

74  
L. Gómez

**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO**



**Facultad de Química**

**“Efecto del Cloruro de Lantano en la  
Solubilidad del Esmalte Dentario”**

**T E S I S**

**Que para obtener el Título de  
Químico Farmacéutico Biólogo**

**P r e s e n t a**

**Rosalinda Mota Pineda**



**1 9 8 5**



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

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

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

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

## I N D I C E

### INTRODUCCION

### GENERALIDADES

1. Bosquejo histórico.
2. Características del esmalte dentario.
3. Composición químico-microbiológica de la placa dental y teoría sobre la caries.
4. Fosfatos e hidroxiapatita.
5. Influencia del pH en la solubilidad de la hidroxiapatita.
6. Influencia de iones extraños en hidroxiapatita.
7. Lantánidos.
8. Importancia del cloruro de lantano en esmalte dentario.

### PARTE EXPERIMENTAL

1. Metodología.
2. Equipo y material.
3. Reactivos.
4. Determinación de calcio.
5. Determinación de fósforo.

### RESULTADOS EXPERIMENTALES

### CONCLUSIONES

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

## \* I N T R O D U C C I O N \*

La caries dental, una de las enfermedades más importantes por su alta incidencia y distribución, por su carácter crónico y alto costo económico en cuanto a su atención en el humano, es un magnífico modelo de relación huésped-parásito. Es dependiente de un gran número de factores específicos e inespecíficos operativos - en el "Universo" de la cavidad oral.

La caries dental es un padecimiento anatómicamente específico -- que se caracteriza por la destrucción del tejido dentario en áreas localizadas; hay una desaparición del tejido, produciéndose un hueco rodeado de tejido aparentemente sano, lo cual da origen a su nombre: CARIES (7).

Todas las teorías de la formación de la caries concuerdan en que el padecimiento involucra una disolución del esmalte dentario, - es decir interviene la solubilidad de éste.

El objetivo del presente trabajo es observar la influencia de diversos factores en la solubilidad del esmalte dentario, primordialmente la acción del cloruro de lantano; para lo cual, inicialmente se estudia la solubilidad del esmalte, simulando un proceso de caries "In-vitro" y determinando su velocidad de disolución al tratarlo con cloruro de lantano. Se determina la concentración de cloruro de lantano y el tiempo de exposición óptimos a emplear en el tratamiento.

El cloruro de lantano se estudia comparativamente con el fluoruro de sodio que ha sido la sustancia empleada inicialmente para la prevención de la caries.

## GENERALIDADES

### 1. BOSQUEJO HISTORICO.

Una de las descripciones más antiguas de la composición de tejidos mineralizados fué hecha por Empédocles de Akragas (492 - 432 aC.), fundador de la escuela Siciliana de Medicina, quien escribió que el tejido mineralizado consistía de dos partes de agua, cuatro de fuego y dos a ocho partes de tierra.

Más tarde Aristóteles (384 - 322 aC.), el filósofo y educador griego, postuló que el hueso era tres partes de fuego y dos partes de tierra, (28).

En 1770 C.W. Scheele descubre la presencia de tierra calcárea ( $\text{CaCO}_3$ ) y una sustancia desconocida mezclada con cal ( $\text{CaO}$ ) en los cuernos de ciervo.

J. G. Gahn, basándose en la información, encuentra que la sustancia desconocida era el ácido fosfórico, así ambos comparten el mérito por el descubrimiento de que el fosfato de calcio es el principal constituyente del hueso.

Por 1799 Hatchett (1756 - 1847) fué capaz de demostrar que las tres diferentes estructuras del colmillo de elefante estaban formadas de cal ( $\text{CaO}$ ) y ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) y las diferencias eran debidas probablemente a pequeños cambios en las proporciones de sus constituyentes principales y a diferentes tipos de cristalización.

Hatchett también reportó que las cáscaras de huevo y los huesos de animales marinos, estaban constituidos por carbonato de calcio.

En 1803 W.H. Pepys Jr. reportó el primer análisis cuantitativo del esmalte de diente humano en "La historia natural del diente humano", en su análisis obtuvo 78% de fosfato de calcio, 6%

de carbonato de calcio y 16% de pérdida al secado, que se supuso era principalmente agua.

Años más tarde, a mediados del siglo XIX, los químicos analistas encontraron que el diente estaba constituido principalmente de fosfato de calcio, con cantidades más pequeñas de fosfato de magnesio, carbonato de calcio, carbonato de sodio, o -- tras sales, agua y materia orgánica.

Los dientes pueden ser definidos como estructuras individuales que consisten de una delgada capa de esmalte, una gruesa capa de dentina y una pulpa interna.

El esmalte dentario es material inorgánico casi en su totalidad, es extremadamente duro y sin vida.

La dentina es muy parecida al hueso tanto en su composición -- orgánica como inorgánica y contiene fibras protoplásmicas de materia viva.

A fines del siglo pasado, Tomes reportó un promedio de 72.5% de sales de calcio en dentina; los dientes cariados tenían 1% menos de sales de calcio; los molares y bicúspides estaban -- más calcificados que los incisivos y caninos: 73.2% contra -- 71.5%.

Estudios más recientes muestran que los incisivos poseen 30% de esmalte, el cual se incrementa gradualmente desde los cani nos hasta los molares, los que contienen 40% de esmalte.

Después del primer cuarto de este siglo Armstrong e investiga dores decidieron que era necesario un estudio más detallado -- del análisis del esmalte y la dentina por métodos más moder-- nos para comprender el proceso de calcificación; concluyeron que la fase mineral del esmalte y de la dentina no eran idénticas; que la composición en cuanto a elementos era casi --- igual en dientes sanos y cariados, variando únicamente las -- proporciones.

Contrariamente a Armstrong, en el año siguiente, French y colaboradores encontraron que la proporción promedio de calcio/fosfato para dentina era la misma que para esmalte y para el mineral hidroxapatita. Encontraron que la dentina y esmalte estaban constituidos principalmente por partículas de hidroxapatita con carbonatos y otras sales absorbidas ó cristalizadas intersticialmente.

## 2. CARACTERISTICAS DEL ESMALTE DENTARIO.

La dentición del hombre, como la de la mayoría de los mamíferos es heterogénea ya que tiene dos ó más tipos de dientes. - Por tener un grupo incompleto de dientes temporales, y un segundo grupo completo de dientes permanentes es también un hemidifiodonto.

El desarrollo del diente humano es un proceso fisicoquímico - dinámico y complejo que se inicia aproximadamente entre la sexta y séptima semana de vida intrauterina.

Cada diente se desarrolla a partir de un germen dental, el cual se deriva de dos tejidos embrionarios: ectodermo y mesodermo. Los gérmenes de los dientes permanentes y temporales - sufren cambios químicos y estructurales similares, aunque la diferenciación morfológica es específica para cada diente (28) La formación de tejidos dentales duros empieza aproximadamente a las veinte semanas de vida intrauterina.

El esmalte dental se forma del órgano dental epitelial u órgano del esmalte, que deriva del epitelio ectodérmico que cubre la cavidad oral.

La dentina y pulpa se forman de la papila dental que se deriva del mesénquima. El mesodermo es un tejido embrionario no especializado que es el que da origen a todos los tejidos conectivos.

En la dentina, los odontoblastos yacen en una capa cercana a la pared interior en la cavidad pulpar, que también contiene tejido conectivo, vasos sanguíneos y nervios.

La dureza de dientes humanos, sanos, recientemente extraídos da un promedio general de  $343 \pm 23 \text{ Kg/mm}^2$  para el esmalte y  $68 \pm 3 \text{ Kg/mm}^2$  para la dentina. No se ha encontrado una diferencia bien marcada en la dureza del esmalte desde la unión dentina-esmalte hacia la superficie exterior o desde la corona hasta el margen cervical.

La dentina no muestra cambio en la dureza de una área hacia otra.

La dureza también ha sido relacionada con el contenido local de calcio y puede emplearse como indicador de una mineralización, desmineralización ó remineralización.

La disminución de dureza en el esmalte cariado, indica que los cristallitos de hidroxapatita densamente empacados, probablemente han sido afectados por la disolución ácida ó que ha ocurrido una transformación parcial de la materia normal calcificada en una de composición similar pero con propiedades físicas diferentes.

Un diente no presenta una estequiometría química constante y única; ha sido formado y constituido por la bioquímica y genética de un individuo único y por lo tanto será tan variado como la naturaleza lo permita.

Para pensar en la composición de un diente es necesario tener en mente los siguientes factores que se consideran determinantes:

La condición del diente, su posición en la boca, así como la salud del individuo, la dieta, edad y ubicación geográfica.

El esmalte es la sustancia biológica más dura que se conoce y sirve como vaina protectora a la corona del diente. No tiene poder regenerativo ya que cuando es perforado por la caries ó fracturado debe ser reparado mecánicamente.

El endurecimiento extremo del esmalte lo hace frágil, por lo tanto propenso a la fractura cuando no es apoyado por la dentina.

Se considera que el 95% del peso del esmalte corresponde a hidroxiapatita y la materia orgánica y agua representan el 5% restante.

La unidad estructural del esmalte es conocida como un vástago o prisma, el cual en sección transversal tiene la forma del ojo de una cerradura y tiene alrededor de cinco micras de diámetro. El prisma se extiende desde la dentina hasta la superficie externa del diente y su trayectoria toma diversas direcciones.

### 3. COMPOSICION QUIMICO-MICROBIOLOGICA DE LA PLACA DENTAL Y TEORIA SOBRE LA CARIES.

Patológicamente la caries comienza como una desmineralización superficial del esmalte, la cual progresa a lo largo del curso radial de los prismas del esmalte y llega a la unión dentina-esmalte; en esta unión, la caries se extiende lateralmente y hacia el punto de la dentina subyacente, asume una configuración cónica con el ápice hacia la pulpa.

Los túbulos dentinales quedan infiltrados de bacterias y se dilatan a expensas de la matriz interyacente. Una mayor de--sintegración disminuye las cúspides y tejido sano, con lo --cual se producen fracturas secundarias y ensanchamiento de la

cavidad. Si no se atiende la caries, finalmente se extiende a la pulpa y destruye la vitalidad del diente.

Se han propuesto varias teorías para explicar el mecanismo de la caries; algunas mantienen que surge del interior del diente, otras que tiene su origen fuera de él.

Otros autores sostienen que la caries se debe a defectos estructurales o bioquímicos del diente o también a un ambiente local propicio.

Ciertos investigadores señalan como el punto inicial de ataque a la matriz orgánica, otros consideran que son los prismas o barras inorgánicas.

Algunas de las teorías han tenido amplia aceptación, mientras que otras han sido relegadas; sin embargo, todas las teorías de la formación de caries, concuerdan en que el padecimiento involucra disolución de esmalte dentario.

Evidencias derivadas de estudios morfológicos y biofísicos cuidadosamente controlados, así como estudios bioquímicos exhaustivos llevan a la conclusión de que en el desarrollo de la caries el esmalte mineral se solubiliza antes de que se pierda la matriz .

Han sido propuestos diversos mecanismos para explicar la disolución del esmalte en diferentes medios: neutro, ácido y básico.

Mediciones directas de pH indican que la disolución del esmalte tiene lugar en medio ácido. El ácido está presente en cantidades detectables en todas las etapas y en todas las profundidades de las lesiones de caries. Cuando se mide in situ en estado de reposo el pH con un microelectrodo de antimonio, el promedio que se obtiene es de 5.5 y se observa un retorno constante a la condición ácida aún después de repetidos ajustes en la lesión.

Es probable que el ácido se forme continuamente o que tal vez existe un gran depósito de ácido en el fondo de la lesión, el cual constantemente difunde hacia la superficie.

Los cambios morfológicos van acompañados de alteraciones en la composición química de los tejidos afectados; el esmalte y la dentina cariados contienen más agua, más materia orgánica y menos mineral que el tejido sano en el mismo diente, (28). Las causas de la caries han sido muy discutidas, pero actualmente se admite que es un proceso típicamente bacteriano; es decir, es producido por bacterias desarrolladas en la superficie del diente.

La forma en que se fijan las bacterias al diente en su superficie y cómo es que destruyen el tejido, ha sido motivo de gran interés.

De acuerdo con la teoría de Miller (40), la caries es un padecimiento esencialmente bacteriano, no específico. El ácido es producido por varias de las bacterias de la flora de la placa dental.

En respuesta a un exceso de carbohidratos en el medio oral, se incrementa el número y la proporción de microorganismos acidogénicos y acidúricos en la placa, dando por resultado la formación de ácido suficiente para disolver el diente.

Otra consideración es que la caries es causada porque los microorganismos patógenos que invaden la cavidad oral; al establecerse en cantidad suficiente, producen el ácido que es el que causa el padecimiento.

Durante los años 30s se pensó que los microorganismos que causaban el padecimiento eran Lactobacillus acidophilus. En la última década, se ha propuesto que los agentes infecciosos son cadenas específicas de Streptococcus mutans.

Cuando el esmalte ha sido destruído, los microorganismos son capaces de penetrar al interior de las barras individuales y a la matriz de éste.

En áreas de penetración profunda los microorganismos se encuentran en menor cantidad comparado con el número que hay en las áreas cercanas a la superficie del esmalte.

Los microorganismos del borde inicial de la lesión son esféricos y Gram positivos, mientras que los de la porción final tienen estructura heterogénea. Los microorganismos esféricos son reemplazados por microorganismos en forma de filamento, Gram positivos y negativos, conforme la destrucción del esmalte continúa.

La invasión de la dentina ocurre a través de las fibrillas de odontoblastos, siguiendo con la descalcificación y el ablandamiento de los túbulos. A mayor invasión y producción de ácido, puede ocurrir la descalcificación intertubular de la dentina.

Ciertos estudios sugieren que hay una selección progresiva de flora conforme la lesión avanza, siendo los lactobacilos los miembros de la flora capaces de sobrevivir en las lesiones más profundas donde la acidez es mayor.

Como regla general, las capas más profundas de las lesiones en dentina son estériles y no es hasta etapas posteriores del desarrollo de la caries, que las bacterias entran en la pulpa.

Para que la caries ocurra, el ácido formado durante el rompimiento de carbohidratos por bacterias en la placa dental, debe ser capaz de disolver el esmalte del diente antes de que el flujo continuo de saliva pueda arrastrar el ácido, (40).

Dos condiciones de la placa dental facilitan la disolución del esmalte:

1. La presencia en la placa de un gran número de bacterias que permitan la producción de grandes cantidades de ácido en un corto período de tiempo.
2. Cuando la difusión de materiales a través de la matriz de la placa es relativamente lenta, los ácidos formados en la placa requieren un período largo para difundirse hacia afuera en la saliva, propiciando que el ácido se acumule en la placa.

Cuando el ácido se acumula en la placa, el pH baja y puede ser medido con relativa facilidad con cualquier microelectrodo de vidrio o de antimonio.

La disponibilidad de glucosa o la dieta de carbohidratos determinan la extensión y duración de cambios de pH en la placa.

Se han diseñado experimentos como el que a continuación se describe, para demostrar que cuando la boca es enjuagada con una solución al 10% de glucosa y el pH se mide antes, después y durante una hora de enjuague, parte de la glucosa penetra en la placa, mientras que el resto es diluido y desalojado de la boca por la saliva.

La estancia de la glucosa que penetra a la placa es transitoria y debido a que la velocidad de conversión de ésta en ácido es mayor que la de eliminación del ácido por la saliva, la cantidad de ácido se incrementa rápidamente.

Una vez que la glucosa de la placa es empleada, la concentración de ácido baja lentamente.

Sin embargo, si la cantidad de glucosa se incrementa (aumentan da la concentración de glucosa o el tiempo que la glucosa esté disponible para la placa bacteriana), se obtendrá un pH más ba jo que permanecerá así por mayor tiempo. Un incremento aún ma yor en la cantidad de glucosa producirá una reducción a un ni vel mínimo de pH por un período mayor. La disponibilidad se - define como la cantidad de carbohidrato disponible por unidad de tiempo y es el producto de la concentración y duración de la exposición.

Cuando se ingiere un azúcar soluble como el azúcar ordinario, generalmente da por resultado una alta concentración y una ex posición de corta duración. Por otra parte, la ingestión de - un carbohidrato muy poco soluble, como almidones, produce una baja concentración y una exposición de larga duración.

Cuando la disponibilidad del carbohidrato es en exceso, el pH baja hasta el mínimo y permanece en este valor mientras el car bohidrato está disponible. Una vez que el carbohidrato es em pleado por las bacterias de la placa o lavado por la saliva, el pH se incrementa.

La composición química de la placa es de 80% de agua y 20% de sólidos. Las proteínas son el componente principal, correspon den al 50% del peso de la placa en base seca, los carbohidra-- tos suman entre 13 y el 18% y los lípidos entre el 10 y el 14%, lo restante es la porción inorgánica, contiene calcio, fosfa-- tos y fluor en concentraciones mayores que en la saliva.

La iniciación y progresión de la lesión cariosa es asociada ge neralmente con la presencia de condiciones ácidas en la placa por períodos prolongados a consecuencia de la ingestión frecuen te de carbohidratos.

La caries dental se define como un proceso patológico de destrucción localizada en los tejidos dentales por actividad microbiana.

Se acepta el origen de la enfermedad como una secuela quimio parasítica (propuesta desde 1890 por Miller) de desmineralización del diente, por la liberación al medio de catabolitos bacterianos ácidos y la invasión tisular por los microorganismos en etapas avanzadas de la enfermedad, (7).

Los datos sobresalientes en la etiología de la caries se pueden resumir así:

1. Los animales gnotobiontes no desarrollan caries.
2. Cuando se administran antibióticos cotidianamente en los alimentos a animales de prueba, se ha demostrado que son efectivos para reducir la incidencia y severidad de la caries.
3. Ciertas bacterias orales pueden desmineralizar el esmalte y la dentina "In vitro" con la generación concomitante de lesiones típicas de caries.
4. Se ha demostrado que actúan los microorganismos como invasores dentales en términos histológicos. En ratas libres de gérmenes ha sido posible inducir caries monomicrobianas con cepas de sólo tres géneros:  
Streptococcus, Lactobacillus y Actynomices.  
Quedando en claro que la mayoría de la microflora oral no es cariogénica y que en un momento dado,

la caries in vitro no puede atribuirse a una sola especie.

De los tres géneros que se señalaron ligados al desarrollo de caries en animales experimentales, Streptococcus mutans definitivamente es el de máxima importancia.

En principio sabemos que con S. mutans se han cumplido los postulados de Koch en modelos de infección animal; aislando el microorganismo de piezas dañadas, reproduciendo el cuadro en otro huésped y reaislando el germen de las lesiones nuevas. Los lactobacilos se consideraron durante décadas como los agentes etiológicos primarios de la caries dental, debido a su carácter dual de acidogénico - acidúrico y a su presencia en las lesiones cariosas.

No obstante, con el tiempo se pudo ver que *Lactobacillus* se presenta en una parte mínima (1/10000) de la población de la placa y por lo tanto su contribución acidogénica no es tan importante. También se verificó su pobre capacidad adherente a dientes y ante la serie de experiencias concluyentes acerca del papel de S. mutans en la caries, se ha tenido que considerar a los lactobacilos como una consecuencia, más que como la causa principal de la enfermedad, sin que ésto los descarte como un contribuyente del resultado final observado en las dentaduras afectadas.

El mecanismo de fijación de bacterias se debe a la presencia de ciertas sustancias producidas por las bacterias de la boca conocidas como dextranas.

Las bacterias de la boca hidrolizan la sacarosa y por una transglicosidación unen glucosa en posiciones 1,6.

Las dextranas dan una gran viscosidad al medio, lo cual facilita que se unan al diente y junto con ellas retienen a las bacterias bucales.

Como ya se mencionó, el responsable principal es el S. mutans el cual tiene la característica de ser fuertemente acidúrico, lo cual va a favorecer la disolución de la hidroxapatita.

El sistema de transporte utilizado por S. mutans para introducir los carbohidratos glucosa, lactosa y sacarosa, está mediado por la fosfotransferasa asociada a membrana, dependiente del ácido fosfoenolpirúvico, como donador del fósforo necesario para el transporte activo.

La síntesis ulterior de los polisacáridos glucanas y fructanas (levanas e inulinas), se verifica por la acción enzimática en la placa de glucosiltransferasa (GTF) y fructosiltransferasa (FTF) respectivamente. Las glucanas son de importancia crítica en la formación de la placa dental y en la patogénesis de la caries, principalmente porque son insolubles en agua (por la fracción rica en enlaces 1 - 3) y poseen la capacidad específica para promover la adherencia cuando son sintetizadas de novo sobre superficies sólidas, (7). Las GTFs son enzimas constitutivas, presentan dos fracciones, una de naturaleza glucoproteica que es de alto peso molecular, responsable de la biosíntesis de glucana insoluble y la otra de naturaleza proteínica, que es de menor peso molecular, asociada a la síntesis de glucana soluble en agua (enlaces glucosa alfa 1 - 6).

El efecto final de la enzima es transferir los residuos glucosídicos de la sacarosa presente al polímero en extensión, dejando libres las unidades de fructosa.

Se ha probado que se requiere la presencia de cationes mono

o divalentes para la síntesis de la glucana insoluble. Cuando se priva al medio de los cationes divalentes calcio y bario o los monovalentes sodio y amonio, no hay síntesis de la glucana insoluble por parte de la cepa S. mutans ATCC 6715.

De acuerdo a los experimentos practicados con cerulelina que impide la incorporación de las moléculas de acetato en la síntesis de ácidos grasos e indirectamente repercute en la ausencia de GTF bacteriana, parece ser necesaria una síntesis normal de lípidos para la formación de GTF.

Las glucanas en general tienen enlaces glucosídicos alfa 1-3, alfa 1-6, y ocasionalmente alfa 1-2 y alfa 1-4.

Los polímeros son lineales o ramificados, los segundos tienen mayor reactividad con las lectinas; son resistentes a la acción de dextranasas y la solubilidad en agua disminuye progresivamente hasta la glucana insoluble con un 90% en enlaces alfa 1-3.

S. mutans se distingue de otras bacterias primordialmente por la capacidad de enlazarse a la GTF por intermedio de glucanas integradas a las proteínas superficiales de su pared celular.

#### 4. FOSFATOS E HIDROXIAPATITA.

Hay un amplísimo interés en el fosfato de calcio mineral hidroxapatita  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ , que es el principal constituyente del hueso y diente. Se han realizado estudios al respecto por biólogos, odontólogos, químicos, geólogos, mineralogistas, físicos, etc.

No debe sorprendernos el amplio interés que ha causado si con

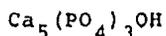
sideramos el hecho de que las apatitas representan la principal fuente de fósforo y calcio en la superficie terrestre. De hecho el fosfato de calcio de rocas ígneas y sedimentarias es casi exclusivamente apatítico. La apatita en general se refiere a una familia de compuestos, por ejemplo: fluoroapatita, cloroapatita, etc., pero comúnmente el término es empleado como sinónimo de hidroxiapatita.

De Jong fué el primero en observar la similitud entre el modelo de difracción de rayos X del polvo de hueso y el modelo obtenido del fosfato de calcio mineral hidroxiapatita, (43). Por estudios de rayos X de Posner y colaboradores (35), y de difracción de neutrones en muestras geológicas (Kay y colaboradores), se obtuvo una estructura más clara de la hidroxiapatita.

El paralelepípedo imaginario que contiene la unidad básica de iones que se repiten en el espacio simétricamente para producir la estructura cristalina de la hidroxiapatita, es un prisma rómbico recto, con una longitud en cada eje del plano basal de 9.432 Å y una altura de 6.881 Å, con el contenido atómico dado por la fórmula  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ .

En el estudio de la estructura de cristales, las coordenadas X, Y, Z, se conocen como ejes a, b, c. (2)

La simetría espacial hexagonal de la estructura no puede ser especificada completamente con menos de este número de átomos y es por ésto que a menudo se encuentra esta fórmula y no la más simple:



aunque ambas sean correctas, (43).

La relación normal de calcio/fósforo en la hidroxiapatita es - de 1.67, la estructura de la hidroxiapatita permanece inalterada dentro de un margen de variaciones ya sean de desorden o de sustitución en su composición.

Los investigadores explican que las relaciones de calcio/fósforo bajas (deficiencia de calcio), son originadas por iones fosfato adsorbidos en la superficie de cristales de hidroxiapatita.

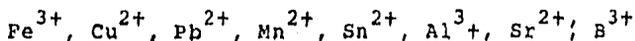
Otra explicación de la deficiencia de calcio en hidroxiapatita se basa en el concepto de que existe una intercapa de fosfato octacálcico (calcio/fósforo = 8/6), alternada con la hidroxiapatita estequiométrica.

La estructura de la cloroapatita ilustra mejor como cambios sutiles en la configuración de la apatita producen cambios importantes en sus propiedades.

La cloroapatita es menos estable que la hidroxiapatita; esto explica que las apatitas biológicas formadas en presencia de cloro en los fluidos del cuerpo no contienen iones  $\text{Cl}^-$  sustituyendo a los iones  $\text{OH}^-$ .

En general la estructura de la hidroxiapatita está sujeta a -- sustituciones isomorfas; es bien sabido por ejemplo, que es -- troncio, plomo y sodio pueden sustituir al calcio en sus posiciones. Similarmente los iones  $\text{Cl}^-$  y  $\text{F}^-$ , pueden reemplazar a los iones  $\text{OH}^-$ .

En la apatita de hueso, la mayoría de las sustituciones tales como:



aparecen como trazas, en tanto que el  $\text{CO}_3^{2-}$ , es el tercer ión más abundante del mineral de huesos y de las apatitas en gene--

ral.

Existe un acuerdo general en que el  $\text{CO}_3^{2-}$  en apatitas de cristales grandes se encuentra en el "enrejado" como ión, sustituyendo en alguna forma ya sea al  $\text{PO}_4^{3-}$  o al  $\text{OH}^-$ .

Se ha reportado que cuando la fluoroapatita se trata con  $\text{CO}_2$  seco a  $900^\circ\text{C}$  ocurre la sustitución en la posición del  $\text{PO}_4^{3-}$  por el  $\text{CO}_2$ .

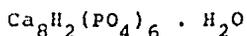
Por esta razón, se considera que el  $\text{CO}_3^{2-}$  en el mineral franco lita se encuentra en los lugares del  $\text{PO}_4^{3-}$ . Se acepta que la

sustitución de  $\text{CO}_3^{2-}$  por iones  $\text{OH}^-$ , ocurre cuando la hidroxiapatita es tratada con  $\text{CO}_2$  seco a altas temperaturas; así esperamos que el mineral Dahlita (hidroxiapatita con carbonato), tuviera el  $\text{OH}^-$  sustituido por  $\text{CO}_3^{2-}$  en alguna forma. La diferencia en las colocaciones del  $\text{CO}_3^{2-}$  entre la fluoroapatita e hidroxiapatita, probablemente significa que existe un enlace iónico más fuerte entre  $\text{F}^-$  y  $\text{Ca}^{2+}$  que entre  $\text{OH}^-$  y  $\text{Ca}^{2+}$  en los ejes de hidroxiapatita.

El punto de vista de que el  $\text{CO}_3^{2-}$  (como bicarbonato) sobre el cristal de hueso se encuentra como reserva alcalina para momentos de tensión ácida, explica la función de este ión "in vivo".

La incorporación de calcio en solución, en apatitas es inversamente proporcional a la relación calcio/fósforo. Las apatitas deficientes incorporan más calcio.

Walter E. Brown ha propuesto un mecanismo de formación de apatitas en el cual aparece el fosfato octacálcico como precursor. Se trata de un fosfato de calcio hidratado, cuya fórmula puede representarse como sigue:



En el mecanismo propuesto por Brown, ocurren tres etapas en el crecimiento de los cristales de apatita.

La primera es la formación de un incipiente cristalito de iniciación, en el segundo paso, este cristalito crece solo en dos dimensiones, largo y ancho, pero no en grosor; resultando un cristalito en forma de listón. A este se le considera la unidad de fosfato octacálcico.

La tercera etapa consta de dos pasos:

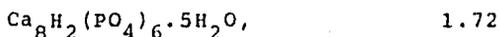
1. La precipitación de una sola capa de fosfato octacálcico; dando por resultado una unidad en el grosor del cristal.
2. La hidrólisis de una unidad de grosor del fosfato, para producir una capa de dos unidades de hidroxiapatita, (28).

Estudios realizados en apatitas sintéticas y en esmalte dental han demostrado que disminuye la solubilidad de éstas en ácido láctico conforme las relaciones calcio/fósforo se aumentan mediante tratamientos de calcio "in vitro". Esto sugiere el uso de calcio en tratamientos clínicos como ayuda para estabilizar las apatitas del esmalte, logrando así mejorar la salud dental.

Estudios recientes muestran que la proporción calcio/fósforo es ligeramente menor en esmalte cariado que en esmalte sano. El esmalte sano de personas mayores de 30 años presenta una relación menor (1.97) que el de personas más jóvenes (2.01). Microanálisis electrónico del esmalte dental humano sano, muestra que las concentraciones de calcio y fósforo se incrementan ligeramente desde la unión esmalte dentina, hacia la superfi-

de del esmalte.

La relación calcio/fósforo de esmalte y dentina se encuentra entre la correspondiente al fosfato octacálcico:



y la correspondiente a la hidroxiapatita:



Como posible compuesto intermediario se incluye el fosfato tricálcico hidratado (28).

El tamaño de los cristales del cemento y la dentina, son del mismo orden de magnitud de los encontrados en hueso; sin embargo, los cristales del esmalte son de mayor tamaño.

Existen evidencias considerables que apoyan la versión de que hay un importante factor biológico que determina el tamaño, la forma y la orientación de los cristales de hueso.

Engstrom y Zettersom, mediante estudios de difracción de rayos X en tendón de pájaros, mostraron que la dirección de los ejes "c" de los cristales de apatita es siempre paralela a las fibras de colágeno.

Un estudio de resonancia electrón - spin mostró que los cristales de hueso están unidos covalentemente al colágeno.

Estudios de rayos X sobre el efecto del ión fluoruro en apatita de hueso humano apoyan el punto de vista de que la matriz colágena puede gobernar la longitud con respecto al eje "c" que los cristales pueden alcanzar.

En el esmalte, donde la matriz es queratínica, no existe tal límite en el crecimiento de los cristales inducidos por  $\text{F}^-$  a lo largo del eje "c".

Hay referencias que indican que además de la fase apatítica, el

mineral de hueso contiene una gran proporción de fosfato de calcio no cristalino.

Algunos autores piensan que una proteína de bajo peso molecular que contiene cuatro residuos de ácido gama carboxil glutámico, es un factor importante en la formación de nucleos de cristalización de fosfato de calcio, ya que debido a su constitución, fija calcio, contribuyendo así a la calcificación del hueso. Se supone que la síntesis de esta proteína se verifica en una cadena polipeptídica precursora de la colágena; que posteriormente por un fenómeno hidrolítico se separa en las dos moléculas:

Colágena y Osteocalcina.

El proceso de carboxilación del ácido glutámico es un fenómeno que se efectúa en los microsomas por medio de una carboxilasa específica y la influencia de la vitamina K.

##### 5. INFLUENCIA DEL pH EN LA SOLUBILIDAD DE LA HIDROXIAPATITA.

Debido a que la teoría acidogénica de la caries del esmalte postula que éste es atacado por ácidos orgánicos provenientes del metabolismo microbiano, existe un gran interés en el estudio de la solubilidad del esmalte e hidroxiapatita en soluciones ácidas, (28).

Los iones de un sólido al igual que los de un líquido tienen cierta tendencia a "escapar", debido a la agitación térmica de las moléculas.

En un sistema dado, a una temperatura dada, esta tendencia a "escapar" se efectúa en una cantidad constante, por ejemplo:

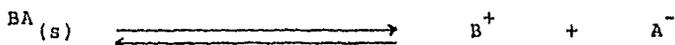
La presión de vapor es igual en el caso de un líquido puro en contacto con un gas y la solubilidad es fija en el caso de un sólido puro en contacto con un disolvente puro.

La presión de vapor es independiente de la cantidad de líquido presente, debido a que aunque el número de moléculas que escapan es proporcional al área de superficie interfásial, así también es el número de moléculas que regresan por colisión.

Incrementando el área de superficie del líquido presente, se aumenta la velocidad a que dicho equilibrio se alcanza; pero esto no afecta la presión de vapor obtenida en el equilibrio. Reglas semejantes se aplican a la solubilidad de un sólido puro. Estas consideraciones son el fundamento del concepto de constante de producto de solubilidad, (38).

Consideremos una solución acuosa de una sal ligeramente soluble BA en equilibrio con un exceso de sólido a temperatura constante.

El equilibrio puede representarse por:



Donde BA representa la fase sólida.

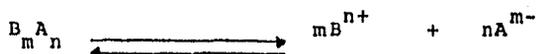
En soluciones acuosas diluidas la forma no disociada se encuentra en solución.

Debido a que la actividad del sólido es constante, la constante de equilibrio para la ecuación puede escribirse:

$$K_{ps} = \left[ \text{B}^+ \right] \left[ \text{A}^- \right]$$

Kps es llamada la constante del producto de solubilidad. EL valor de la constante del producto de solubilidad para un soluto dado, en determinado disolvente y a cierta temperatura es constante, (8).

Para la reacción general:



La constante del producto de solubilidad es:

$$K_{ps} = [B^{n+}]^m [A^{m-}]^n$$

Una de las grandes aplicaciones que tiene el producto de solubilidad es que permite el cálculo de una de las concentraciones de los iones si se conoce la otra.

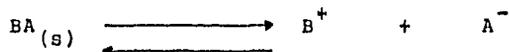
La solubilidad de cualquier sal ligeramente soluble puede disminuirse agregando un exceso de cualquiera de sus iones. Esta propiedad se aprovecha en análisis gravimétricos, (8).

Efecto de pH en la solubilidad de sus sales:

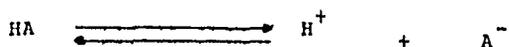
Si el anión de una sal ligeramente soluble es la base conjugada de un ácido débil, la solubilidad de la sal se verá afectada por el pH del medio.

Es posible relacionar la solubilidad de la sal con la concentración de ión hidrógeno en solución.

Si BA representa la sal ligeramente soluble, la ecuación en equilibrio puede representarse:



Ya que  $A^-$  es la base conjugada de un ácido débil, el equilibrio ácido base satisface simultáneamente:



Esta operación incrementa la solubilidad de BA, desplazando la reacción hacia la derecha. La solubilidad molar (S) de BA es igual a la concentración de B<sup>+</sup>, la que también es igual a la concentración total de A:

$$S = [B^+] = [A^-] + [HA]$$

Las expresiones de equilibrio son:

$$K_{ps} = [B^+][A^-]; \quad K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

Las expresiones de equilibrio son sustituidas en la ecuación anterior:

$$[B^+] = \frac{K_{ps}}{[B^+]} \left( 1 + \frac{[H^+]}{K_a} \right)$$

$$S = \sqrt{K_{ps} \left( 1 + \frac{H^+}{K_a} \right)}$$

Esta ecuación relaciona la solubilidad molar con el K<sub>ps</sub>, K<sub>a</sub> y con la concentración de iones hidrógeno, (8).

Puede observarse que cuando la concentración de iones hidrógeno es muy pequeña en comparación con K<sub>a</sub>, la solubilidad se aproxima a (K<sub>ps</sub>)<sup>1/2</sup>, que es el valor usual para una sal ligeramente soluble cuyos componentes no son ácidos o bases.

Al agregar iones hidrógeno, la solubilidad se incrementa en la misma proporción que los iones agregados.

En el caso especial en que H<sup>+</sup> = K<sub>a</sub> (es decir, pH = pK<sub>a</sub>), la e-

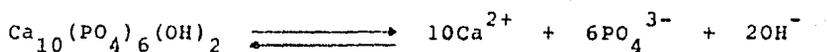
ecuación queda:  $S = 1.41 (Kps)^{1/2}$ .

Es decir, cuando  $pH = pKa$  la solubilidad de BA es 41% mayor que cuando la concentración de iones hidrógeno es despreciable.

Este no es el único caso en que la solubilidad de la sal es dependiente del pH.

Puede derivarse una ecuación similar para sales cuyo catión es el ácido conjugado de una base débil. Por supuesto, la solubilidad se incrementará al disminuir la concentración de ión hidrógeno.

Recientemente se ha reportado que la hidroxiapatita pura cuando ha alcanzado condiciones de equilibrio, tiene un verdadero valor de Kps que concuerda con la ley de acción de masas. Puede expresarse así:



$$K = \frac{|Ca^{2+}|^{10} |PO_4^{3-}|^6 |OH^-|^2}{Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2}$$

$$Kps = |Ca^{2+}|^{10} |PO_4^{3-}|^6 |OH^-|^2$$

Si  $p = -\log$ :

$$pKps = 10pCa + 6p(PO_4) + 2pOH$$

Se han determinado valores de pKps de 114.4 a 116.

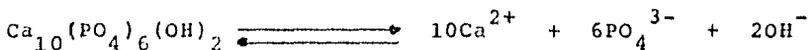
En estudios de disolución del esmalte dental e hidroxiapatita sintética en soluciones reguladoras ácidas, se ha observado que

se alcanza el equilibrio relativamente rápido en el que el grado de disolución está limitado por el producto de solubilidad del fosfato monoácido de calcio.

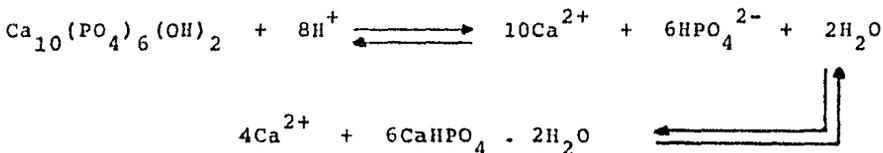
Esto ha sido interpretado como resultado de una capa fina de fosfato de calcio monohidratado, que se forma sobre la superficie, la cual determina la solubilidad.

Las reacciones pueden mostrarse esquemáticamente como sigue:

Equilibrio de la hidroxiapatita:



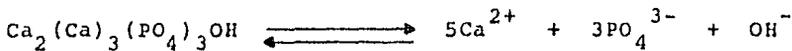
En soluciones reguladoras pH 4 - 6:



La solubilidad de un sólido se define como la cantidad de ese sólido disuelta por unidad de volumen de la solución después del equilibrio.

Por lo general, la solución de un compuesto iónico contiene los diferentes iones que constituyen al compuesto cristalino.

Por consiguiente el equilibrio entre los cristales de hidroxiapatita y la solución será:



Todos los iones  $\text{OH}^-$  se encuentran en un subenrejado, todos los iones  $\text{PO}_4^{3-}$  en un segundo subenrejado, 60% de los iones  $\text{Ca}^{2+}$  en un tercer subenrejado y el 40% de los iones  $\text{Ca}^{2+}$  en un cuarto subenrejado.

Un enrejado se define como un juego de sitios equivalentes, (11).

La reacción anterior se puede expresar de la siguiente manera:

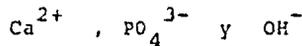
$$K_{ps} = \left[ \text{Ca}^{2+} \right]^5 \left[ \text{PO}_4^{3-} \right]^3 \left[ \text{OH}^- \right]$$

$$- \log K_{ps} = 5 - \log \text{Ca}^{2+} + 3 - \log \text{PO}_4^{3-} + - \log \text{OH}^-$$

$$- \log K_{ps} = pK_{ps}$$

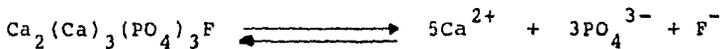
$$pK_{ps} = 5p\text{Ca} + 3p\text{PO}_4 + p\text{OH}$$

Donde  $K_{ps}$  es el producto de solubilidad de la hidroxiapatita pura, que en la teoría depende sólo de la presión y temperatura;  $p\text{Ca}$ ,  $p\text{OH}$  y  $p\text{PO}_4$  son los logaritmos negativos de las actividades de los iones:



en solución acuosa respectivamente.

Para fluoroapatita pura en equilibrio con su solución acuosa, la expresión es:

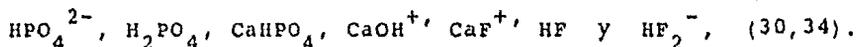


Y

$$- \log K_{ps} = 5p\text{Ca} + 3p\text{PO}_4 + p\text{F}$$

Para otros compuestos apatíticos puros hay expresiones similares. Para apatitas la relación entre el pH y el  $pK_{ps}$  está interferida por reacciones secundarias en la solución acuosa, resultando formación de complejos.

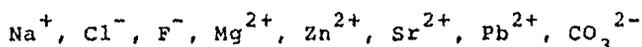
Los más importantes son:



La solubilidad también depende de la fuerza iónica, que de acuerdo con la teoría de Debye-Hückel puede ser explicada mediante la interacción electrostática mutua de los iones en solución.

## 6. INFLUENCIA DE IONES EXTRAÑOS EN HIDROXIAPATITA.

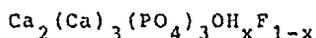
Hemos hecho referencia a las apatitas, a su solubilidad y a los principios que las rigen; pero debemos considerar que las bioapatitas no son apatitas ternarias puras, sino que contienen cantidades muy variables de iones como:



etc., (11).

Varios estudios han revelado que la hidroxiapatita pura, en contacto con soluciones que contienen iones fluoruro, incorporan iones de este tipo. Se obtienen resultados similares a los obtenidos a altas temperaturas; puede considerarse que la incorporación causa un cambio gradual de los cristales de apatita.

En efecto, la hidroxiapatita pura se transforma en fluoroapatita, con la siguiente fórmula:



Lo cual significa que los iones  $\text{OH}^-$  y  $\text{F}^-$  están distribuidos al azar sobre los sitios del mismo subenrejado.

Si hay reacciones secundarias o formación de complejos, en la hidroxiapatita y fluoroapatita ocurrirán los siguientes cambios:

- Formación de complejos dentro del sólido, especialmente la formación de uniones  $\text{OH}^- - \text{F}^-$  asociadas (29).
- Reacciones secundarias dentro del sólido, especialmente la transferencia de  $\text{H}^+$ , de  $\text{OH}^-$  hacia  $\text{F}^-$  o  $\text{PO}_4^{3-}$ .
- Reacciones secundarias entre el sólido y la solución acuosa, especialmente intercambio de moléculas de agua.

Existe una teoría que establece que la sustitución de iones  $\text{F}^-$  por iones  $\text{OH}^-$  en fluoroapatitas, combinadas o no con reacciones secundarias dentro de la solución del sólido, no afectará el producto de solubilidad de la fluoroapatita mientras el grado de sustitución cumpla la condición  $x = 0$ .

Datos experimentales revelan que las desviaciones estequiométricas que ocurren en fluoroapatitas puras influyen en los cambios del producto de solubilidad en un intervalo de aproximadamente tres órdenes de magnitud. También se encontró que el producto de solubilidad de hidroxiapatitas puras varía dentro de un intervalo similar.

Algunos investigadores sostienen que las bioapatitas de hueso son muy semejantes a la hidroxiapatita, (3).

La sustitución de iones en la hidroxiapatita producirá alteraciones en la solubilidad de ésta, así, la sustitución de iones con carga mayor, por ejemplo, lantano en lugar de calcio, silicato en lugar de fosfato, producirá una disminución del producto de solubilidad y por el contrario al sustituir iones con carga menor, por ejem., sodio por calcio, carbonato por fosfato; se producirá un incremento en el producto de solubilidad.

Se ha establecido que la incorporación de ciertos iones en

los cristales de apatita del esmalte disminuirá la solubilidad si esta incorporación induce uno o más de los efectos siguientes:

- a) Una disminución de las desviaciones estequiométricas que ocurren normalmente.
- b) Un cambio en los tipos de desviaciones estequiométricas, por medio de lo cual la energía libre de Gibbs disminuya.
- c) Una disminución del contenido de sodio y/o carbonato.
- d) Un cambio en el tipo de la apatita ternaria principal, (11)

En experimentos realizados por Gurzon y Losee (9), para detectar el contenido de elementos traza en el esmalte dental humano, se compararon dos regiones: una con alta incidencia de caries y otra con muy baja incidencia de caries. Se encontró que además de los ocho principales elementos: calcio, carbono, cloro, hidrógeno, magnesio, nitrógeno, sodio y oxígeno; existen normalmente elementos que pueden llamarse elementos traza. Los elementos encontrados fueron: litio, berilio, boro, aluminio, fluor, azufre, potasio, titanio, vanadio, cromo, manganeso, hierro, cobalto, níquel, plata, zinc, selenio, bromo, rubidio, estroncio, niobio, molibdeno, cadmio, zirconio, cobre, antimonio, yodo, bario y plomo.

Se encontró que tres de los elementos traza: Fluor, estroncio y bario, diferían significativamente entre las dos regiones; observándose que altas concentraciones de fluor y estroncio en esmalte pudieron asociarse con una menor incidencia de caries en una región, así como una alta concentración de bario fue asociada con una mayor incidencia de caries en la otra re

ción.

Estas pruebas se realizaron en esmalte de diente sano. En el siguiente cuadro se muestran los resultados obtenidos:

Elemento	Región de alta incidencia		Región de baja incidencia	
	muestras	ppm	muestras	ppm
F	107	73.9 ± 5.95	99	126.7 ± 8.6
Sr	108	128.9 ± 8.39	100	156.0 ± 10.87
Ba	108	6.8 ± 2.26	100	2.1 ± 0.57

También se hizo la comparación con muestras cariadas y en este caso se encontró que los niveles de Sr y Sn fueron más altos en el esmalte de la zona de baja incidencia de caries y que la concentración de aluminio, cobre y litio fue más alta en el esmalte de la región de alta incidencia.

En estudios realizados por Besic y Bayard (12), sobre la composición y estructura del esmalte dental, inicialmente se hizo una clasificación de muestras ácido resistentes y muestras susceptibles al ácido. Se diferenció entre éstas el contenido de los cinco principales componentes del esmalte.

Las cantidades encontradas fueron mayores para calcio y fósforo en las muestras ácido resistentes y un contenido menor de carbono, hidrógeno y oxígeno en las mismas, siendo lo contrario para las muestras ácido susceptibles.

## 7. LANTANIDOS.

Desde hace más de una década, el lantano (La) y los iones lantánidos han sido empleados para probar sistemas biológicos que normalmente involucran calcio.

Particularmente en los últimos años ha habido varios reportes sobre el uso de los iones lantánidos para el estudio de membranas celulares.

Los iones lantánidos son una serie de 15 elementos trivalentes que sigue al lantano en la tabla periódica e incluyen, con números atómicos ascendentes:

Lantano:	La
Cerio:	Ce
Praseodimio:	Pr
Neodimio:	Nd
Prometio:	Pm
Samario:	Sm
Europio:	Eu
Gadolinio:	Gd
Terbio:	Tb
Disproσιο:	Dy
Holmio:	Ho
Erbio:	Er
Tulio:	Tm
Iterbio:	Yb
Lutecio:	Lu

A diferencia del calcio, los iones lantánidos tienen una distribución limitada y raramente se encuentran en concentraciones considerables en seres vivos; lo cual representa una ven-

taja ya que estos iones no causan problemas de contaminación al investigador, como suele suceder muy frecuentemente con el calcio, (16).

Lo que se conoce sobre la concentración y distribución de las tierras raras en el organismo humano es muy limitado; sin embargo, basándose en la información de que se dispone, se sabe que están presentes en niveles muy bajos y que las tierras raras no son indispensables para los organismos vivos, (26). La absorción en el tracto gastrointestinal parece ser muy baja, normalmente los valores son de menos del 0.05% en mamíferos, (46). Las tierras raras tienden a acumularse en el esqueleto, donde se concentran en la fracción mineral. En un estudio de sedimentos oceánicos, se encontró que los restos de esqueletos de peces presentaban diversos porcentajes de tierras raras; a pesar de que la concentración de éstas en el agua del océano es tan baja:  $10^{-2}$  a  $10^{-4}$   $\mu\text{g}/\text{l}$ . (22).

Por otra parte, una investigación más detallada, hecha usando fluorescencia de rayos X después de enriquecimiento químico, indicó un contenido de 0.01 ppm o menos de Yb, La, Ce, Nd, Gd y Dy en hueso de animales.

Se demostró que las tierras raras existen en la apatita de hueso de peces y que la presencia de algunas tierras raras en el esmalte dental disminuye la solubilidad del mismo, (45).

Se ha hecho una investigación de los niveles normales de tierras raras en esmalte y dentina. La única información que existía previamente sobre el contenido de tierras raras en dientes humanos es un estudio semicuantitativo de espectroscopía de masas, que establece que el contenido de Yb en esmalte y dentina es de 1 a 10 ppm y que el contenido de lantano es de menos de 1 ppm, (19). Las observaciones hechas posteriormente por --

Steines, Dahm y Furseth corroboran que el contenido de tierras raras en esmalte y dentina es muy bajo; de los datos obtenidos se supone que la incorporación de tierras raras al diente se logra por dos vías:

1. A través de la absorción gastrointestinal y mediante el transporte a través del sistema circulatorio.
2. Por la adsorción directa sobre la superficie del diente en la cavidad oral.

En la siguiente tabla se muestran las concentraciones en ppm de algunas de las tierras raras encontradas en esmalte y dentina.

Se observa que las mayores concentraciones encontradas corresponden a La y Sm.

CONCENTRACIONES DE TIERRAS RARAS EN ESMALTE Y DENTINA  
EXPRESADAS EN ppm.

Muestra	Edad del Paciente	La	Sm	Tb	Yb	La/sm
1 dentina	22	0.0153	0.00103	0.005	0.01	14.8
1 esmalte		0.0041	0.00029	0.005	0.01	14.1
		0.0137	0.00168			
2 dentina	21	0.0136	0.00174	0.005	0.01	8.0
		0.0055	0.00075	0.005	0.01	7.6
2 esmalte		0.0059	0.00075			
		0.0057	0.00190			
3 dentina	25	0.0160	0.00179	0.005	0.01	8.7
		0.0052	0.00438			
4 esmalte	72	0.0030	0.00045	0.005	0.01	9.1
5 dentina	21	0.0072	0.00070	0.005	0.01	10.3
5 esmalte		0.0077	0.00107	0.005	0.01	7.2

El resultado de su trabajo parece apoyar la primera posibilidad de incorporación debido a que en dentina la concentración de los elementos determinados generalmente es mayor que en esmalte, a que el porcentaje de materia inorgánica en dentina es menor y a que por lo general no está expuesta al medio, (9).

Los iones lantánidos forman preferentemente enlaces iónicos en lugar de covalentes; en este aspecto presentan gran semejanza con los elementos alcalinotérreos.

A excepción del lutecio (Lu), los lantánidos poseen electrones impares en su órbita electrónica 4f.

La mayoría de los iones lantánidos son trivalentes aunque el cerio (Ce), tiene un estado tetravalente estable y: europio, samario, Yterbio y tulio tienen estados divalentes estables.

Para cualquier ión lantánido dado, el radio depende significativamente del número de coordinación asignado, (16).

Anteriormente se establecía que el calcio tenía un número de coordinación de 6 aunque más recientemente se ha demostrado que el número de coordinación corresponde a 6, 7 u 8.

El número de coordinación de los lantánidos puede variar desde 6 hasta un máximo de 12; aunque los más comunes son los 8 y 9. Se ha encontrado recientemente que la diferencia entre el calcio y los lantánidos probablemente es de importancia secundaria en la sustitución de calcio por lantánidos; aunque la diferencia de densidades de carga puede ser crítica al determinar la capacidad de los lantánidos para reemplazar funcionalmente al calcio.

Los iones lantánidos presentan un número de propiedades fisicoquímicas que no presenta el calcio ni ninguno de los iones alcalinotérreos.

Estas propiedades hacen a los lantánidos potencialmente impor--

tantes en pruebas de sitios de unión de calcio.

Se ha empleado ampliamente la microscopía electrónica para identificar sitios donde se encuentran lantánidos, debido a que estos elementos son metales pesados.

Puede emplearse también espectroscopía de resonancia magnética nuclear, resonancia paramagnética electrónica y fluorescencia.

Las dificultades prácticas resultantes de la contaminación de un lantánido con otro de la serie ya han sido controladas y en la actualidad la mayoría de los lantánidos se hallan disponibles con una pureza de por lo menos 99.9%.

Los lantánidos poseen un amplio margen de propiedades biológicas.

Los lantánidos más ligeros se localizan en la fracción microsomal del hígado, en el bazo, así como también en otros órganos ricos en células reticuloendoteliales.

Cuando se administran en dosis relativamente pequeñas, causan esteatosis y necrosis del hígado y pueden disminuir la actividad del sistema reticuloendotelial.

Schurig y Oberdisse en 1972 demostraron que las tierras raras inhiben la síntesis de proteínas y esto puede ser un factor importante en la patogenicidad del hígado graso. Sin embargo es indudable que la disminución de la síntesis de proteínas está relacionada con la muerte celular.

Se sabe que los lantánidos son absorbidos por el sistema reticuloendotelial e induce a la formación de acumulaciones de sales de calcio en el bazo cuando se administran en dosis relativamente altas.

La severidad de la calcificación del bazo es directamente proporcional a la cantidad de tierras raras administradas.

La capacidad de estos metales para dañar en mayor o menor grado el hígado es consecuencia también del efecto dual que ejercen en los niveles de fósforo y calcio en suero y en la inducción de calcificación cutánea. Esto es, la calcemia y fosfatemia, así como la calcinosis, ocurren con dosis bajas de los metales, mientras que a dosis altas no son efectivas en este sentido.

Puede asumirse que la distribución de praseodimio en el cuerpo, varía de acuerdo a la dosis administrada del metal.

Bajas dosis pueden formar fracciones difusibles de pequeñas partículas que fácilmente atacan a las membranas del sistema reticuloendotelial hepatocítico y así, solo una pequeña fracción del metal será fagocitada por las células del sistema reticuloendotelial, (1).

Dosis mayores formarían una fracción coloidal no difusible, - probablemente un fosfato agregado, el cual fácilmente podrá ser incorporado por las células del sistema reticuloendotelial y del bazo.

Inyecciones únicas ó múltiples de cloruros de lantano, cerio, praseodimio y neodimio en conejos causaron cambios considerables en hemoglobina, cuenta de leucocitos, eritrocitos y cuenta diferencial, en tanto que la administración oral no causó efecto alguno, (19).

Ninguna de las tierras raras tiene un efecto sobre el crecimiento ni sobre el hemograma.

Los daños al hígado parecen estar ligados al sexo, ya que es más marcado en machos que en hembras. Se ha producido hiperglicemia en conejos por inyecciones intravenosas de cerio, - lantano, neodimio y praseodimio en forma de sales.

La deshidrogenasa succinica puede ser activada por el cloruro

de lantano y puede ser inhibida por el cloruro de ytrio; estas dos sales también inhiben la trifosfatasa adenosina.

Las mitocondrias de los hígados de animales envenenados por praseodimio mostraron evidencias de desacoplamiento de la fosforilación oxidativa. Sin embargo, los efectos tóxicos de lantano, praseodimio, neodimio y samario en el hígado, no parecen estar relacionados con la síntesis o degradación del ATP en las mitocondrias.

Cuando se administran tópicamente en el ojo, todas las tierras raras producen un alto grado de irritación en la conjuntiva pero no en la córnea o en el iris.

Las tierras raras no producen daño o irritación en la piel intacta pero sí en la dañada o escoriada; todas producen una disminución en la presión sanguínea cuando se administran intravenosamente.

Actúan también como anticoagulantes.

En mamíferos las células hepáticas parecen ser las más sensibles a los iones lantánidos, ya que en el hígado es en donde se acumulan preferentemente los iones lantánidos administrados intravenosamente o intraperitonealmente; también hay otros tejidos a los que se unen específicamente los iones lantánidos. A diferencia del calcio, los iones lantánidos no penetran al sarcolema. Se sabe desde hace tiempo que la contracción del músculo esquelético es inhibida por iones lantánidos en concentración de  $10^{-4}$  M, sin embargo, se ha llegado al acuerdo de que los lantánidos no penetran al músculo esquelético, a menos de que esté dañado.

Concentraciones de iones lantánidos de  $10^{-6}$  M casi inhiben completamente la contracción del músculo liso, (16); se ha sugeri

do que los iones lantánidos actúan mejor en la parte externa que en el interior de estas células.

Las mitocondrias son de 20 a 30 veces más sensitivas a los iones lantánidos que las vesículas del retículo sarcoplásmico. Casi sin excepción los lantánidos son inhibidores de procesos en membrana, mediados por calcio.

En base a la clasificación de toxicidad, los lantánidos pueden considerarse solo ligeramente tóxicos, (19).

Los síntomas de la intoxicación, para todos estos elementos incluye: convulsiones, ataxia, respiración forzada y sedación. La muerte ocurre de 48 a 96 horas después de la intoxicación. Existen diferencias en cuanto al sexo que se trate; las mujeres son más susceptibles que los hombres. En animales que han sobrevivido durante 30 días de intoxicación, presentan peritonitis generalizada y necrosis hepática focal.

El uso de citratos u otros agentes quelantes tiende a neutralizar los efectos letales, disminuyendo la liberación de los elementos.

En estudios de toxicidad crónica, varias sales de tierras raras inyectadas en conejos provocaron degeneración en hígado y bazo, con atrofia y necrosis en el lóbulo central.

#### 8. IMPORTANCIA DEL CLORURO DE LANTANO EN EL ESMALTE DENTARIO.

No obstante lo que se ha mencionado sobre la toxicidad de los lantánidos, se han considerado puntos favorables para proponer el uso de éste en el tratamiento dental de la prevención de caries.

Sabemos que tiene efecto en la solubilidad del esmalte dentario ya que hay una disminución de ésta al tratarse muestras de dientes con soluciones de cloruro de lantano. Se compara con el fluoruro de sodio, que ha sido la base de los tratamientos empleados con este propósito.

Existen referencias de que la toxicidad del cloruro de lantano es menor que la del fluoruro de sodio, es decir, existe un margen de seguridad más amplio.

La baja absorción oral, indudablemente está relacionada con la pobre absorción intestinal, (19).

En la siguiente tabla se muestran los datos obtenidos en estudios de toxicidad aguda para cloruro de lantano.

DLM de cloruro de lantano en estudios de toxicidad aguda.

ESPECIE	DLM mg/Kg	VIA DE ADMINISTRACION
Ratón	3500	Subcutánea
Ratón	372.4 (323.6 - 428.5)	intraperitoneal
Ratón	> 500	Subcutánea
Rata	350	intraperitoneal
Cuyo	129.7	intraperitoneal
Rata	4200	oral
Conejo	200 - 250	intravenosa

En estudios de toxicidad crónica, varias sales de tierras raras inyectadas en conejos provocaron degeneración en hígado y bazo, con atrofia y necrosis en el lóbulo central.

Otro punto de interés reside en que el mecanismo de acción del

fluoruro de sodio y del cloruro de lantano es diferente; en el  $F^-$  lo que ocurre es una sustitución de los iones  $OH^-$ ; en el caso del cloruro de lantano, lo que ocurre es una sustitución de iones  $Ca^{2+}$ , aunque el efecto es el mismo en ambos: dar mayor resistencia al esmalte haciéndolo resistente a la disolución - en medio ácido.

A continuación se enumeran algunas de las propiedades de las dos sales antes mencionadas:

CLORURO DE LANTANO : Cristales color blanco o grisáceo, heptahidratado, soluble en agua y alcohol. Al calentarse con ácido clorhídrico se forma la sal anhidra con un punto de fusión de  $852^{\circ}C$ .

Se descompone en agua caliente, (33).

FLUORURO DE SODIO : 1 mg se disuelve en 25 ml de agua, insoluble en alcohol.

Se presentan síntomas severos de intoxicación desde la ingestión de menos de 1 g. la muerte se presenta al administrar de 5 a 10 g.

El fluoruro de sodio en dosis orales que excedan a 250mg, causa salivación, náuseas, vómito, dolor epigástrico y diarrea.

Dosis mayores causan debilidad muscular y convulsiones clónicas, seguidas de deficiencias cardíacas, respiratoria y muerte en 2 ó 4 horas; también se ha reportado daño ocular.

Dosis para solución tópica: al 2%; uso oral: 1.5 a 3 ppm, equivalente a 0.7 - 1.3 ppm de fluoruro.

Suplemento en agua: 1.1 a 2.2mg (0.5 a 1.0mg de fluoruro), (32).

## P A R T E   E X P E R I M E N T A L

### 1. METODOLOGIA

La parte experimental se basa principalmente en estudios efectuados por Buttner y Muhler, con ciertas modificaciones, (4). Inicialmente se coleccionaron piezas dentales de bovino; seleccionándose sólo las piezas del frente por poseer mayor superficie.

Las piezas se seccionaron a un tamaño adecuado, aproximadamente de 7mm de lado. Se lavaron perfectamente y se conservaron en agua destilada, cuando no se utilizaron de inmediato.

#### Método de preparación de muestras en acrílico y cera:

Las muestras ya seccionadas, lavadas con agua destilada, se secan perfectamente y pulen con piedra fina, cuidando mucho de que ésto sea de manera muy leve y no llegue a dentina.

Se colocan en acrílico de manera que éste quede como una pequeña base o soporte, dejando sin cubrir la superficie labial, la cual va a ser expuesta al medio de disolución.

La forma de la base debe ser de un prisma rectangular; en la parte superior debe quedar una pequeña "ceja", en la que se hace un orificio, con el fin de pasar hilo de plástico, del que penderán las muestras en el aparato de disolución. Se deja -- "fragar" el acrílico.

Colocar en el centro de la superficie del esmalte que quedó sin cubrir, un pequeño círculo de "masking-tape" y proceder a cubrir toda la pieza con cera rosa.

Nota: El círculo debe ser de diámetro conocido y será de la mis

ma dimensión para todas las muestras. Puede hacerse con una perforadora.

Con un explorador de punta filosa retirar el pequeño círculo de "masking-tape", dejando un círculo bien definido de superficie de esmalte.

De esta manera las muestras están listas para emplearse en el experimento.

[Deberán conservarse en agua destilada mientras no se utilicen]

Si las muestras se conservan en agua destilada, secarlas con papel absorbente, marcarlas y colocarlas en el aparato de disolución, teniendo la precaución de situarlas a la altura adecuada para que en el momento del tratamiento todas las muestras penetren al mismo tiempo a la solución y las condiciones sean uniformes.

Se realizan cuatro tratamientos a cada muestra; que consisten en utilizar en los dos primeros y en el cuarto tratamiento, solución reguladora de ácido acético/acetato de sodio 0.2M, pH 4, con el objeto de tener un pH ácido, simulando una especie de caries "in vitro"; que es indispensable para lograr el objetivo de este trabajo. En el tercer tratamiento se emplea una solución de prueba como medio de disolución, en algunos casos se probó con soluciones de cloruro de lantano a diferentes concentraciones y a diferentes tiempos de exposición y en otros casos se utilizó agua destilada como solución de prueba.

Se determinó concentración de calcio y de fósforo en solución; calcio por el método de Webster y fósforo por el método de Fiske y Subbarrow modificado. (5,36).

Primer tratamiento: El objetivo de este tratamiento es homoge-

neizar la superficie de la pieza, para lo cual se sumerge la muestra preparada anteriormente en acrílico, dentro de 10ml de una solución amortiguadora de ácido acético/acetato de sodio - 0.2M pH 4 y se agita en el aparato de disolución por un tiempo determinado. Posteriormente se determinan las concentraciones de calcio y de fósforo por el método correspondiente.

Segundo tratamiento: El objetivo de este tratamiento es contar con una concentración de referencia de calcio y de fósforo para que después del tratamiento con la solución de prueba, sea el punto de comparación.

Las muestras se sumergen en la solución de ácido acético/acetato de sodio 0.2M pH 4, (10 ml) por el mismo tiempo y condiciones que en el tratamiento anterior.

Tercer tratamiento: En este tratamiento se utiliza la solución de prueba, es decir, la solución con la que se pretende demostrar el grado de protección que confiere al esmalte, disminuyendo su solubilidad, aumentando su resistencia. En este caso en lugar de la solución amortiguadora se utiliza la misma cantidad (10ml) de la solución de prueba, sumergiendo las muestras en las mismas condiciones que en los tratamientos anteriores.

Cuarto tratamiento: Las muestras se sumergen nuevamente en 10ml de solución amortiguadora, en las mismas condiciones que en los tratamientos anteriores. Se determinan las concentraciones de calcio y fósforo en solución y se comparan con las obtenidas en el segundo tratamiento, con objeto de verificar si la solución de prueba confirió o no protección al esmalte.

NOTA:

Después de cada tratamiento, las muestras se enjuagan con agua destilada, de preferencia al chorro de agua de una piseta, cuidando de lavar muy bien el hilo de plástico para evitar contaminación entre tratamiento y tratamiento, después se secan perfectamente.

## 2. EQUIPO Y MATERIAL.

1. Agitador Vórtex.
2. Agitador orbital (Aparato de disolución).
3. Balanza analítica.
4. Balanza granataria.
5. Centrífuga.
6. Espátula de acero inoxidable.
7. Espectrofotómetro Zeizz PM2DL.
8. Etiquetas.
9. Explorador.
10. Frascos reactivos de 100, 250, 500 y 1,000 ml.
11. Frascos viales.
12. Gradilla para tubos.
13. Hilo de plástico.
14. "Masking-tape".
15. Matraces volumétricos de 100, 200, 500 y 1,000 ml.
16. Perforadora.
17. Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 ml.
18. Pipetas volumétricas de 1, 5 y 10 ml.
19. Piseta.
20. Potenciómetro E510 Metrohomm.
21. Probetas graduadas de 25, 50 y 100 ml.
22. Tijeras.
23. Tubos de ensayo de 12 x 175 y de 10 x 130.
24. Vasos de precipitados de 30, 50, 100 y 250 ml.

## 5. REACTIVOS

1. Acrílico de fraguado rápido.
2. Acido acético R.A.
3. Acido amino naftol sulfónico R.A.
4. Acido clorhídrico R.A.
5. Acido cloranílico R.A.
6. Acido láctico R.A.
7. Acido sulfúrico R.A.
8. Agua destilada.
9. Alcohol isopropílico R.A.
10. Amonio molibdato R.A.
11. Calcio carbonato R.A.
12. Cera rosa # 7.
13. Disódica sal del ácido etiléndiamino tetraacético R.A.
14. Férrico cloruro R.A.
15. Lantano cloruro R.A.
16. Potasio fosfato monobásico R.A.
17. Sodio bisulfito R.A.
18. Sodio fluoruro R.A.
19. Sodio hidróxido R.A.
20. Sodio sulfito R.A.

#### 4. DETERMINACION DE CALCIO - METODO DE WEBSTER

El fundamento del método está basado en lo siguiente: El calcio presente en solución, es precipitado al reaccionar con cloranilato de sodio por formación de cloranilato de calcio. La suspensión se centrifuga para sedimentar el precipitado y se decanta el sobrenadante; el precipitado se lava con alcohol isopropílico para eliminar el cloranilato de sodio que no reaccionó, se vuelve a centrifugar y se decanta nuevamente. Se agrega sal disódica de EDTA para acomplejar el calcio precipitado. Posteriormente se agrega cloruro férrico, que forma un compuesto colorido con el cloranilato liberado, cuya intensidad de color (verde amarillento), es proporcional a la cantidad de calcio presente; por lo cual para conocer su concentración, se procede a determinar la absorbancia de las soluciones en un espectrofotómetro adecuado, (36).

##### Reactivos:

a) Solución de cloranilato de sodio.

Pesar 1g de ácido cloranílico, agregar 100 ml de hidróxido de sodio 0.1M, agitar aproximadamente 15 min. y filtrar. Esta solución es estable por una semana.

b) Solución de sal disódica de EDTA.

Transferir 50g de la sal a un matraz volumétrico de 1 litro, disolver y aforar con agua destilada.

El pH de la solución es 4. Si no se logra disolución total de la sal agregar solución de hidróxido de sodio 1N antes de aforar.

c) Solución de Cloruro Férrico.

c-1) Solución patrón al 10% : Se prepara con cloruro férrico hidratado, que en base anhidra corresponde al 6%.

c-2) Solución de cloruro férrico al 0.6% : La solución c-1 se diluye 1:10 con agua destilada antes de utilizarse, ya que para la reacción se requiere a esta concentración y las soluciones muy diluidas de este reactivo son inestables.

d) Alcohol isopropílico al 50% V/V con agua destilada.

e) Solución estándar de calcio .- Pesar 2.5 g de carbonato de calcio R.A., previamente secado a 150 - 200°C a peso constante.

Transferirlos a un matraz volumétrico de 1 litro, agregar 5 ml de ácido clorhídrico 1 M, aproximadamente 200 ml de agua destilada y 5 ml más de ácido clorhídrico 1M para disolver perfectamente el carbonato de calcio, mezclar y llevar a volumen con agua destilada.

f) Solución problema .- Tomar directamente la muestra por analizar.

Preparación de la curva estándar.- A una serie de 6 tubos de ensayo de 10 x 130 mm, agregar: 0, 1, 2, 3, 4, 5 ml de solución estándar de calcio, llevar a volumen de 5 ml cada tubo con agua destilada, agitar perfectamente y seguir el mismo procedimiento que en los problemas, excepto en lo que respecta al volumen que se agrega de la solución de cloranilato de sodio; en los estándares adicionar 5 ml en lugar de 2 ml.

### Procedimiento:

En tubos de ensayo de 10 x 130 mm colocar 2 ml de muestra, agregar 2ml de solución de cloránilato de sodio, agitar perfectamente (de preferencia mecánicamente), dejar reposar 30 minutos a temperatura ambiente; centrifugar a 2000 - 2500 rpm durante 20 minutos. Decantar el sobrenadante y desecharlo, agregar 2 ml de alcohol isopropílico al 50%, suspender nuevamente el precipitado agitando mecánicamente; centrifugar en las mismas condiciones anteriores, decantar de igual manera, agregar al precipitado una gota de solución de EDTA disódica (Solución al 5%) y 5 ml de cloruro férrico 0.6%.

Determinar la absorbancia de las soluciones en un espectrofotómetro adecuado, a 500 nm, utilizando como blanco de referencia el blanco de reactivos preparado.

### 5. DETERMINACION DE FOSFORO - METODO DE FISKE Y SUBBARROW PARA DETERMINACION DE FOSFATOS (MODIFICADO)

El fundamento del método se basa en que los iones ortofosfato reaccionan con los iones molibdato en solución ácida, obteniéndose el ácido fosfomolibdico, que al ser tratado con un agente reductor (en este caso se utilizó ácido amino naftol - sulfónico), se produce un color azul por formación del azul de molibdeno. La intensidad del color azul es proporcional a la cantidad de fosfatos presentes y se determina espectrofotométricamente.

El método original se describe haciendo la determinación en un filtrado libre de proteínas, (5).

En este trabajo, la determinación se realizó en las soluciones con las que se trataron las piezas dentales.

Reactivos:

a) Acido amino naftol sulfónico.- (Reactivo en polvo): moler en un mortero 0.5g de ácido amino naftol sulfónico, 30g de bisulfito de sodio y 1g de sulfito de sodio; guardar protegido de la luz en frasco ámbar.

b) Solución de ácido amino naftol sulfónico.- Transferir 2.52g del reactivo en polvo (a) a un matraz volumétrico de 200ml, disolver y aforar con agua destilada, conservar protegido de la luz.

La solución es estable durante dos semanas.

c) Solución reactivo de molibdato.- Transferir 150ml de agua destilada a un matraz volumétrico de 500ml, añadir cuidadosamente 42 ml de ácido sulfúrico R.A.; enfriar en el chorro de agua.

Colocar en un matraz Erlenmeyer 100ml de agua destilada y 12.5g de molibdato de amonio R.A., agitar vigorosamente y transferir el contenido del matraz Erlenmeyer al matraz volumétrico. El molibdato de amonio no se disolverá completamente mientras no se agregue a la solución ácida; aforar con agua destilada y mezclar.

La solución es estable.

d) Solución patrón de fosfatos.- Transferir exactamente 220 mg

de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  R.A. a un matraz volumétrico de 500ml, disolver y aforar con agua destilada.

e) Solución estándar.- Transferir 1ml de la solución patrón de fósforo a un matraz volumétrico de 100ml, aforar con agua - destilada. La solución contiene  $1\ \mu\text{g}$  de fósforo /ml.

f) Solución problema.- Tomar directamente la muestra por analizar.

Procedimiento:

Transferir 4ml de la solución estándar, 4ml de la solución problema y 4ml de agua destilada (blanco), a cada uno de los tres tubos de ensayo agregar 1ml de solución reactivo de molibdato, mezclar, adicionar 5ml de solución de ácido aminonaftol sulfónico, mezclar y determinar las absorbancias de la solución estándar y de la solución problema en un espectrofotómetro adecuado, a 660 nm, después de 10 minutos de haber adicionado la solución de ácido aminonaftol sulfónico; utilizando como referencia la solución del blanco de reactivos preparado.

## R E S U L T A D O S   E X P E R I M E N T A L E S

Inicialmente se estudió el comportamiento de la solubilidad del esmalte dentario empleando agua destilada como solución de prueba (tercer tratamiento) y variando el tiempo de agitación.

Los datos obtenidos son los que se reportan en la tabla # 1 y en la # 3; son los correspondientes a promedios de concentración de calcio en las muestras analizadas (tabla # 1) y a promedios de concentración de fósforo (tabla # 3); empleando en los tratamientos 1º , 2º y 4º , solución reguladora de ácido acético/acetato de sodio 0.2M pH 4.

En el tercer tratamiento se utilizó agua destilada. La concentración está expresada en nanomoles/ml.

En esta prueba se observa un incremento gradual de las concentraciones de calcio y de fósforo liberados conforme se aumenta el tiempo de exposición de la muestra.

TABLA # 1

Promedios de concentración correspondientes a calcio; expresados en nanomoles/ml.

Tratamiento	TIEMPO EN MINUTOS				
	#	5	10	20	30
1		28.05	21.90	89.00	138.00
2		30.50	31.40	85.25	133.33
3		00.00	00.00	00.00	000.00
4		11.40	89.50	90.25	149.30
$\Sigma X$		69.95	142.80	264.48	420.63
$\bar{X}$		23.31	47.60	88.16	140.21

$\bar{X}$  = Promedio de los tratamientos 1, 2 y 4.

ANALISIS DE VARIANZA DE 1 VIA PARA LA CONCENTRACION DE CALCIO

<u>Origen de Variación</u>	<u>S de Cuad</u>	<u>G Lib</u>	<u>Varianza</u>	<u>F</u>	<u>V. Crít.</u>
Entre Tratamientos	23541.98	3	7847.32	30.91	4.07*
Dentro de Tratam	3046.47	8	253.87		

\* Valor de F para 0.95

La diferencia entre tratamientos es significativa.

Con objeto de hacer más manejables los datos obtenidos, se transformaron en velocidad de disolución; dividiendo el producto de la concentración por volumen, entre el producto del tiempo de exposición por área del círculo de esmalte.

Diámetro del círculo: 5.5 mm

Area del círculo:  $3.1416 (5.5/2)^2 = 23.758 \text{ mm}^2$

Velocidad de disolución =  $\frac{\text{Concentración} \times \text{volumen}}{\text{tiempo} \times \text{área}}$

Velocidad de disolución expresada en nanomoles/min.  $\text{mm}^2$

TABLA # 2

Promedios de velocidad de disolución correspondientes a calcio.

Tratamiento	TIEMPO EN MINUTOS				
	#	5	10	20	30
1		2.36	0.92	1.87	1.93
2		2.56	1.32	1.79	1.87
3		0.00	0.00	0.00	0.00
4		0.96	3.76	1.90	2.09
$\Sigma X$		5.88	6.00	5.56	5.89
$\bar{X}$		1.96	2.00	1.85	1.96

TABLA PARA EL ANALISIS DE VARIANZA

Origen de Variación	S de Cuad	G Lib	Varianza	F	V. Crít
Entre tratamientos	0.02259	3	0.00753	0.009577	4.07*
Dentro de Tratam	6.29	8	0.7862		

\* Para 0.95

No hay diferencia significativa entre la velocidad de cada tratamiento.

TABLA # 3

Concentración de fósforo utilizando el mismo procedimiento que el descrito en la Tabla # 1. La concentración está expresada en nanomoles/ml.

Datos correspondientes a promedios de concentraciones.

Tratamiento	TIEMPO EN MINUTOS				
	#	5	10	20	30
1		38.91	56.61	108.90	154.30
2		50.30	84.65	123.60	174.00
3		00.00	00.00	000.00	000.00
4		31.00	86.35	117.80	159.70
X		120.21	227.61	350.30	488.00
$\bar{X}$		40.07	75.87	116.76	162.66

$\bar{X}$  = Promedio de los tratamientos 1, 2 y 4.

TABLA PARA EL ANALISIS DE VARIANZA

Origen de Variación	S de Cuad	G Lib	Varianza	F	V. Crít.
Entre Tratamientos	25130.22	3	8376.74	63.04	4.07*
Dentro de Tratam	1063.02	8	132.87		

\*Valor de F para 0.95

La diferencia entre tratamientos es significativa.

Al igual que con las concentraciones de calcio, se observa un incremento gradual de fósforo liberado al aumentar el tiempo

de exposición de las muestras.

TABLA # 4

Velocidad de disolución del esmalte dentario en función de la disolución de fósforo.

Tratamiento	TIEMPO EN MINUTOS				
	#	5	10	20	30
1		3.27	2.38	2.29	2.16
2		4.23	3.56	2.60	2.44
3		0.00	0.00	0.00	0.00
4		2.60	3.63	2.47	2.24
X		10.10	9.57	7.36	6.84
$\bar{X}$		3.36	3.19	2.45	2.28

TABLA PARA EL ANALISIS DE VARIANZA

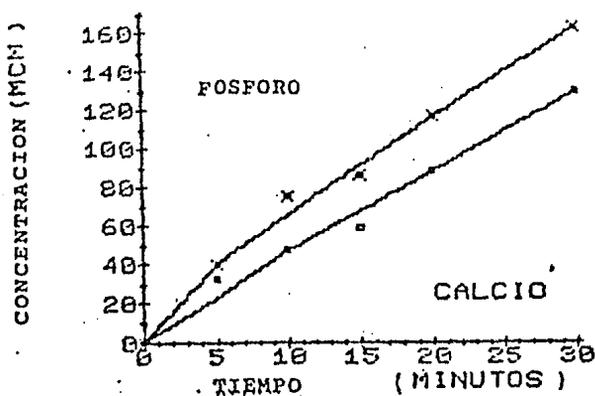
Origen de Variación	S de Cuad	G Lib	Varianza	F	V. Crít.
Entre Tratamientos	2.5525	3	0.8508	2.98	4.07*
Dentro de Tratam	2.2825	8	0.2853		

\* Valor de F para 0.95

No hay diferencia significativa entre la velocidad de cada -

tratamiento.

De acuerdo a los datos obtenidos, se observa que la velocidad de disolución es constante tanto para calcio como para fósforo. Esto se encuentra representado en la gráfica que se muestra con los datos obtenidos experimentalmente.



En la segunda fase del trabajo se utilizaron como soluciones de prueba en el tercer tratamiento, soluciones de cloruro de tantalano con diferentes concentraciones y con diferentes tiempos de exposición. A continuación se muestran los resultados obtenidos en el 2º y 4º tratamiento.

Se informan los datos de dichos tratamientos por considerar que ellos son los que reflejan si hubo o no protección del esmalte.

TABLA # 5

Determinación de calcio empleando en el tercer tratamiento como solución de prueba cloruro de lantano al 2%.

Tiempo en minutos (Tratamiento)	Concentración de calcio en nM/m.		Velocidad de disolución de calcio	
	(2%)	(4%)	(2%)	(4%)
10	48.50	00.00	2.04	0.00
	55.20	38.00	2.32	1.59
	52.20	00.00	2.19	0.00
	19.40	00.00	0.81	0.00
	17.90	00.00	0.75	0.00
	00.00	44.00	0.00	1.85
	17.90	46.20	0.75	1.94
	Prueba de t:	$\bar{X}=30.157$ P < 25.32%	$\bar{X}=18.31$	$\bar{X}=1.26$ P < 33.2%
20	82.80	13.40	1.74	0.28
	55.20	00.00	1.16	0.00
	160.10	9.70	3.36	0.20
	65.60	19.40	1.38	0.40
	22.40	11.90	0.47	0.25
	48.50	2.20	1.02	0.04
	60.40	32.10	1.27	0.67
	54.40	00.00	1.14	0.00
	88.80	30.60	1.86	0.64
Prueba de t:	$\bar{X}=70.91$ P < 0.005%	$\bar{X}=13.25$	$\bar{X}=1.48$ P < 0.22%	$\bar{X}=0.27$
30	169.40	60.90	2.37	0.85
	107.40	11.90	1.50	0.16
	164.10	50.70	2.30	0.71
	226.10	120.10	3.17	1.68
	268.60	101.50	3.76	1.42
	23.30	17.10	0.32	0.24
	154.40	64.20	2.16	0.90
	Prueba de t:	$\bar{X}=159.04$ P < 0.075%	$\bar{X}=60.91$	$\bar{X}=2.22$ P < 0.002%

TABLA # 6

Determinación de fósforo, empleando en el tercer tratamiento co mo solución de prueba cloruro de lantano al 2%.

Tiempo en minutos (Tratamiento)	Concentración de fósforo en nM/ml.		Velocidad de disolución de fósforo.	
	(2°)	(4°)	(2°)	(4°)
10	60.30	16.70	2.53	0.70
	48.30	12.00	2.03	0.50
	59.70	18.10	2.51	0.76
	41.60	28.80	1.75	1.21
	6.00	22.80	0.25	0.95
	52.30	25.50	2.20	1.07
Prueba de t:	$\bar{X}=44.7$ $P < 1.19\%$	$\bar{X}=20.65$	$\bar{X}=1.87$ $P < 1.17\%$	$\bar{X}=0.86$
20	101.90	32.80	2.14	0.69
	73.80	14.00	1.55	0.29
	163.00	28.10	3.43	0.59
	138.00	36.90	2.90	0.77
	100.60	32.80	2.11	0.69
	74.40	24.10	1.56	0.50
	87.80	46.90	1.84	0.98
	85.80	21.40	1.80	0.45
	93.20	20.10	1.96	0.42
	60.00	49.60	1.26	1.04
Prueba de t:	$\bar{X}=97.85$ $P < 0.15\%$	$\bar{X}=30.67$	$\bar{X}=2.05$ $P < 0.19\%$	$\bar{X}=0.64$
30	138.80	75.10	1.94	1.05
	108.00	41.60	1.51	0.58
	148.90	61.00	2.08	0.85
	193.20	108.00	2.71	1.51
	222.00	114.00	3.11	1.59
	83.20	38.90	1.16	0.54
	154.30	67.00	2.16	0.94
Prueba de t:	$\bar{X}=149.77$ $P < 0.002\%$	$\bar{X}=72.22$	$\bar{X}=2.09$ $P < 0.002\%$	$\bar{X}=1.00$

Resultados plenamente satisfactorios, se observaron al utilizar solución de cloruro de lantano al 2%, con un tiempo de exposición de 20 minutos, ya que se logra un alto grado de protección es decir, se obtienen concentraciones muy bajas de calcio y de fósforo después del tratamiento con la solución de prueba. Al compararse las concentraciones y velocidades obtenidas en el -segundo y cuarto tratamientos, se observa una disminución en la solubilidad del esmalte dentario.

Con el objeto de calcular la protección conferida al esmalte - por cada una de las soluciones de prueba, se hizo la siguiente conversión de datos:

$$\% \text{ de protección} = 100 - \frac{\text{Concentración en el 4º tratamiento}}{\text{Concentración en el 2º tratamiento}} \times 100$$

TABLA # 7

Protección conferida al utilizar solución de cloruro de lantano al 2% como solución de prueba en el tercer tratamiento, con diferentes tiempos de exposición.

Sal	Minutos de exposición	% de protección	
		Calcio	Fósforo
LaCl <sub>3</sub> 2%	10	39.30	58.00
	20	75.00	61.00
	30	64.00	51.40

TABLA # 8

Protección conferida al utilizar como solución de prueba en el tercer tratamiento soluciones de cloruro de lantano de diferentes concentraciones, con tiempo de exposición constante de 20 minutos.

Concentración de $\text{LaCl}_3$	minutos	% de protección	
		Calcio	Fósforo
0.5%	20	48.60	44.30
1.0%	20	75.00	40.80
2.0%	20	75.00	61.00
3.0%	20	39.50	46.10

Puede observarse que los óptimos resultados tanto para calcio como para fósforo, corresponden a la solución al 2%, con 20 minutos de exposición.

En la tercera fase del trabajo, se comparó la protección conferida al esmalte dentario por el cloruro de lantano, con la protección que confiere el fluoruro de sodio, que es la base de los fluoruros empleados en la prevención de la caries. Se comparó el porcentaje de protección de las dos sales.

A continuación se muestran los resultados.

TABLA # 9

Datos de protección del esmalte, al disminuir la disolución de calcio y de fósforo al utilizar como solución de prueba en el tercer tratamiento, soluciones de fluoruro de sodio con dife--

rentes concentraciones, con tiempo de exposición constante de 20 minutos.

Concentración de NaF	minutos	% de protección	
		Calcio	Fósforo
0.5%	20	72.80	54.70
1.0%	20	77.50	48.10
2.0%	20	69.00	8.30
3.0%	20	77.00	43.60

TABLA # 10

Protección del esmalte al disminuir la disolución de calcio y de fósforo, al utilizar como solución de prueba en el tercer tratamiento, solución de fluoruro de sodio al 2% con diferentes tiempos de exposición.

Solución NaF	minutos de exposición	% de protección	
		Calcio	Fósforo
2%	10	54.60	00.00
	20	69.00	8.30
	30	51.60	31.50

TABLA # 11

Comparación de la protección del esmalte dentario al dismi --

nuír la disolución de calcio y de fósforo, conferida por las -  
 dos sustancias en estudio, a la misma concentración (2%) y con  
 el mismo tiempo de exposición (20 minutos). Es decir, en esta  
 tabla se toman las condiciones óptimas para el cloruro de lan-  
 tano.

Solución empleada	Tiempo de exposición	% de protección	
		Calcio	Fósforo
LaCl <sub>3</sub> 2%	20 minutos	75.00	61.00
NaF 2%	20 minutos	69.00	8.30

TABLA # 12

Comparación de la protección del esmalte dentario al disminuir  
 la disolución de calcio y de fósforo, conferida por las dos -  
 sustancias en estudio, tomando las concentraciones óptimas de  
 cada una.

Solución empleada	Tiempo de exposición	% de protección	
		Calcio	Fósforo
LaCl <sub>3</sub> 2%	20 minutos	75.00	61.00
NaF 1%	20 minutos	77.50	48.10

## CONCLUSIONES

- A) En las condiciones en que se efectuaron las pruebas en el esmalte dentario, cuando solamente se sumerjió en amortiguador pH 4 y en agua destilada, se pudo observar que:
1. La velocidad de disolución del esmalte dentario es -- constante.
  2. Al aumentar el tiempo de exposición del esmalte dentario en amortiguador pH4, se observó un incremento gradual de las concentraciones de calcio y de fósforo disueltos.
- B) El cloruro de lantano sí confiere protección al esmalte dentario disminuyendo su solubilidad.
- C) La concentración óptima del cloruro de lantano en solución es del 2%, ya que es con la que se logró mayor protección al esmalte dentario, disminuyendo la disolución de calcio y de fósforo.
- D) El tiempo de exposición a partir del que se obtuvieron resultados plenamente satisfactorios, fué de 20 minutos.
- E) Al comparar la protección conferida al esmalte dentario por el cloruro de lantano, con la conferida por el fluoruro de sodio, podemos observar que ambos proporcionan protección relativamente similar.
- F) Por las conclusiones mencionadas, se propone el uso de so

lución al 2% de cloruro de lantano, como una posibilidad para proteger el esmalte dentario, en la prevención de la caries.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. B. Tutchweber, R. Trost M. Salas and W. Sieck; Effect of - Praseodymium on hepatocytes and Kupfer cells in the rat., - Can. J. Physiol. Pharmacol., 54 : 898 - 906, 1976.
2. Barrow M. G., Química Física para las Ciencias de la vida, Ed. Reverté S. A. pág. 52; 1976.
3. Biltz R.M. and Pellegrino E.D. The hydroxyl content of calcified tissue mineral; Calcified tissue Res. 7 : 259 - 263, 1971.
4. Buttner Gertrud, Ph. D. and Joseph C.M. : Te solubility of intact dental enamel treated with potential anticariogenic agents Juornal Dental Res. 37 : 412 - 414, 1958.
5. C.H. Fiske J. Subbarow: The colorimetric determination of phosphorus; J. Biol. Chem., 66 : 375 - 379, 1925.
6. C. Robinson, H.D. Brigges and P.J. Alkinson, Histology of - enamel organ and chemical composition of adjacent enamel in rat incisors Calcified tissue Int., 33 : 513 - 520, 1981.
7. Conde González Carlos : S. mutans como un modelo de rela--- ción huésped parásito; Revista de Infectología, 11 : Marzo, 1982.
8. Connors K.A., A Textbook of Pharmaceutical Analysis, A Wiley Interscience Publication, 2nd. ed., p.p. 64 - 69, 1975.
9. Curzon M.E.J., M.S., B.D.S, F.L. Losce : Dental Caries and Trace element composition of whole human enamel : Eastern United States; JADA, 94 : June, 1146 - 1150, 1977.

10. Diamond Moses, Anatomía dental, Unión Tipográfica Ed. Hisp Cap. I - IV, 1962.
11. Driessens F.C.M. : Fluoride incorporation and apatite solubility, Caries Res., 7 : 294 - 314, 1973.
12. F.C. Besie D.D.S. Bayard M.R. : Composition and structure of dental enamel as they relate to its solubility, JADA, - 91 : Sept., 594 - 601, 1975.
13. Fernández Gavarrón Federico : El equilibrio Dinámico del - calcio; Temas Bioquímicos de actualidad, UNAM, México, pp. 41, 1978.
14. Fernández Gavarrón Federico : Curvas de solubilidad en función de acidez, Rev. Soc. Quím. de Méx., Esc. Nal. de Odontología, C.U., Méx., Jul. 1966.
15. Fernández Gavarrón Federico : Mesa redonda sobre matemáticas, estadística y disciplinas Químico - Biológicas, Esc. Nal. de Odontología, UNAM, C.U., Rev. Soc. Quím. de Méx., Sept., 1966.
16. G. dos Remedios Cristóbal : Lanthanide ion probes of calcium - binding sites on cellular membranes, Cell Calcium, 2 : 29 - 51 1981.
17. Gron P. : The demonstration of a Dicalcium phosphate stabilizing factor in human saliva, Archs. Oral. Biol. 18 : 1379 - 1383, 1973.
18. H. William Gilmore, Melvin R. Lund, Odontología Operatoria 2° ed., Ed. Interamericana, 1969.
19. Haley T. Pharmacology and Toxicology of the rare earth elements J. Pharm. Sci., 54 : 663 - 670, 1965.

20. Hardwick, J.L. & Martin C.J., A pilot study using mass -  
spectrometry for the stimation of the trace elements con--  
tent of dental tissues, *Helv. Odont. Acta* 11, 62 - 79, -  
1967.
21. Harris Daniel C., *Quantitative Chemical Analysis*; W.H. -  
Freeman and Co., Sn. Francisco 1982.
22. Hogdahl, O.T., Melson S. & Bowen U.T., Neutron activation  
analysis of Lanthanide elements in sea water: In trace -  
inorganics in water D.W. Hood Ed.; *Advances in chemistry*  
series, No. 73, American Chemical Society, Washington D.C.  
p.p. 308 - 325, 1968.
23. J.R. Smid and B.J. Kruger : A microspectrophotometric Ana-  
lysis of the effect of fluoride on inmature enamel matrix  
protein of rat molar teeth; *Calcified Tissue Int.* 30 : 57  
- 66, 1980.
24. K. Varughese and E.C. Moreno : Crystal growth of calcium -  
apatites in dilute solutions containing fluoride, *Calcified*  
*Tissue Int.* 33 : 431 - 439, 1981.
25. Kenneth G. Nelson and Higuchi William I.: Mechanism of -  
fluoride uptake by hidroxyapatite from acidic Fluoride so-  
lutions : Theoretical considerations. *J. dent. Res.*, Nov.  
- Dic., 49 : 1541 - 1547, 1970.
26. Kiker G. C., *Rare earths in: Mineral metabolism* (C. L. Co-  
mar, F Bronner, eds.), Vol. II, part B; Academic Press,  
N.Y. and London p.p. 499 - 541, 1962.
27. Larsen Joost M. F.R. Von Fehr and J.M. Birkeland : Effect  
of fluorode on the saturation of an acetate buffer with -  
respect to hydroxyapatite, *Arch. Oral Biol.*, 21 : 723 -  
728, 1976.
28. Lazzari Eugene P. *Dental Biochemistry*, Lea and Febiger, -  
2nd. Ed Philadelphia, 1976.

29. Lught W. Van der, Knotinerus D.I. and Young R.A. ; NMR -  
determination of fluoride position in mineral hydroxyapatite,  
*Caries Res.* 4 : 89 - 95, 1970.
  
30. McCann H.G.: The solubility of fluoroapatite and its relationship  
to that of calcium fluoride, *Arch. Oral Biol.*, 13  
: 987 - 1001, 1968.
  
31. Martin R. Bruce and Frederick S. Richardson : Lanthanides  
as ion probes for calcium in biological systems, *Quarterly  
Review of Biophysics*, 12 : 181 - 209, 1979.
  
32. Martindale, *The Extrapharmacopoeia*, 27th ed., The Pharmaceutical  
Press, London, p.p. 617, 1977.
  
33. Merck Index, 9th. ed., Merck Co. Inc., 1976.
  
34. Moreno E.C. Gregory T.M. and Brown W.E. : Preparation and  
solubility of Hydroxyapatite, *J. Res. Nat. Bur. Stand.* 72A  
773 - 782, 1968.
  
35. N.C. Blumenthal, F. Betts, and A. S. Posner : Formation and  
structure of calcium deficient hydroxyapatite, *Calcified  
Tissue Int.*, 33 : 111 - 117, 1981.
  
36. N.N. Webster, A simple microspectrophotometric method for  
the determination of serum calcium, *Am. J. Clin. Pathol.* -  
37, 330 - 333, 1962.
  
37. Navia J M.: Effect of minerals on dental caries, *Amer. -  
Chem. Soc.*, Washington, 1970.
  
38. Newman E. W. and Newman W.N., *The chemical Dynamics of -  
bone mineral*, The University of Chicago Press, Cap. II, -  
1958.

39. Nieboer E. : The lanthanide ions as probes in Biological - systems, structure and bonding, 22 : 1-47, 1975.
40. Nolte W.A. : Oral Microbiology and Immunology, 3rd. ed., The C.V. Mosby Co. p.p. 515 - 534, 1977.
41. P. Gron, Saturation of human saliva with calcium phosphates, *Archs. Oral Biol.* 18 : 1385 - 1392, 1973.
42. P. Gron, The state of calcium and inorganic orthophosphate in human saliva, *Archs, Oral Biol.* 18 : 1365 - 1378, 1973.
43. Posner Aaron S., Crystal chemistry of bone mineral, *Physiological Rev.*, 49 : Oct., 760 - 792, 1969.
44. Posner A.S., A Perloff, Refinement of the Hydroxyapatite structure, *Acta Cryst.*, 11 : 308 - 309, 1958.
45. Rae J. James and Charles T. Clegg, The effect of sodium - fluoride on the solubility of calcium phosphates, tooth - enamel and whole teeth in lactic acid, *J. dent. Res.*, 24 : 235 - 237, 1945.
46. Selving Knut A., An ultrastructural study of cementum - formation, *Acta Odontol. Scand.*, 22 : 106 - 115, 1970.
47. Shresta B.M., Mundorff, S.A. & Bibby B.G., Enamel dissolution:  
I. Effects of various agents and titanium tetrafluoride, *J Dent. Res.* 51 : 1561 - 1566, 1972.
48. Steinnes E.S. Dahm and Furseth R., Concentration of rare - earth in dentine and enamel, a pilot study, *Acta Odontol. Scand. (Finland)*, 32 : 125 - 129, 1974.