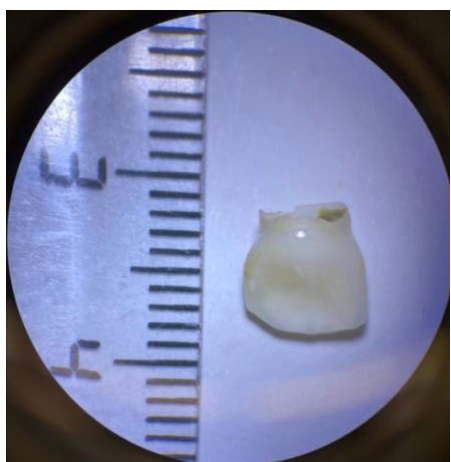
ID: AS3.Moderna_62 (Incisiva lateral superior esquerra)



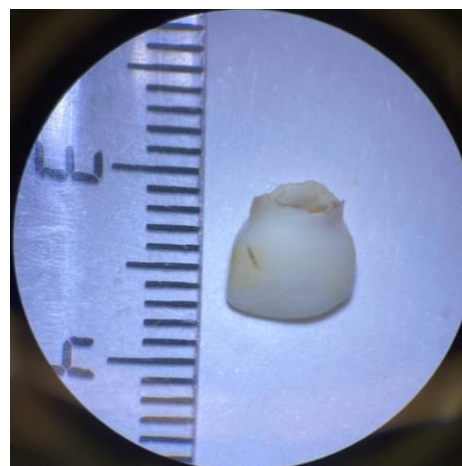
Visió lingual.



Visió vestibular invertida.



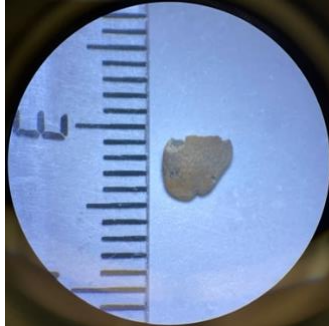
Visió lingual.



Visió vestibular.

2. Castell de Besora

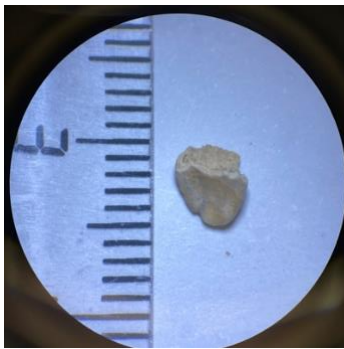
ID: AS7.CB_63 (Canina superior esquerra)



Visió vestibular.



Visió vestibular.



Visió lingual.

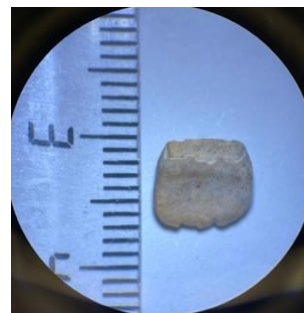


Visió lingual.

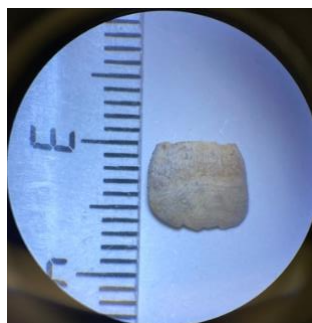
ID: AS10.CB_51 (Incisiva superior central dreta)



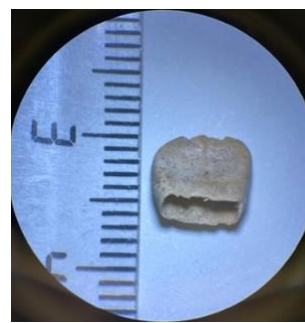
Visió vestibular.



Visió lingual.



Visió vestibular.



Visió lingual.

3. Camp de les Lloses

ID: AS19.CLNT07_81 (Incisiva inferior central esquerra o dreta)

No es va poder fer el registre fotogràfic.

ID: AS23.CLNT04_81 (Incisiva inferior central dreta)



Visió vestibular.



Visió lingual.



Vist des de d'alt.

ID: AS24.CLNT05_62 (Incisiva superior lateral esquerra)



Visió vestibular.



Visió lingual.



Vist des de d'alt.

ID: AS25.CLNT10_52 (Incisiva superior lateral dret)



Visió vestibular.



Visió lingual.



Vist des de d'alt.

ID: AS26.CLNT02_71 (Incisiva inferior central esquerra)



Visió vestibular.



Visió lingual.



Vist des de d'alt.

ID: AS27.CLNT08_52 (Incisiva superior lateral dret)



Visió lingual.



Visió vestibular.



Vist des de d'alt.

ID: AS28.CLNT09_71 (Incisiva inferior central dret)



Visió vestibular.



Visió lingual.



Vist des de d'alt.

4. Ullastret

ID: PDSA12_62 (Incisiva lateral superior esquerra)



Visió vestibular.



Visió lingual.



Vist des de d'alt.