

Lej 189



ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES

Iztacala U.N.A.M.

CARRERA DE CIRUJANO DENTISTA

**ANALISIS CUANTITATIVO DEL pH SALIVAL Y SU RE-
LACION CON LOS PROCESOS DE FORMACION DEL
CALCULO DENTAL.**

**Martha Velasco Tizcareño
José Humberto Hernández Hernández**

San Juan Iztacala, México, 1982



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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

	Página
I. INTRODUCCION Y REVISION A LA LITERATURA	1
II. MATERIALES Y METODO	27
III. RESULTADOS	57
IV. DISCUSION	68
V. CONCLUSIONES	71
VI. RESUMEN	74
VII. BIBLIOGRAFIA	75

I. INTRODUCCION Y REVISION A LA LITERATURA

El cálculo dental es un depósito fisiopatológico - en los dientes, según los testimonios dicen, no se apreciaba cálculo dental cuando empezó la civilización; sin embargo, fué observado desde los tiempos prehistóricos tanto en las poblaciones primitivas como en las más altas civilizaciones de las poblaciones modernas. La razón predominante de remover los depósitos de cálculo ha sido por motivos higiénicos, por considerarlo un agente nocivo. El estudio - del cálculo dental se inicia con Pierre Fouchard (31) y - continúa a través de los siglos XIX y XX sin haber concluído aún, se ha discutido si el cálculo dental es producto esencial de la saliva ya que ésta forma otras patologías similares de consistencia rocosa (cálculos salivales).

La base del cálculo dental está formada por la película adquirida, que se precipita como si fuera un film - en la superficie limpia de los dientes y subsecuentemente puede ser colonizada por microorganismos, la nucleación y crecimiento de los cristales de fosfato de calcio sucede - igual que las placas que se forman en el área de los conductos salivales formados por calcio y fosfato que se encuentran en la saliva, el cristal se forma por nucleación

heterogénea.

Los cálculos dentales siempre están cubiertos por una capa de placa suave en constante contacto directo con el margen gingival, favoreciendo la retención de nuevas - placas e induciendo con esto a la inflamación crónica, que eventualmente provoca la formación de bolsas periodontales con formación secundaria de cálculo subgingival; los depósitos subgingivales tienen como precursor orgánico fibrina plasma y microorganismos, además de cristales de fosfato - de calcio arrastrados desde el tejido inflamado.

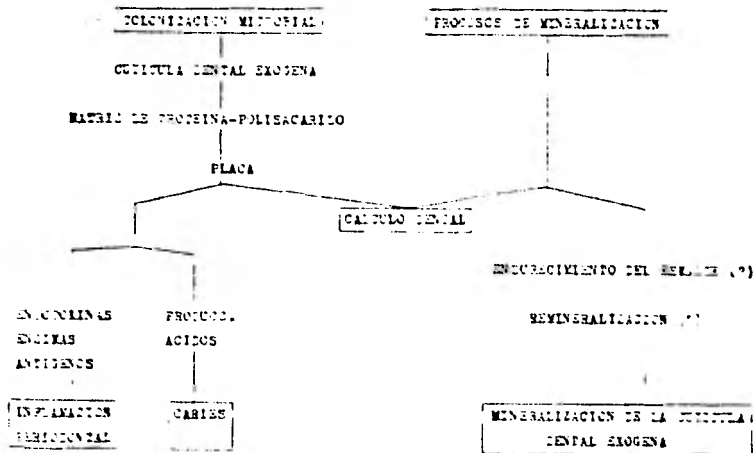


Fig. 1 Representación esquemática de la interrelación dinámica de los procesos orales para la formación del -

cálculo dental.

Se ha investigado desde 1956 una clasificación epidemiológica detallada de la enfermedad periodontal (Índice de Russell ó Índice Periodontal), (70); siendo éste el método más general de colección de datos y que consiste en registrar el porcentaje de dientes afectados por depósitos en una población total de individuos examinados, tal registro no hace referencia a la extensión ni a la calidad de los depósitos, por lo que sólo determina el número de sujetos afectados.

Con el método de Indexing se pueden obtener datos más precisos, permitiendo registrar el promedio prevalente y la calidad por cada individuo en expresión numérica; actualmente puede relacionarse a definiciones rigurosas semicuantitativas: moderado, mucho, bueno ó moderadamente bueno y malo, (12), (32), (45).

En otro intento de interpretar los índices semicuantitativos de depósito, dependiendo de la cantidad y extensión de éste y evaluarlos numéricamente y obtenido para cada diente para facilitar y para una rápida aplicación, se forma un grupo selecto de dientes y sus síntomas, se considera representativo para el individuo en particular, este índice fué introducido en 1960 por Greene y Vermillion (27), lo mínimo es 0 y lo máximo es 12, se evalúan

por separado placa y cálculo, no se incluye la placa superficial del cálculo.

En 1959 Ramfjord (61) desarrolló su índice (Índice de Enfermedad Periodontal) considerando el cálculo supragingival, el cálculo infragingival se consideró en 1961 por Ennever, Sturzenberger y Radicke (16) en el llamado índice de la superficie del cálculo (C.S.I.) el cual no clasifica cantidad ni calidad, sólo su presencia, si o no con respecto a las cuatro superficies dentales de los cuatro incisivos inferiores, lo máximo es 16, este índice sólomente sirve para investigaciones de grupos relativamente grandes de pruebas subjetivas sobre la formación del cálculo y no para el campo epidemiológico. (57)

Las investigaciones epidemiológicas basadas en sistemas indexados no son enteramente válidas para aclarar patogénesis, enfermedad periodontal y etiología de formación.

En los últimos 50 años se han hecho estudios en individuos de varios grupos de edades en Europa, Asia, Norte y Sudamérica, los datos resultantes fluctúan en porcentaje, pero siempre el supragingival se encuentra en mayor cantidad, las investigaciones demuestran que el cálculo se presenta a partir de los 30 años en un porcentaje de 80 al 100 por ciento.

No hay ninguna diferencia entre la gente civilizada y la que habita ciudades menos desarrolladas, no influyen tampoco el modo de vivir, el contenido de flúor en el agua tampoco ejerce ninguna influencia en la cantidad del cálculo dental. (17).

Se conoce muy poco sobre la posible transformación de placa en cálculo, Kisling y Krebs (36) no encontraron relación alguna en 59 adultos ni Schroeder (75) quien usó índices específicos para placa y cálculo en 1137 niños en Zürich Suiza.

Brandtzaeg (7) encontró una correlación entre placa y cálculo en 206 reclutas a quienes observó por años bajo condiciones urbanas y rurales, tabaquismo y frecuencia del cepillado de dientes.

La correlación entre placa-cálculo-incidencia de gingivitis ha atraído cada vez más la atención; King (35) fué de los primeros que intentó clasificar los grados de severidad de gingivitis usando técnicas epidemiológicas.

Ramfjord (62) encontró una cercana relación entre placa-gingivitis en sus investigaciones epidemiológicas en 1600 niños de 11 a 17 años.

McHugh (52) observó 2900 niños de 13 años de edad con higiene oral deficiente, reportó abundancia de placa y en algunos niños cálculo, en los cuales se vió incrementado el proceso inflamatorio, en otro grupo de niños que presentaron cálculo no refirió inflamación considerable.

En investigaciones histoquímicas y micromorfológicas realizadas por Mendel (47), Schroeder (75), Theilande (81), han revelado que el cálculo dental siempre está cubierto por placas nuevas metabólicamente activas, particularmente cerca del borde gingival, es por esto que la relación placa-cálculo-gingivitis es difícil establecerla separadamente.

Greene (27), Barros (4), Littleton (44), Lilienthal (43), experiencias clínicas y epidemiológicas en las que se usaron el índice periodontal para determinar condiciones periodontales; se demostró que las parodontopatías siempre se acompañan de depósitos de cálculo dental de diversas intensidades y explican que la enfermedad periodontal sufre un incremento con la edad, este incremento es resultante de una higiene oral deficiente que llega a ocacionar consecuentemente una considerable pérdida ósea, Shei - (72).

Lilienthal (43) concluyeron que en la adolescencia

las condiciones periodontales son influenciadas por la placa, mientras que en la madurez éstas, son consecuencia de la tendencia a la calcificación, con lo que el cálculo dental llega a ser un factor decisivo en la enfermedad periodontal, lo que ha quedado a discusión es el hecho de que la formación del cálculo tiene áreas de predisposición, - Schei (72), así como que las áreas particularmente predisuestas a pérdida ósea, también existen. En la mayoría de los individuos se encuentran varios depósitos, que van desde la película adquirida que se considera fisiológicamente normal, hasta los depósitos celulares como son: placa dentobacteriana, materia alba y cálculo que son manifestaciones patológicas, es poco lo que se conoce sobre los procesos orales que dirigen la formación de depósitos o que favorecen su desarrollo.

Los principales factores involucrados en la formación de depósitos dentales son: fluidos orales como saliva, secreciones de pequeñas glándulas mucosas y fluidos del intersticio gingival, la microflora gingival, los factores externos que pueden afectar el desarrollo de los depósitos como la dieta y la calidad de la higiene.

Algunos autores consideran a la saliva como responsable de la formación del cálculo supragingival y con frecuencia del subgingival, Prinz (59), Bibby (5), Rosebury -

(69), Sand (71), Hodge (30), Mendel (47), por la comparación que hacen con la formación de cálculos en los conductos salivales, además por proporcionar las materias primas: calcio, potasio, magnesio que son indispensables para la formación de cristales de fosfato de calcio.

Hasta hace algunos años el cálculo dental fué considerado como el resultado de la precipitación de calcio y fosfato de una solución coloidal supersaturada -la saliva-, Sand (71), Hodge (30), Leung (42), dicha precipitación se acumula en una matriz (placa) de mucopolisacáridos y microbial ó directamente sobre la superficie de los dientes en la forma de "calcoglobulli", según Wolf (86), Mannenberg (49), lo siguiente fué considerado como responsable de la precipitación:

1. Cambios fisicoquímicos en la saliva (coloides protectores) que son aptos para la inactividad de la saliva - Prinz (59), Karlström (34).
2. Secreciones glandulares con concentración de hidrógeno reducido, favorable para perder CO_2 durante la secreción. Bachra (3), Burchard (9), Moore (55), Sand (71), Hodge (30), Leung (42), proceso posiblemente afectado por la enzima anhidridocarbónica, Rapp (63), Sand (71).

3. Formación de amonía en la saliva o en la placa Roberg (67), Frank (22), Jacobson (31).
4. Desprendimiento de fosfatasa de la encía o de las cel - das epiteliales, Adamsom (1), Smith (76).
5. Actividad microbial representada por la producción de - fosfatasa o amonía por los actinomyces, Bulleid (8), - Naeslund (58).

Las explicaciones anteriores están basadas en dos acepciones;

- 1º Todo calcio y fosfato presentes en la saliva son en for ma ionizada.
- 2º La transformación a fosfato de calcio sólido toma lugar cuando existe supersaturación, por medio de una simple precipitación.

Ambas acepciones han estado sometidas a prueba de errores, las investigaciones de Krasnow (37), Schmidt (73), Kusunoki (40), ya indicaban que una fracción de calcio no ionizada debe estar presente en la saliva.

Dreisbach (15), analizó la saliva humana por esti-

mulación y encontró que entre el 4 y 20 por ciento no era ultrafiltrable y concluyó que más del 50 por ciento es un complejo confinado y que una parte del fosfato inorgánico era ultrafiltrable, explicó también la capacidad de la sa liva para ligar calcio en una cantidad relativa de protefnas salivales sin referir al responsable de la unión, creyendo que era una segregación mucosa y el pH de la solu- ción: a menor pH menor calcio y a mayor pH mayor calcio.

El pH depende de la relación de calcio y glicoprotefnas salival, datos más recientes indican que del 25 al 40 por ciento de calcio no es ultrafiltrable (no ionizado) y cerca de la mitad está en forma ionizada; a pH de 6.5 a 4.5 la porción ultrafiltrable del contenido de calcio es casi del 100 por ciento.

Gow (26), encontró que del 12.2 al 79.5 por ciento del total del calcio del fluido oral inestimulado fué infiltrable y no encontró relación entre el calcio no ultrafiltrable y el pH, asumió que el calcio ultrafiltrable debe estar presente en una protefna o en el complejo de fosfato de calcio, después de la eliminación de fosfatos inorgánicos sólo el 8.3 al 17.5 por ciento del total del calcio permaneció sin ultrafiltración.

Vogel (83), observó que el total de calcio contenido

do en el fluido parotídeo y submaxilar fué ionizado dependiendo del pH de la saliva.

Gow (26), despertó la pregunta de que cuales otros mecanismos influyen en la unión de proteína-calcio en el fluido salival que intervengan para la alta proporción de calcio no ionizado.

Los estudios hechos por Morrow (56), implicaron complejos de bicarbonatos, mientras que Ericsson (18), dudó que el CO_2 contenido en el fluido oral no juegue un papel importante para la supersaturación del fluido con calcio y fosfato.

El calcio y el fosfato que forman el cálculo dental y el magnesio incorporado a los cristales siendo éste disminuido en saliva estimulada y además depende también de la concentración de magnesio en el plasma, Gow (26), encontró que existe de 0.25 a 0.50 mg por ciento en saliva no estimulada y la porción ultrafiltrable estaba entre 8.4 a 49.6 por ciento dependiendo del pH de la saliva.

Ericsson (18), postuló que todo el calcio salival está presente en forma ionizada, Schmidt (73), consideró el componente de calcio ultrafiltrable como ionizado, por consiguiente ambos autores calcularon la supersaturación

en premisas incorrectas.

La saliva submaxilar y parotídea estimulada fueron supersaturadas e incrementadas con un alto grado de pH, el incremento del pH aumenta la pérdida de CO_2 por consiguiente se pueden esperar altos grados de saturación en la saliva al alcanzar la cavidad oral. La supersaturación del fluido oral ha sido recientemente considerada como un prerequisite fisiológico para la precipitación de fosfato de calcio, en el presente, la mineralización en vuelve dos conceptos básicos generales:

1. La nucleación de granos del cristal.
2. Crecimiento del cristal.

Se entiende por nucleación un cambio continuo bajo ciertas condiciones, resultante de la formación o unión de fragmentos iniciales formando una base estable o grano de cristal. Existen dos tipos de nucleación:

- a). Nucleación homogénea espontánea o precipitación en una solución metaestable o inestable.
- b). Nucleación heterogénea en solución metaestable que ocurre con la presencia de una solución saturada de sus

trato bajo la influencia de catálisis o por inducción de un sistema llamado germinador (sustancias ajenas a una solución impura).

La nucleación homogénea de calcio y fosfato comienza por la agregación de iones o moléculas en un precipitado, siendo el mecanismo bimolecular y no ocurre por aglomeración simultánea de grandes cantidades de moléculas, requiere más calcio y fosfato que la heterogénea.

El cristal aumenta "automáticamente" según la ley física " en presencia de una cantidad suficiente de sustratos y cuando pequeños cristales son más solubles que el macrocristal, ocurre la recristalización ".

La nucleación heterogénea requiere más energía y un alto contenido de calcio y fosfato, por lo tanto sólo necesita estar presente y en orden para establecer la mineralización en movimiento y/o para mantenerla. Por lo tanto la nucleación homogénea sólo ocurre en condiciones *in vitro*.

Según Glimcher (24), Bachra (3), explican que la nucleación heterogénea está inducida por una interacción inespecífica entre el sustrato y los cristales.

Las secreciones salivales son complejas, con niveles suficientes de elementos inorgánicos, varias proteínas, carbohidratos, calcio y fosfato no ultrafiltrables que pueden ser considerados como una condición de "pre-nucleación" especialmente en vista de la mineralización de proteínas salivales desnaturalizadas y debe ser excluida la idea de una precipitación de fosfato de calcio por una nucleación espontánea.

Los constituyentes del cálculo están presentes en forma de cristales, siendo los de calcio, tetra Ca-H-dihidroxiapatita, octacalcio-fosfato (OCP), brushita (B), Whitlockita (W) e hidroxapatita (H-A), la nucleación de los cristales del cálculo se forman siempre en condiciones idénticas ó sobre una base no homogénea de matriz del cálculo formada a su vez por unidades heterogéneas con glicoproteínas salivales desnaturalizadas, polisacáridos extracelulares producidos por microorganismos Meckel (53), Armstrong (2), Krasse (38), Gibbons (23), Socransky (77), Stralfors (78), Critchley (11), McDougall (51), Mendel (47). Las concentraciones de magnesio influyen en la formación de cristales de fosfato de calcio Gron (28).

El mecanismo de formación de cristales de fosfato de calcio debe buscarse en la nucleación heterogénea que puede ser inducida por diferentes compuestos de la matriz

orgánica -placa- y en condiciones alcalinas, presencia de iones ajenos como flúor y magnesio, el aumento de cristales puede llevarse a cabo en condiciones poco extremas - hasta la saturación normal de calcio y fosfato del fluido oral.

Varios autores han examinado la cuestión de que - si el fluido oral de personas carentes de cálculo contienen menos calcio y fosfato inorgánicos que los contenidos en personas con depósitos de cálculo, algunos investigadores confirmaron esta hipótesis Tenenbaum (80), Szymczyk - (79), mientras que otros la han rechazado Rapp (63).

La teoría de la concentración del ión hidrógeno - crítico postulada por Fosdick (20), Rapp (63), encontraron que el pH siempre estaba por arriba del pH crítico en personas formadoras de cálculo.

Se observó además la gran variabilidad de la saliva matutina y la restante en el contenido de ácido fosfórico que usualmente no se ve en las mañanas, Szymczyk - (79), fué capaz de demostrar que el tipo de saliva con - concentración de calcio dializable, fosfatos inorgánicos y calcio no dializable en personas con cálculo y sin cálculo, siendo en personas que no presentaban depósitos, menores las concentraciones e igual el flujo salival y el -

pH, según Mendel (47).

Otros autores estudiaron a sujetos formadores y no formadores de cálculo y no encontraron ninguna diferencia en las concentraciones de Ca, PO_4 , Na, Cl, se observó que en personas formadoras de cálculo tienen un nivel muy bajo de nitrógeno y mucosidad y una elevada cantidad de calcio ultrafiltrable, concluyendo que en la porción no ultrafiltrable de calcio debe ser confinada a la mucosa.

Szymczyk (79), encontró que en la saliva de la mañana de los formadores de cálculo contiene cuatro veces el total de proteínas solubles del ácido sulfosalicílico que la saliva de las personas sin cálculo, consideró a la proteína salival como una sustancia que contribuye a la formación de la matriz orgánica del cálculo por su habilidad para ligar fosfato de calcio en la forma de una enzima, además describió la influencia del ácido fosfórico en la saliva en ayunas, los efectos del contenido de proteínas fue descrito por Mendel (47).

Tsuiki (82) demostró que el componente responsable de la viscosidad de la saliva es agua soluble glicoproteínada con 25 por ciento de proteínas, hexosamina, ácido silícico y hexosa y se cree que la glicoproteína es capaz de ligar calcio.

Una persona con mucho cálculo tiene secreciones ricas en protefnas, fluido bajo en viscosidad y pocas glicoprotefnas, Mendel (47) reveló que los formadores de cálculo tienen menos fucosa y hexosa comparando con protefna.

Según estudios en microscopio electrónico de una matriz de cálculo organizado y varias secreciones salivales, encontraron una semejanza de fracción de carbohidratos por lo que se conjeturó que la placa puede ser un producto del fluido oral por la precipitación de la glicoprotefnas o como un efecto del ácido que fué considerado improbable por Dawes (13), posteriormente se realizaron otros estudios del cálculo descalcificado en los que se encontró que no estaba provisto de glicoprotefnas y se consideró que el cálculo puede ser producto puramente microbial, Leach (41).

Estas investigaciones indicaron que la matriz de la placa del cálculo puede ser: una mucosidad salival alterada por microorganismos, exclusivamente un producto de microorganismos o ambas. Investigaciones recientes indican que la mayor proporción de matriz de placa puede ser producida por microorganismos Wood (87), McDougal (51), King (35), Manly (48), Critchley (11), y que las sustancias contenidas con dextranas y levanas. El tipo de cristal de fosfato de calcio parece depender de la calidad de secreción

y su pH siendo esto aún obscuro, la flora microbiana juega un papel importante en el desarrollo del cálculo dental.

Los primeros investigadores encontraron que la cantidad de cálculo dental formado y el grado de viscosidad de la saliva están interrelacionados, la glicoproteína contenida en el fluido salival se refleja en su viscosidad, los niveles de glicoproteína pueden ser importantes para la aglomeración de calcio, fosfato y por consecuencia pueden ser los pre-requisitos de la nucleación del cristal (grado de saturación, pH, proporciones de fosfato y calcio ionizado y disponible libremente). Por lo tanto, la viscosidad del fluido oral tiene la particular importancia en investigaciones del cálculo dental.

Kusunoki (40), encontró que a las personas a las que no se les había formado cálculo dental, tenían mayor viscosidad en su saliva mixta que las personas que tenían depósitos de cálculo. Este descubrimiento fue confirmado por Kröger (39). Las cantidades de cálculo supragingival disminuyeron con el aumento de la viscosidad de la saliva mixta no estimulada.

Kröger (39), también descubrió que el promedio de viscosidad del fluido oral disminuyó con el incremento de la edad de los sujetos sometidos a prueba. Simultáneamente

La tendencia a formar cálculo dental aumentó. Los descu -
brimientos se basaron apenas en la clasificación de los -
sujetos como formadores ligeros o constantes de cálculo -
dental.

La cantidad de cálculos presentados, después de
un periodo de formación indefinido, fué valorada con la -
ayuda de índices Kusunoki (40) y Kröger (34).

En varios experimentos con diferentes grupos de -
sujetos de prueba, se probó la viscosidad y se indagaron
los pesos secos de los depósitos. Incluso durante el tiempo
de formación de los cálculos (7 días) una relación de
depósitos y la viscosidad del fluido oral casi podía de -
mostrarse, al final del cuarto día del periodo promedio -
de formación de los depósitos los valores de peso seco -
fluctuaron entre 0.26 y 1.48 mgr.; los valores de la visco-
sidad relativa correspondiente resultaron ser entre -
1.66 y 3.05. La diferencia entre los pares de valores indi-
viduales se explicó fácilmente por casualidad. Hacia el
fin de los siete días el depósito de peso seco cambió de
0.68 a 1.61 mgr. y los valores de la viscosidad fluctuaron
entre 1.4 y 4.52. Una tendencia hacia los valores de
viscosidad más bajos simultáneamente con pesos secos mayores
se desarrolló.

Los valores de viscosidad se evaluaron con estadísticas por determinaciones dobles en tres períodos con intervalos de una semana. Fueron muy importantes las diferencias entre los sujetos de prueba, así como variaciones de los valores en cada sujeto de un período de formación al siguiente. Las diferencias entre los valores principales por período fueron igualmente importantes.

Tales diferencias en los valores de viscosidad más bien restringieron la validez relacionada con los depósitos en peso seco. Se sabe que la viscosidad de la saliva varía incluso sobre un período de 24 horas entre los valores bajos en la mañana y los valores altos en la tarde - Möller (54), Dewar (14), Wannemacher (84).

El método por el cual se obtiene la saliva por un lado Ratje (65), Ericsson (18), y los factores psico-endógenos por el otro, también afectan el grado de viscosidad, Biryukow (6).

A pesar de todo, los valores principales de viscosidad armonizan entre los grupos que se han investigado y también concordaron con los descubrimientos hechos y reportados por otros autores, Möller (54).

En un grupo de diez sujetos de prueba usados para

estudios con microscopio electrónico y rayos X, los valores relativos de la viscosidad del fluido oral mixto se compararon con pesos secos de placas de cálculos viejas de 3, 5, 8 y 14 días, Schroeder (74). Se demostró que los depósitos de peso seco que crecieron rápidamente y de forma escarpada desde el quinto día aproximadamente en adelante, fueron acompañadas por valores de viscosidad cada vez menores.

Una tendencia hacia una correlación negativa fue, de manera estadística, ligeramente importante después de ocho días de la formación de los cálculos, pero fue más importante al final del décimo cuarto día del período de formación. Los coeficientes de regresión y correlación que al principio fueron ligeramente positivos, después de tres días se volvieron negativos después de un período de formación de cinco días.

Los coeficientes ordenados se comportaron de forma similar por lo tanto, con el crecimiento de "edad" de las placas de cálculos, la correlación negativa entre los depósitos de peso seco y el grado de viscosidad se vuelve más y más discutida.

Los sujetos con un fluido oral altamente viscoso formaron 1.139 y 1.531 mgr. de cálculos dentales después de 14 días, mientras que los sujetos con una viscosidad muy baja, alcanzaron los mismos pesos de depósito antes de los

5 días.

Estos descubrimientos confirman los resultados reportados por Kusonoki (40) y Kröger (39) y parecen indicar que la correlación negativa entre cantidades de depósito y viscosidad de saliva aparece sólo en el curso del desarrollo de cálculo dental. Surge entonces una pregunta: ¿qué componente tiene la mayor influencia en el nivel de peso seco alcanzado durante la formación de 14 días de placas de cálculo?. Indudablemente los componentes inorgánicos contribuyeron mayormente al peso seco que las colonias de microbios. Los cristales que se desarrollaron de forma particularmente rápida y están presentes en grandes cantidades son predominantes del tipo brushita. Una proporción entre una comparación de depósitos de pesos seco/viscosidad y los cristales de brushita presentes como se demuestra en los análisis de rayos X, muestra que la brushita se encontró en los depósitos de casi todos los sujetos. Pero la incidencia de brushita aumenta a medida que es mayor el tiempo de los depósitos en dirección de la mayor viscosidad. En otras palabras, los sujetos con saliva de viscosidad baja pueden formar rápidamente mayores cantidades de cálculo dental rico en brushita, mientras que los sujetos con saliva muy viscosa pueden formar cálculo dental sólo muy lentamente y son comparativamente pobres en brushita.

En esta suposición la creciente viscosidad del fluido oral se puede interrelacionar con una tendencia descen-

dente a formar brushita, por ejemplo la cantidad promedio de depósito y viscosidad se le puede atribuir a las diferentes formas de brushita formadas. Tal interacción puede discutirse muy bien. En vista de la supersaturación tanto de la saliva sublingual como submaxilar con respecto a la brushita y el hecho de que la saliva más viscosa es generada por las glándulas salivales sublinguales, parece factible que la poca viscosidad provea condiciones más favorables - para la nucleación de la brushita.

Jensen (33), descubrió que la brushita siempre estaba presente en los cálculos supragingivales excesivos de la región central mandibular. En tales investigaciones sólo se han medido la saliva mixta, las placas de cálculo no fueron analizadas por su contenido de calcio y fosfato, ni tampoco se obtuvieron datos adicionales tales como pH, grado de saturación, etc. Por lo que sólo se basaron en esas interrelaciones.

La mineralización de las placas de cálculos supragingivales se inicia al mismo tiempo que el crecimiento de las placas. Las capas mononucleares de colonias en forma de nidos de microorganismos cocáceos predominantemente establecidos en la cutícula dental exógena preformada y la sustancia de la base intermicrobica se desarrollan simultáneamente surgen con rapidez concentraciones relativamente altas de calcio y fosfato. Algunos días después -para en-

tonces de habrá formado continuas capas microbianas- la -- fracción inorgánica casi alcanza del 40 al 100%. Después de haber alcanzado cierto grosor adaptable a un crecimiento aeróbico, la flora microbiana se desplaza de los cocos y - bastones a la pre-eminencia de las células filamentosas, para cuando la mineralización ya ha avanzado más allá de - los pasos iniciales. Consiste primariamente en la forma- ción de cristales de octacalcio y posiblemente de cristales de apatita muy subdesarrollados y surgen agregaciones mayo- res de brushita. El fosfato de octacalcio y la oxiapatita se forman ya sea intra o extracelularmente en la matriz mi- crobiana. Son alimentados por nucleación heterogénea indu- cida de polisacáridos, -complejo de proteínas-, el creci- miento (especialmente el de la oxiapatita) procede lentamen- te. La brushita crece, preformando fosfato de octacalcio u oxiapatita y se desarrolla lentamente, los cristales de brushita están en lugar de la aún no mineralizada matriz - de la placa de alrededor y forman grandes conjuntos de cris- tal.

El promedio de la mineralización de las placas de cálculo difiere individualmente. El porcentaje de ceniza, calcio y fosfato es el mismo en los individuos con un pro- medio de formación tanto alto como bajo; por lo tanto es - independiente de la cantidad de depósito formada por unidad de tiempo.

El promedio de la cantidad de la formación de brushita puede ser regulada por la viscosidad del fluido oral, los cálculos dentales formados rápidamente y ricos en brushita dominan en sujetos con baja viscosidad. La diferencia depende de la administración externa de alimentos líquidos que contengan fluor y profilácticos orales.

Mayores cantidades de cálculos dentales "viejos" - se forman por la aposición de nuevas placas de cálculos. - De forma periódica, las cutículas dentales exógenas están interpuestas. Durante el crecimiento de los depósitos hay un deslizamiento en los componentes cristalinos. La brushita formada inicialmente se encuentra cada vez menos en los depósitos que continúan creciendo, mientras que la whitlockita sólo aparece en los cálculos que crecieron durante varios meses.

Tomando en consideración lo anterior, nuestro experimento estuvo basado en los siguientes parámetros:

- + pH salival
- + concentración de calcio salival
- + concentración de fosfato salival
- + concentración de calcio en el cálculo dental
- + concentración de fosfato en el cálculo dental

El propósito del presente estudio, es encontrar la influencia que ejerce el pH salival en relación con la acu

mulación y procesos de formación del cálculo supragingival.

La hipótesis de trabajo será la siguiente: a mayor pH salival, las concentraciones de calcio y fosfato en saliva aumentan; por lo que habrá una mayor precipitación de estos elementos favoreciendo la formación del cálculo supragingival.

II. MATERIALES Y METODO

Material No-Biológico:

a).- SOLUCIONES:

- 1.- Mezcla Crómica
- 2.- Reactivos Ca-Color (Wiener lab.)
- 3.- Reactivos Merckotest (Merck S.A.)
- 4.- Acido Clorhídrico
- 5.- Solución Buffer para pH

b).- MATERIAL DE VIDRIO:

- 6.- 90 tubos de ensayo
- 7.- 30 tubos de centrífuga
- 8.- 50 pipetas 1 ml.
- 9.- 25 pipetas 5 ml.
- 10.- 1 micropipeta de 20 microlitros
- 11.- 1 micropipeta de 50 microlitros
- 12.- 1 matríz Erlenmeyer de 1 litro
- 13.- 60 vasos de precipitados de 250 ml.
- 14.- 30 mezcladores de vidrio

c).- APARATOS:

- 15.- Espectrofotómetro ultravioleta PYE-UNICAM
- 16.- Balanza analítica METTLER - H78
- 17.- Balanza de platos móviles HARVARD TRIP BALANCE OHAUS
- 18.- Estufa de secado MAPSA HOP - 645
- 19.- Centrífuga Mod. J - 12 SOL - BAT
- 20.- Potenciómetro CORNING pH METER 125
- 21.- Mezclador SUPER - MIXER

d).- VARIOS:

22.- Pizetas

23.- Gradillas

24.- Agua bidestilada

25.- Para - film

26.- Gasa estéril

27.- Algodón

e).- MATERIAL DENTAL:

28.- Pinzas de curación S.S. White

29.- Espejo intraoral No. 5 S.S. White

30.- Explorador No. 5 Hu - Friedy

31.- Raspador C K 6 Hu - Friedy

f).- MATERIAL FOTOGRAFICO:

32.- Cámara Minolta 202 con fuelle de extensión y
Ring Flash

33.- Película Ektachrome Asa 64

g).- MATERIAL DE EXPERIMENTACION:

34.- Cálculo dental

h).- MATERIAL BIOLÓGICO;

35.- Saliva

La fase de laboratorio se inicia con la preparación del material de vidrio a utilizar, los tubos de ensayo (pyrex 3 x 100 ml.) se lavan y se dejan 12 hrs. en mezcla crómica preparada previamente; el modo de preparación es el siguiente: Cuadro 1

MEZCLA CROMICA:

1. Se miden 500 ml. de agua destilada en un matraz Erlenmeyer de un litro.
2. Se añaden lentamente con agitación constante 250 ml. de ácido sulfúrico concentrado.
3. Se coloca un vaso de precipitado sobre la boca del matraz y se sumerge parcialmente en agua corriente.
4. Se añaden 100 grs. de dicromato de potasio y se mezcla hasta disolverlos. Aforar a 1 litro con agua destilada.

Después de haber permanecido 12 hrs. dentro de la mezcla crómica, los tubos de ensayo (pyrex 3 x 100 ml.) deben ser cuidadosamente lavados con agua bidestilada, colocándose luego en posición invertida en una gradilla, se dejan secar y por último se sellan con para-film, de esta manera los tubos de ensayo quedan listos para ser utilizados. Fig. 2.

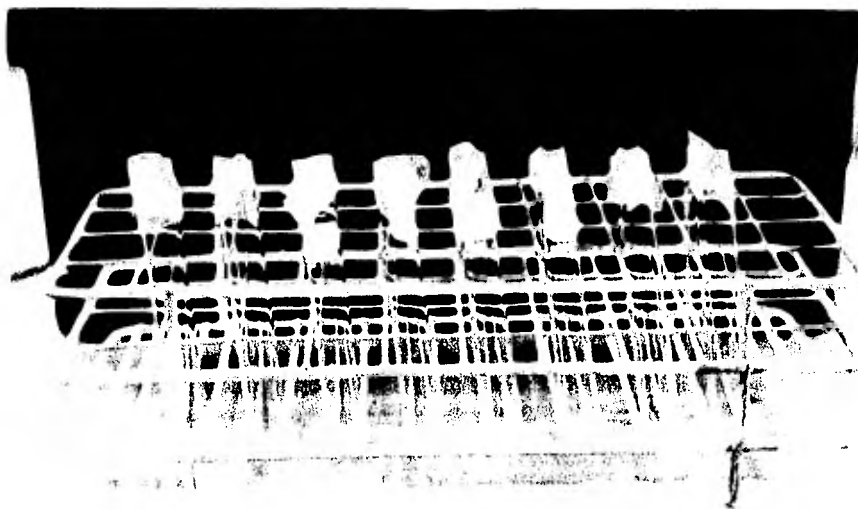


Fig. 2. Preparación de los tubos de ensayo.

Las pipetas se lavan con Extrán, agua destilada y se colocan en la estufa de secado. Fig. 3.

Los tubos de centrifuga se lavan y se secan con el mismo procedimiento utilizado para las pipetas.

Se tomaron al azar 60 pacientes con edades fluctuantes entre 10 y 40 años, con una edad promedio de 25.6 años, dividiéndose en dos bloques de 30 pacientes cada uno; clasificados como grupo control y grupo experimental. Se obtuvieron las Historias Clínicas correspondientes, utilizando para este fin el modelo que se muestra en el Cuadro No. 2.



Fig. 3; Estufa de secado para material de vidrio.

HISTORIA CLINICA (Cuadro 2)

Nombre _____ Sexo _____ Edad _____
 Dirección _____
 Teléfono _____ Ocupación _____ Edo. Civil _____
 Nombre y dirección de mi médico _____
 ¿Cuál es su principal problema bucal? en pocas palabras _____

INSTRUCCIONES

Si su respuesta es afirmativa rodee con un círculo la palabra SI.

Si su respuesta es negativa rodee con un círculo la palabra NO.

Conteste todas las preguntas y llene los espacios en blanco en los casos indicados.

Las respuestas a las preguntas siguientes son únicamente - para nuestro archivo y se consideran como confidenciales.

1. ¿Padece usted algún trastorno o enfermedad? _____ SI NO
 - a) ¿Ha observado alguna alteración de su salud general durante el año pasado? _____ SI NO
2. Mi último reconocimiento físico fue en _____
 - a) En caso afirmativo ¿qué enfermedad padece? _____

3. ¿Está en tratamiento médico? _____ SI NO

4. ¿Ha padecido alguna enfermedad grave?. ¿Le han operado?.

_____ SI NO

a) En caso afirmativo, ¿cuál fue la enfermedad?, ¿de qué le han operado? _____

5. ¿Ha sido hospitalizado o ha padecido alguna enfermedad grave durante los últimos 5 años? _____ SI NO

a) En caso afirmativo ¿cuál fue el problema? _____

6. ¿Padece o ha padecido alguna de las siguientes enfermedades o trastornos?

a) Fiebre reumática o cardiopatía reumática _____ SI NO

b) Lesiones cardiacas congénitas _____ SI NO

c) Enfermedad cardiovascular (trastorno cardiaco, ataque cardiaco, insuficiencia coronaria, tensión arterial elevada, arterioesclerosis, apoplejia). _____ SI NO

1) ¿Nota dolor en el pecho después de los esfuerzos? _____ SI NO

2) ¿Le falta el aliento después de un ejercicio moderado? _____ SI NO

3) ¿Se le hinchan los tobillos? _____ SI NO

4) ¿Tiene dificultad para respirar cuando está hechado, o necesita más almohadas cuando duerme? _____ SI NO

d) Alergia _____ SI NO

e) Asma o fiebre del heno _____ SI NO

f) Urticaria o erupción cutánea _____ SI NO

- g) Desvanecimientos o ataques _____ SI NO
- 1) ¿Tiene necesidad de orinar más de 6 veces al día? _____ SI NO
- 2) ¿Tiene sensación de sed con mucha frecuencia? SI NO
- 3) ¿Nota a menudo sensación de sequedad en la boca? _____ SI NO
- h) Hepatitis, ictericia, o enfermedad hepática. SI NO
- i) Artritis _____ SI NO
- j) Reumatismo inflamatorio (tumefacción dolorosa de las articulaciones) _____ SI NO
- k) Úlceras gástricas _____ SI NO
- l) Trastornos renales _____ SI NO
- m) Tuberculosis _____ SI NO
- n) ¿Tiene tos persistente?. ¿Ha expectorado sangre alguna vez? _____ SI NO
- o) Hipotensión _____ SI NO
- p) Enfermedades venéreas _____ SI NO
- q) Otras enfermedades _____ SI NO
7. ¿Ha tenido hemorragias anormales con ocasión de extracciones anteriores, intervenciones quirúrgicas o traumatismo? _____ SI NO
- a) ¿Se produce equimosis con facilidad? _____ SI NO
- b) ¿Ha necesitado alguna vez transfusión sanguinea? _____ SI NO
- En caso afirmativo explique en qué circunstancias _____
8. ¿Padece algún trastorno de la sangre por ejemplo

- anemia? _____ SI NO
9. ¿Le han operado o le han aplicado radioterapia por un tumor, abultamiento o cualquier otra alteración de la boca o de los labios? _____ SI NO
10. ¿Toma algún preparado medicamentoso? _____ SI NO
En caso afirmativo diga cuál es _____
11. ¿Toma alguno de los siguientes preparados?:
- a) antibióticos o sulfamida _____ SI NO
- b) anticoagulantes (para aclarar la sangre) _____ SI NO
- c) medicamentos para la tensión arterial elevada _____ SI NO
- d) cortisona (esteroides) _____ SI NO
- e) tranquilizantes _____ SI NO
- f) aspirina _____ SI NO
- g) insulina, tolbutamida (orinase) _____ SI NO
- h) digital u otros preparados cardiotónicos _____ SI NO
- i) nitroglicerina _____ SI NO
- j) otros preparados _____ SI NO
12. ¿Tiene alergia o ha reaccionado desfavorablemente a:
- a) anestésicos locales _____ SI NO
- b) penicilina u otros antibióticos _____ SI NO
- c) sulfamidas _____ SI NO
- d) barbitúricos, sedantes, tabletas contra el insomnio _____ SI NO
- e) aspirina _____ SI NO
- f) yodo _____ SI NO

- g) otras sustancias _____ SI NO
13. ¿Padece alguna enfermedad o algún trastorno --
que no haya sido mencionado más arriba y que --
considera conveniente que yo lo sepa? _____ SI NO
En caso afirmativo explique cuál es _____

14. ¿Tiene dolor en la boca? _____ SI NO
15. ¿Le sangran las encías? _____ SI NO
16. ¿Cuándo visitó al dentista por última vez? ___ SI NO
17. ¿Qué tratamiento le dió? _____

18. ¿Ha sufrido algún trastorno importante en oca-
sión de algún tratamiento dental anterior? ___ SI NO
En caso afirmativo diga qué ocurrió _____

M U J E R E S

19. ¿Está embarazada? _____ SI NO
20. ¿Sufre trastornos relacionados con el período
menstrual? _____ SI NO

OBSERVACIONES:

Fecha _____

Se determinó el índice de cálculo de los pacientes, utilizando para este fin el método de Greene y Vermillón (27), aclarando que la superficie examinada fue la lingual de los dientes anteriores-inferiores por ser éste el sitio de la toma de muestra; los criterios que utilizamos para la determinación de los índices se anotan en el Cuadro No. 3.

Código	Criterios
0	Ausencia de cálculo supra o sub-gingival.
1	Presencia de cálculo supragingival cubriendo no más de 1/3 de la superficie examinada.
2	Presencia de cálculo supragingival cubriendo - más de un tercio pero no más de dos tercios de la superficie examinada o bien presencia de pequeñas porciones de cálculo subgingival.
3	Presencia de cálculo supragingival cubriendo - más de dos tercios de la superficie examinada, o bien una faja continua de cálculo subgingival a lo largo de la región cervical del diente.

Cuadro No. 3: Códigos y criterios para la determinación del índice de cálculo.

Este examen se realizó auxiliados de un explorador No. 5 Hu-Friedy y un espejo intrabucal No. 5 S.S. White, - se sumaron las puntuaciones de cálculo de cada diente y se dividieron entre el número de dientes examinados, aproxima

dose hasta un decimal después del punto.

La forma de registro fue como la que aparece en el Cuadro No. 4; posteriormente se determinó el tipo de enfermedad periodontal según la American Academy of Periodontology según los criterios que aparecen en el Cuadro No. 5.

No. Diente	Superficie analizada	Criterio
3.1		
3.2		
3.3		
4.1		
4.2		
4.3		

Cuadro No. 4: Forma de registro para la determinación del índice de cálculo.

Los datos obtenidos fueron anotados en la Historia Clínica de cada paciente en el renglón de observaciones así como un análisis del estado general de salud de los pacientes.

I	Gingivitis
II	Periodontitis leve
III	Periodontitis moderada
IV	Periodontitis avanzada

Cuadro No. 5: Clasificación de la enfermedad periodontal según la American Academy of Periodontology.

Se procedió a la recolección de la muestra de saliva no estimulada depositándose en un tubo de ensayo (pyrex 3 por 100 ml.) previamente preparado para este propósito. Fig. No. 4.

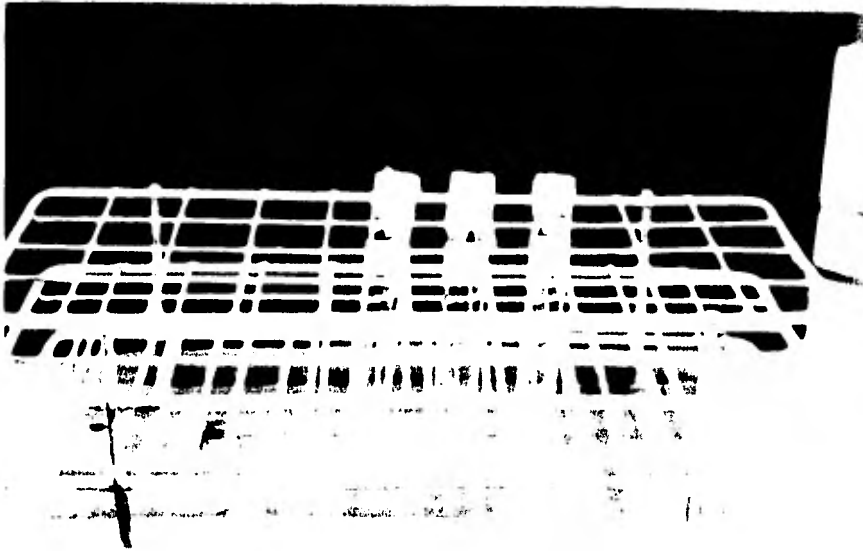


Fig. No. 4: Muestras de saliva no estimulada recolectada en tubos de ensayo.

Estos fueron los datos y registros realizados en los pacientes que no presentaron cálculo dental, en aquellos pacientes con presencia de cálculo supragingival se inició la toma de muestra utilizando un raspador C K 6 Hufriedy, depositándose el cálculo sobre gasa estéril para el análisis posterior. Fig. No. 5.

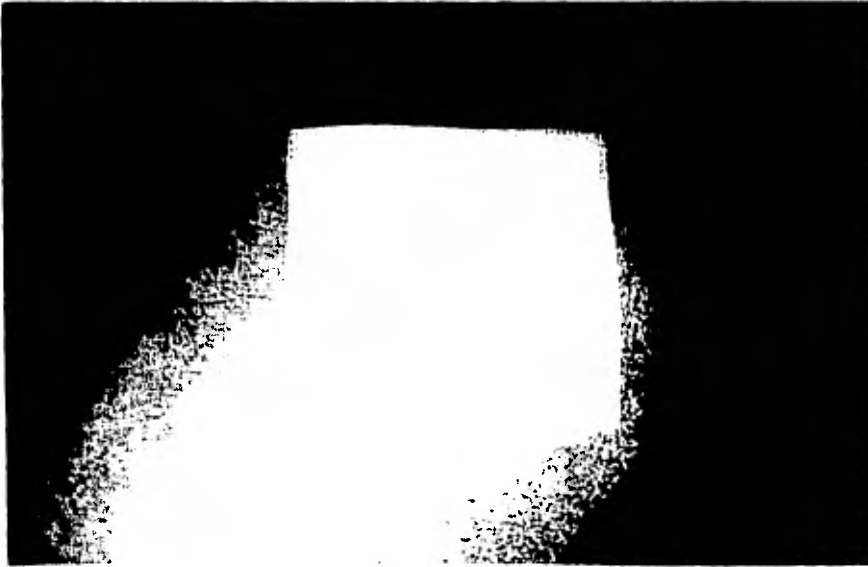


Fig. No. 5: Muestra de cálculo dental supra-
gingival.

Con las muestras obtenidas tanto de cálculo dental como de saliva, nos trasladábamos al laboratorio para efectuar las determinaciones anotadas en el Cuadro No. 6, quedando con esto concluida la fase clínica del experimento.

1. pH salival
2. Concentración de calcio en saliva
3. Concentración de fosfato en saliva
4. Concentración de calcio en cálculo dental
5. Concentración de fosfato en cálculo dental

Cuadro No. 6: Lista de determinaciones efectuadas durante la fase de laboratorio.

El pH salival se determinó con el uso del potenciómetro CORNING pH METER 125, procediéndose de la forma siguiente:

Con una pipeta de 1 ml. se pipetea .1 ml. de saliva, se mezcla perfectamente con 40 ml. de agua bidestilada y se efectúa la lectura en el potenciómetro, Fig. No. 6, - calibrado previamente con solución buffer con pH 7.

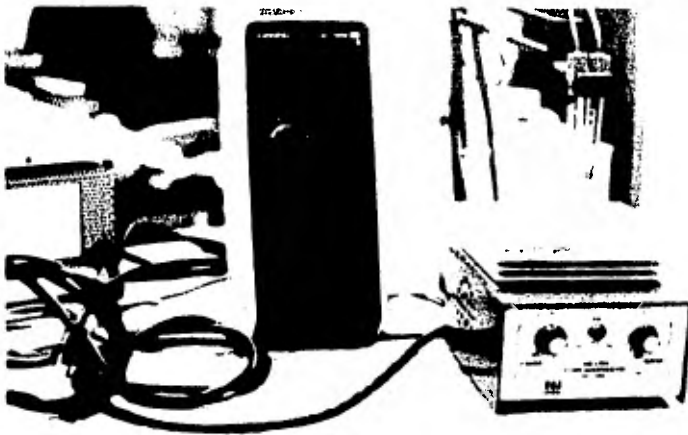


Fig. No. 6: Determinación de pH salival.

Las determinaciones de fosfato en saliva y en cálculo dental, fueron hechas utilizando un juego de reactivos (merckotest para fosfato inorgánico), Fig. No. 7, se decidió la utilización de estos reactivos porque disminuyen la posibilidad de error en las lecturas, ya que estos reactivos son preparados con estrictas normas de calidad, además de que el tiempo de trabajo que se emplea (40 min.) para efectuar esta técnica es menor que el utilizado con técni-

cas convencionales, que incluyen la elaboración de soluciones patrones de las que no se tiene confiabilidad en su -- elaboración, aumentando con esto las posibilidades de error.

La técnica empleada para las determinaciones de -- fosfato, así como su fundamento y aparatología por utilizar es la siguiente: Cuadro No. 7.

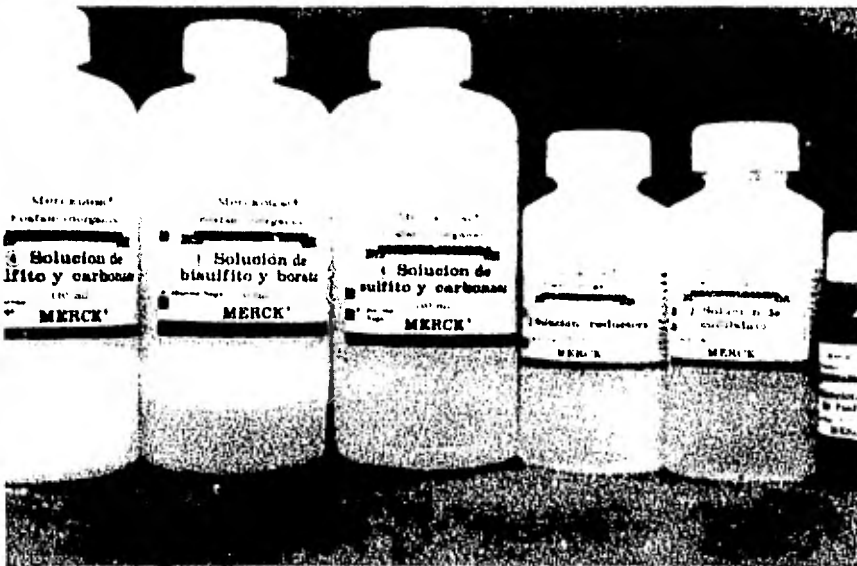


Fig. No. 7: Juego de reactivos Merckotest para fosfato.

Fundamento: El fosfato inorgánico presente en el suero y otros líquidos corporales forma fosfomolibdato con molibdato de sodio. Por reducción con sulfato de p-metilaminofenol se transforma - el fosfomolibdato en azul de molibdeno coloidal que puede determinarse fotométricamente.

La cantidad de azul de molibdeno es proporcional a la de fosfato inorgánico existente (25).

Aparatos: Espectrofotómetro o fotómetro de filtros. --
Fig. No. 8.

Cuadro No. 7: Fundamento y aparatología para la determinación de fosfato.

Reactivos:

1. Solución de bisulfito y borato ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 52 mmol/l, --
 NaHSO_3 190 mmol/l).
2. Solución de molibdato (Acido sulfúrico 2.6 N, Na_2MoO_4 -
100 mmol/l!).
3. Solución reductora (Sulfato de p-metilaminofenol 29 --
mmol/l, NaHSO_3 320 mmol/l).
4. Solución de sulfito y carbonato (Na_2SO_3 55 mmol/l, --
 Na_2CO_3 400 mmol/l).
5. Solución patrón de fosfato (5.0 mg. de P/100 ml.).

Técnica:

Método sin desproteínización.

El suero y el plasma por regla general pueden ser analizados sin desproteínización previa (60,66); lo que no es posible con algunos sueros de control (control de calidad), dado que tras la adición de la solución de sulfito y

carbonato 4, el precipitado no se disuelve ya completamente. En la realización de la determinación, por ello, hay que prestar atención a eventuales turbideces en la solución a medir.

Por cada serie de análisis se preparan uno o dos patrones y un blanco.

Pipetear en un tubo de ensayo:			
	Problema	Patrón	Blanco
Suero, Plasma, (saliva)	0.1 ml	-	-
Solución patrón 5	-	0.1 ml	-
Agua bidestilada	-	-	0.1 ml
Sol. de bisulfito y borato 1	1.0 ml	1.0 ml	1.0 ml
Sol. de molbdato 2	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
Sol. reductora 3	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
Mezclar, tapar los tubos de ensayo y dejarlos en reposo durante 15 minutos a temperatura ambiente.			
Sol. de sulfito y carbonato 4	2.0 ml	2.0 ml	2.0 ml
Mezclar hasta que el precipitado existente se haya disuelto completamente. Medir al cabo de 15 minutos las extinciones de los problemas y de los patrones frente al blanco.			
Máximo de extinción: 750 nm. Espesor de la cubeta: 1 cm. Filtro: entre 550 y 750 nm, p. ej. 578 nm.			

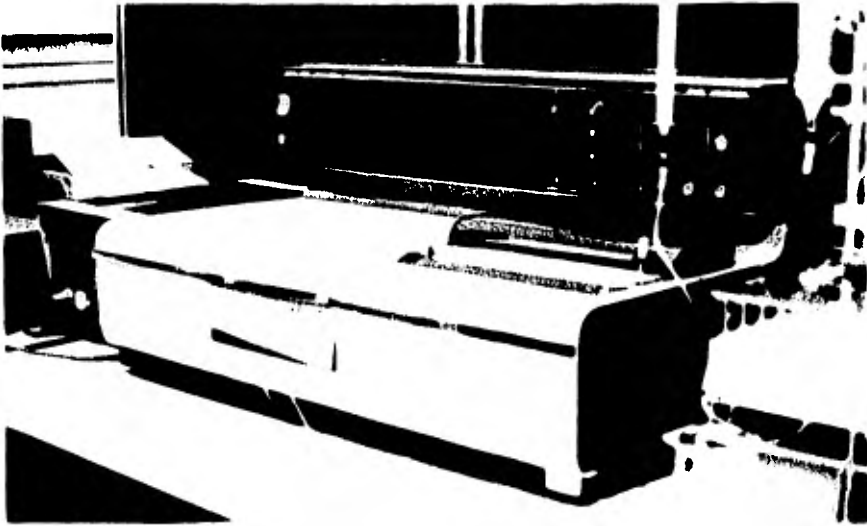


Fig. No. 8: Espectrofotómetro ultravioleta.

Las lecturas de absorbancias dadas por el espectro fotómetro se deben convertir en mEq/l utilizando la fórmula anotada en el Cuadro No. 8.

$$\text{Concentración de fosfato} = \frac{E_{pr}}{E_p} \times 2.9 \text{ mEq/l}$$

E_{pr} = extinción del problema.

E_p = extinción del patrón.

Cuadro No. 8: Conversión de absorbancias a mEq/l

Las determinaciones de calcio en saliva y en cálculo dental se realizaron utilizando un juego de reactivos - (Ca-Color), Fig. No. 9, las razones de su utilización son las mismas que para las determinaciones de fosfato.

La técnica, fundamento y aparatología por utilizar se describen en el Cuadro No. 9.

Fundamento: El calcio reacciona con la Cresolftalein complexona (Cfx) a pH 11 dando un complejo de adición de color magenta que se mide fotocolorimétricamente a 570 nm.

Reactivos:

1. Reactivo Cfx: 3.5 ml. de solución estabilizada de Cresolftalein complexona 3.7 mmol/l.
2. Buffer: 220 ml. de aminometilpropanol - - (AMP) 0.2 mol/l en metanol 35% V/V para pH 11
3. Standard: 4 ml. de solución estabilizada de calcio. Se procesa igual que la muestra y equivale a 10 mg/dl.

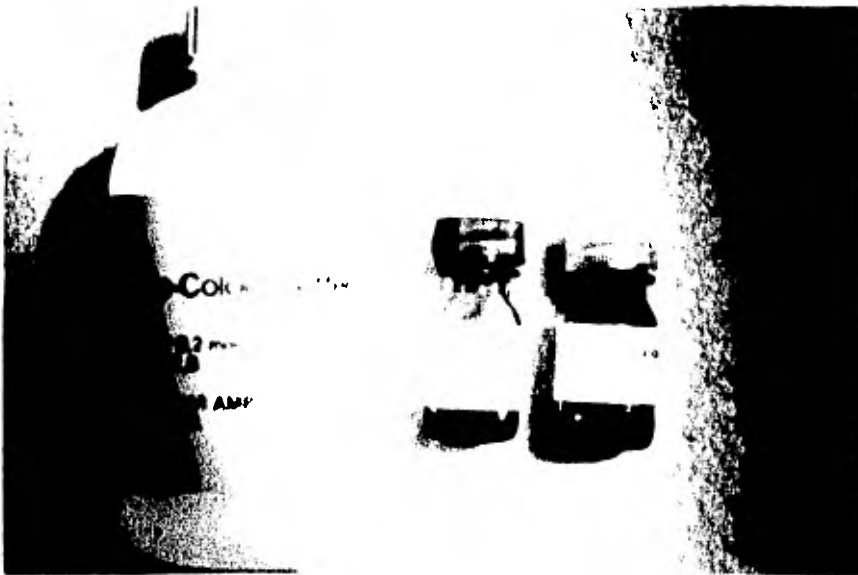


Fig. No. 9: Juego de reactivos Ca-Color.

Técnica:		
En dos tubos de fotocolorímetro marcados S (standard) y - D (desconocido), colocar:		
	S	D
Reactivo Cfx	50 ul	50 ul
Buffer	3.5 ml	3.5 ml
Mezclar con 3 o 4 movimientos de varilla mezcladora. Leer la absorbancia en espectrofotómetro a 570 nm (blanco in- terno), llevando el aparato a 0 con agua.		
Agregar luego:	S	D
Standard	20 ul	
Muestra		20 ul

Cuadro No. 9: Técnica, fundamento y aparatología para la determinación de calcio.

Las lecturas de absorbancia dadas por el espectrofotómetro se convierten en mg/dl utilizando la fórmula que aparece en el Cuadro No. 10.

$\text{Ca mg/dl} = D \times \text{factor}$ $\text{Factor} = \frac{10 \text{ mg/dl}}{S}$

Cuadro No. 10: Conversión de absorbancias a mg/dl.

Los valores de S en las determinaciones de calcio y de Epr en el fosfato se obtuvieron del promedio de lecturas del Standard.

Los datos generales como edad y valor de pH salival del grupo control y grupo experimental; aparecen en las tablas 1 y 2, respectivamente.

Las cantidades de calcio y fosfato que contiene el cálculo dental se analizaron de la misma forma que las contenidas en la saliva, con la variante de que hubo necesidad de: lavar el cálculo dental con agua bidestilada, para eliminar restos de saliva, sangre, etc.; pesar el cálculo dental (Balanza analítica METTLER - J78), Fig. No. 10, colocar y triturar el cálculo dentro de un tubo de centrifuga para evitar pérdida de la muestra, agregar .1 ml. de ácido clorhídrico presionando con un mezclador de vidrio el cálculo contra las paredes del tubo hasta disolverlo completamente se le agregó 2.9 ml. de agua bidestilada, se centrifugó a - 5,000 r.p.m. durante 20 minutos. (Centrifuga Mod. J-12- SOLBAT), y utilizando el líquido sobrenadante se siguió la técnica empleada para la saliva.



Fig. No. 10: Balanza analftica para determinar el peso de la muestra de cálculo dental.

Es necesario aclarar que las técnicas para el análisis de las calcificaciones que se forman en el organismo: - cálculos renales, cálculos biliares, cálculos salivales, - litos fecales; únicamente determinan la presencia o no de calcio, foffato, magnesio, etc., pero no cuantifican las - cantidades de estos elementos y que la técnica utilizada - en el presente trabajo es una modificación hecha por los - autores (46).

Para efectuar el análisis estadístico de las concentraciones de calcio y fosfato en el cálculo dental, debido a que el tamaño de la muestra obtenida de cada paciente fue diferente; es por esto que al inicio de la técnica se pesó la muestra, posteriormente todas las absorbancias se ajustaron a .1 mg. de cálculo con el objeto de analizar estadísticamente con datos uniformes.

La fórmula utilizada para cada uno de los ajustes - tanto de calcio como de fosfato, aparecen en el Cuadro No. 11, utilizando como ejemplo el paciente 1.

Peso: Absorbancia	
Peso: Absorbancia	
Peso de la muestra: .0075 mg	.0075 mg : .175
Absorbancia calcio: .175	.1 mg : X
Absorbancia fosfato: .073	.0075 mg : .073
	.1 mg : X'
X= .175 X .1 mg	X' = .073 X .1 mg
.0075 mg	.0075 mg
X= 2.333	X' = .973

Los valores de absorbancia tanto de calcio como de fosfato y sus conversiones a mg/dl y mEq/l del grupo con-

trol y grupo experimental, aparecen en las tablas 3 y 4 res
pectivamente.

Los valores de peso, absorbancia, ajuste a .1 mg. y conversiones a mg/dl y mEq/l de cálculo dental aparecen en las tablas 5 y 6.

TABLA No. 1 GENERAL DE DATOS GRUPO CONTROL

PACIENTE	EDAD	pH SALIVAL
1.-	18	6.22
2.-	17	6.69
3.-	20	6.10
4.-	12	6.95
5.-	13	5.60
6.-	12	6.03
7.-	14	5.75
8.-	13	6.35
9.-	12	6.57
10.-	11	6.32
11.-	21	6.35
12.-	22	6.13
13.-	25	6.20
14.-	24	5.85
15.-	26	6.22
16.-	26	6.55
17.-	29	6.45
18.-	28	6.58
19.-	22	5.91
20.-	25	6.60
21.-	33	6.37
22.-	37	6.37
23.-	39	6.35
24.-	39	5.75
25.-	37	6.31
26.-	32	6.08
27.-	38	6.71
28.-	39	6.33
29.-	32	6.63
30.-	31	6.34

TABLA No. 2 GENERAL DE DATOS GRUPO EXPERIMENTAL

PACIENTE	EDAD	pH SALIVAL
1.-	19	6.22
2.-	13	6.38
3.-	17	7.12
4.-	18	6.40
5.-	20	6.41
6.-	13	6.60
7.-	10	6.27
8.-	10	6.20
9.-	11	5.89
10.-	12	6.63
11.-	21	6.64
12.-	28	6.25
13.-	28	7.12
14.-	23	6.67
15.-	26	6.08
16.-	28	6.33
17.-	25	6.60
18.-	30	6.04
19.-	30	6.57
20.-	30	6.28
21.-	34	5.85
22.-	38	6.32
23.-	39	6.10
24.-	35	6.07
25.-	36	6.55
26.-	38	6.21
27.-	38	6.76
28.-	39	6.20
29.-	40	6.76
30.-	40	6.10

TABLA No. 3

	ABSORBANCIA Calcio	mg/dl Calcio	ABSORBANCIA Fosfato	mEq/l Fosfato
1.-	.285	7.95	.779	7.95
2.-	.241	6.72	.824	8.72
3.-	.266	7.42	.527	5.38
4.-	.237	6.61	.625	6.38
5.-	.291	8.11	.598	6.10
6.-	.241	6.72	.857	8.75
7.-	.187	5.21	.783	7.99
8.-	.260	7.25	.656	6.69
9.-	.312	8.70	1.455	14.85
10.-	.273	7.61	.803	8.19
11.-	.215	5.99	.701	7.15
12.-	.248	6.91	.912	9.31
13.-	.275	7.67	.718	7.33
14.-	.228	6.36	.916	9.35
15.-	.256	7.14	.802	8.18
16.-	.236	6.58	.601	6.13
17.-	.234	6.52	.716	7.31
18.-	.245	6.83	.620	6.33
19.-	.240	6.69	.769	7.85
20.-	.328	9.15	1.322	13.49
21.-	.237	6.61	.908	9.27
22.-	.266	7.42	.725	7.40
23.-	.213	5.94	.472	4.81
24.-	.229	6.38	.469	4.78
25.-	.305	8.51	.941	9.60
26.-	.215	5.99	.496	5.06
27.-	.264	7.13	.403	4.11
28.-	.320	8.92	.678	6.92
29.-	.263	7.33	.954	9.74
30.-	.178	4.96	.465	4.74

TABLA No. 4

	ABSORBANCIA Calcio	mg/dl Calcio	ABSORBANCIA Fosfato	mEq/l Fosfato
1.-	.260	7.25	.788	8.04
2.-	.262	7.31	.582	5.94
3.-	.234	6.52	.550	5.61
4.-	.314	8.76	.947	9.67
5.-	.315	8.78	1.311	13.38
6.-	.257	7.17	.445	4.54
7.-	.347	9.68	1.270	12.96
8.-	.230	6.41	.727	7.92
9.-	.348	9.70	1.273	12.99
10.-	.266	7.42	.692	7.06
11.-	.323	9.01	1.120	11.43
12.-	.200	5.58	1.105	11.28
13.-	.290	8.09	.738	7.53
14.-	.296	8.25	.727	7.42
15.-	.241	6.72	.739	7.54
16.-	.256	7.14	.643	6.56
17.-	.240	6.69	.943	9.62
18.-	.288	8.03	.749	7.64
19.-	.282	7.86	.890	9.08
20.-	.231	6.41	1.034	10.55
21.-	.273	7.61	.869	8.87
22.-	.256	7.14	.522	5.33
23.-	.211	5.88	.866	8.84
24.-	.268	7.47	1.067	10.89
25.-	.245	6.83	.477	4.87
26.-	.327	9.12	.358	3.65
27.-	.264	7.13	.763	7.79
28.-	.356	9.93	1.028	10.49
29.-	.281	7.84	.993	10.13
30.-	.387	10.79	1.463	14.93

TABLA No. 5

Peso de la Muestra	Absorbancia Calcio	Absorbancia ajustada	mg/dl Calcio .1 mg.	
1.-	.0075	.175	2.333	65.09
2.-	.0030	.185	6.166	172.03
3.-	.0069	1.523	22.072	615.83
4.-	.0029	.676	23.310	650.37
5.-	.0135	1.343	9.948	277.55
6.-	.0043	.875	20.348	567.72
7.-	.0017	.534	31.411	876.39
8.-	.0019	.440	23.157	646.10
9.-	.0038	1.160	30.526	851.70
10.-	.0073	1.473	20.178	526.98
11.-	.0140	1.591	11.364	317.06
12.-	.0041	.284	6.926	193.24
13.-	.0033	.330	10.	279.01
14.-	.0079	1.330	16.835	469.71
15.-	.0042	.972	23.142	645.68
16.-	.0044	1.297	29.477	822.43
17.-	.0138	1.440	10.434	291.11
18.-	.0100	1.330	13.3	371.08
19.-	.0056	1.778	31.75	885.85
20.-	.0071	1.310	18.450	514.77
21.-	.0094	.154	1.638	45.70
22.-	.0018	.611	33.944	947.07
23.-	.0296	1.595	5.388	150.33
24.-	.0084	1.406	16.738	467.
25.-	.0102	1.455	14.264	397.97
26.-	.0508	1.491	2.935	81.88
27.-	.0128	1.026	8.015	223.62
28.-	.0017	.361	21.235	592.47
29.-	.0007	.230	32.857	916.74
30.-	.0023	.394	17.130	477.94

TABLA No. 6

Peso de la Muestra	Absorbancia Fosfato	Absorbancia Ajustada	mEq/1 Fosfato .1 mg.
1.-	.0075	.073	9.93
2.-	.0030	.055	18.71
3.-	.0069	1.716	253.94
4.-	.0029	.473	159.5
5.-	.0135	1.632	123.43
6.-	.0043	.620	147.22
7.-	.0017	.308	184.99
8.-	.0019	.227	121.99
9.-	.0038	.651	174.92
10.-	.0073	1.362	190.51
11.-	.0140	1.492	108.82
12.-	.0041	.316	78.69
13.-	.0033	.291	90.04
14.-	.0079	.954	123.30
15.-	.0042	.577	140.28
16.-	.0044	.773	179.39
17.-	.0138	1.626	120.30
18.-	.0100	1.513	154.49
19.-	.0056	.732	133.47
20.-	.0071	1.112	159.91
21.-	.0094	.059	6.40
22.-	.0018	.396	224.64
23.-	.0296	1.723	51.34
24.-	.0084	.870	105.75
25.-	.0102	1.129	112.91
26.-	.0508	1.704	34.24
27.-	.0128	1.524	121.57
28.-	.0017	.245	147.15
29.-	.0007	.102	148.78
30.-	.0023	.352	156.27

III. RESULTADOS

Todos los pacientes del Grupo Control se clasificaron dentro del tipo I de enfermedad periodontal según la American Academy of Periodontology, 90% de los pacientes del Grupo Experimental se clasificaron dentro del tipo II y sólo un 10% estuvieron dentro de la clasificación tipo III.

Los resultados obtenidos de las determinaciones de pH salival, concentración de calcio y fosfato en saliva y en cálculo dental fueron analizados estadísticamente por grupos de edades, comparando los resultados del Grupo Control contra los del Grupo Experimental; se obtuvieron los datos estadísticos primarios (intervalos de clase, límites reales, marcas de clase, frecuencias, frecuencias acumuladas, frecuencias acumuladas relativas, etc); las medidas de centralización (media, mediana, moda) y las medidas de dispersión (varianza, desviación standard, desviación media); se graficaron los resultados obteniéndose los polígonos de frecuencia que a continuación se muestran con los títulos de:

pH Salival Grupo Control

pH Salival Grupo Experimental

Fosfato en Saliva Grupo Control

Fosfato en Saliva Grupo Experimental

Calcio en Saliva Grupo Control

Calcio en Saliva Grupo Experimental

Fosfato en Cálculo

Calcio en Cálculo

A. Gráficas de las concentraciones de pH salival.

a) pH salival grupo control.- Se aprecia un aumento en las concentraciones conforme aumenta la edad.

b) pH salival grupo experimental.- Se aprecia un aumento en las concentraciones conforme disminuye la edad.

c) El valor promedio de pH esta aumentado en los sujetos formadores de cálculo en relación al promedio de pH de los sujetos no formadores.

B. Gráficas de las concentraciones de fosfato en saliva.

a) Fosfato en saliva grupo control.- Las concentraciones aumentan a medida que la edad es menor aunque existe un incremento en el grupo de 20 a 30 años.

b) Fosfato en saliva grupo experimental.- Las concentraciones aumentan a medida que la edad es menor aunque existe un incremento en el grupo de 20 a 30 años.

- c) El valor promedio de fosfato en saliva está au-mentado en los sujetos formadores de cálculo en relación con los no formadores.

C. Gráficas de las concentraciones de calcio en saliva.

- a) Calcio en saliva grupo control.- Se puede observar que las concentraciones se encuentran más - elevadas mientras que la edad es menor.
- b) Calcio en saliva grupo experimental.- Las con - centraciones de calcio se encuentran más elevada- das mientras que la edad es mayor, sin embargo se encuentran valores más altos en el grupo de 10 a 20 años.
- c) El valor promedio de las concentraciones de cal - cio en saliva están aumentados en los sujetos - formadores de cálculo en relación con los no - formadores.

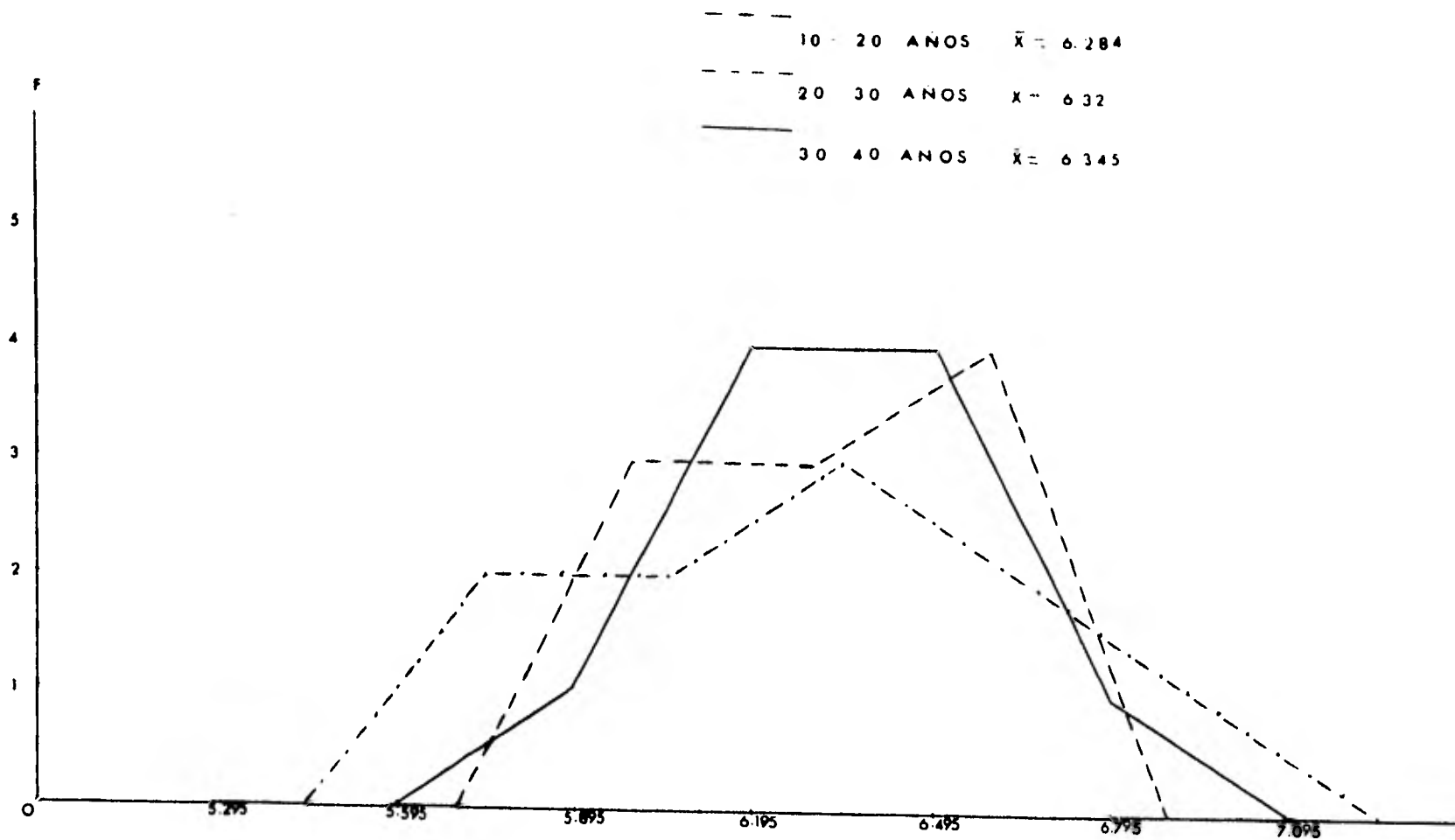
D. Gráficas de las concentraciones de calcio y fosfato en cálculo dental.

- a) Las concentraciones de fosfato en cálculo dental se encuentran más elevadas a medida que disminuye la edad.
- b) Las concentraciones de calcio en cálculo dental se encuentran más elevadas a medida que disminuye la edad.

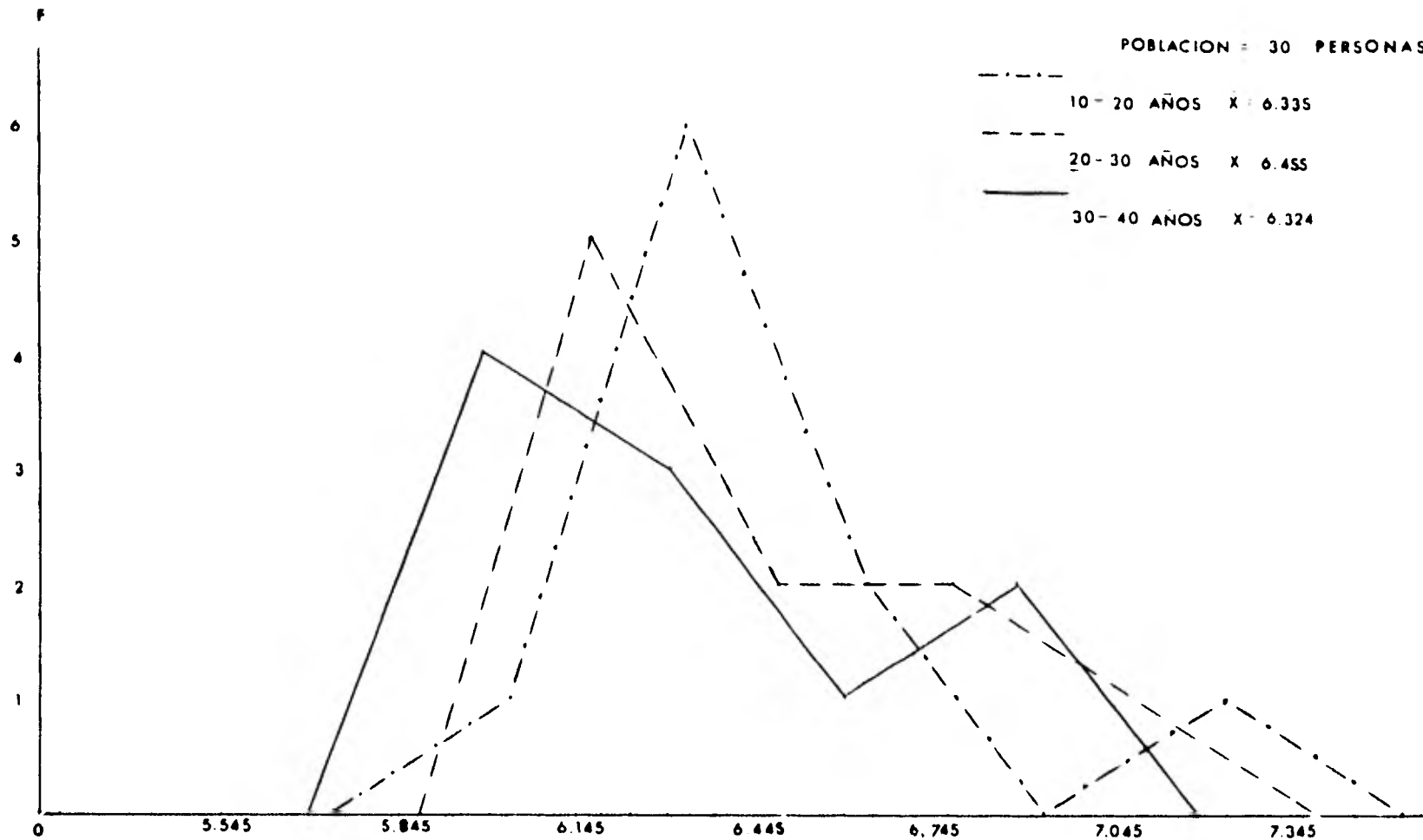
pH SALIVAL GPO CONTROL

POB 30 PERSONAS

1

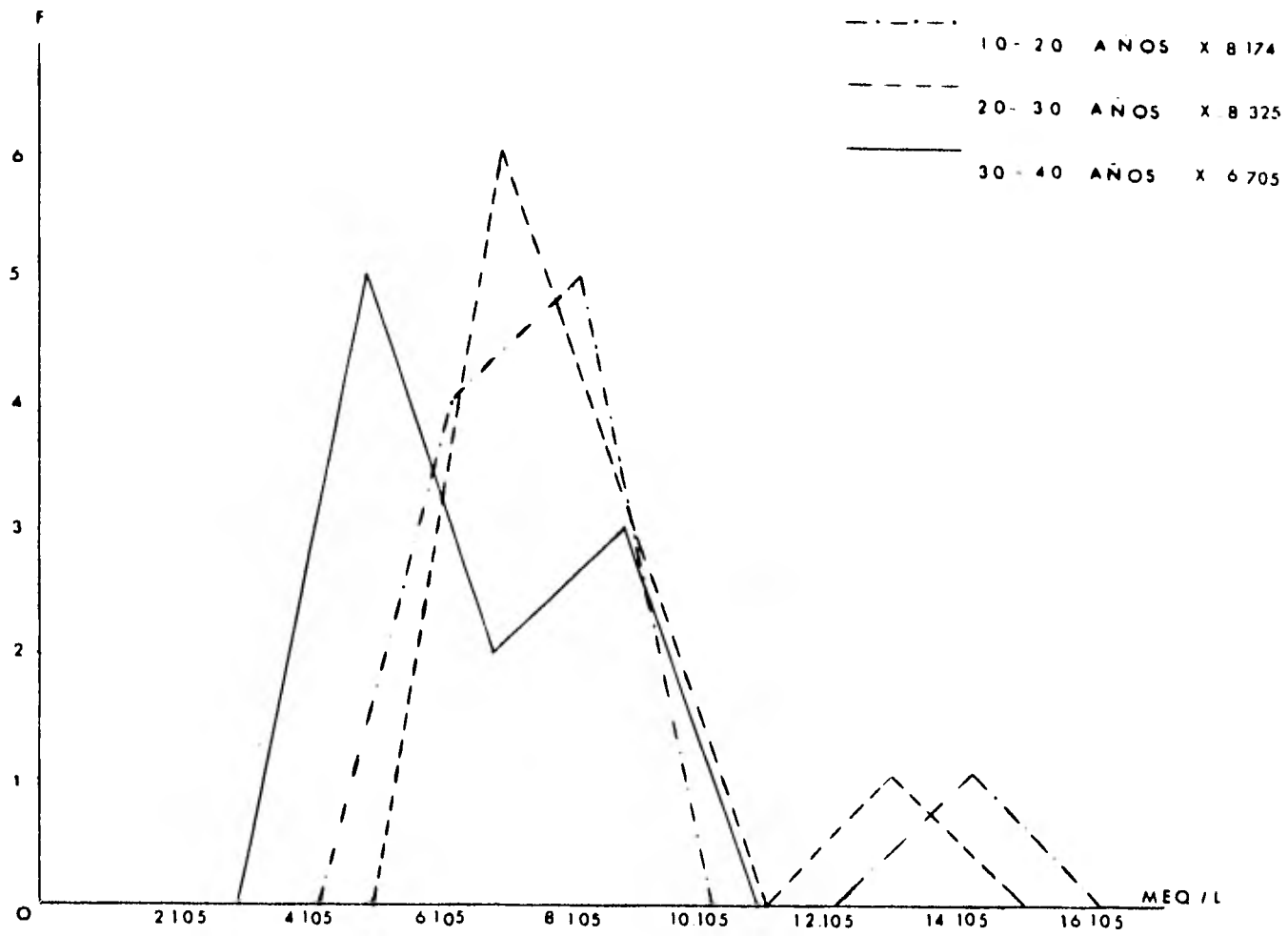


P H SALIVAL GPO EXPERIMENTAL

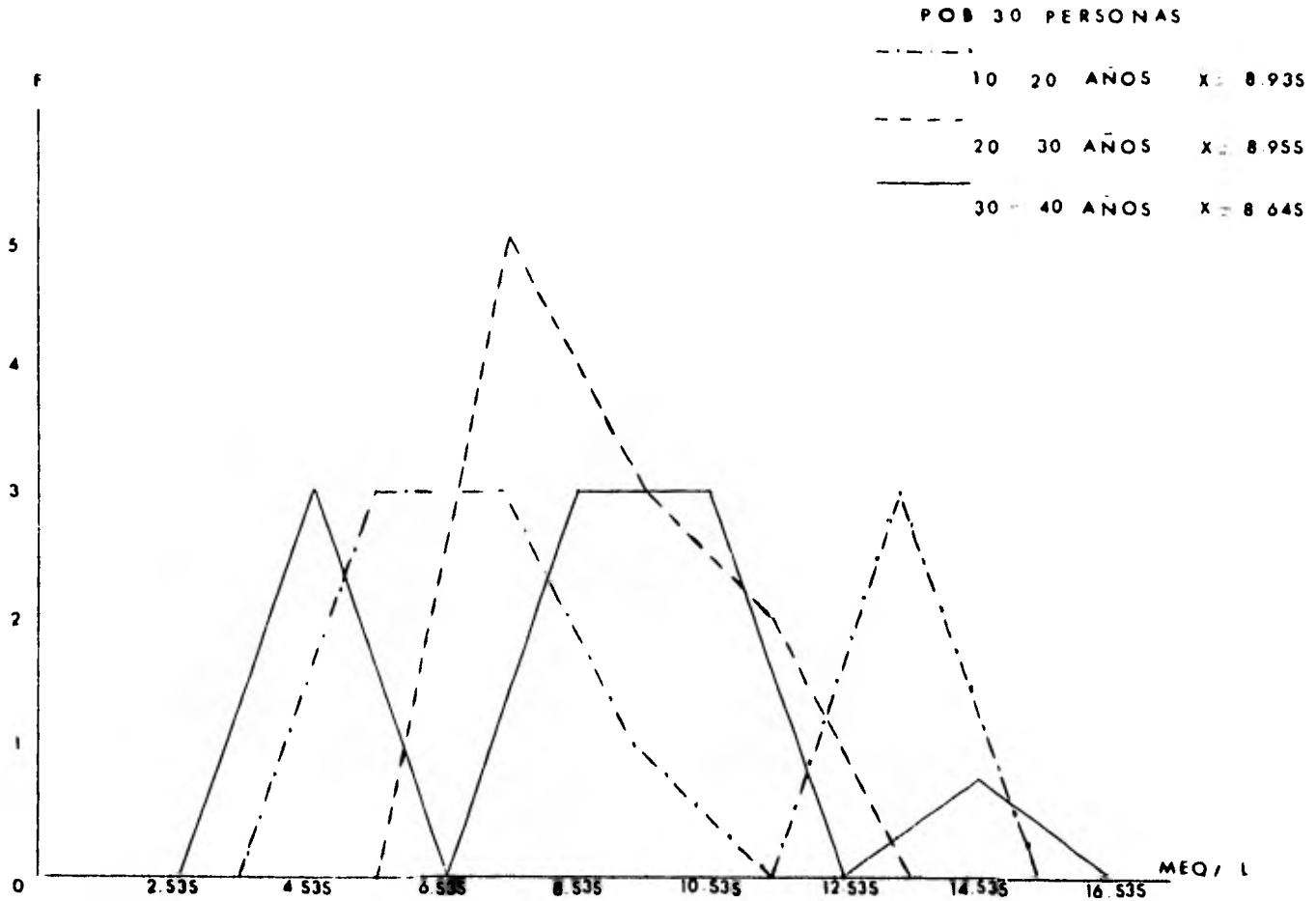


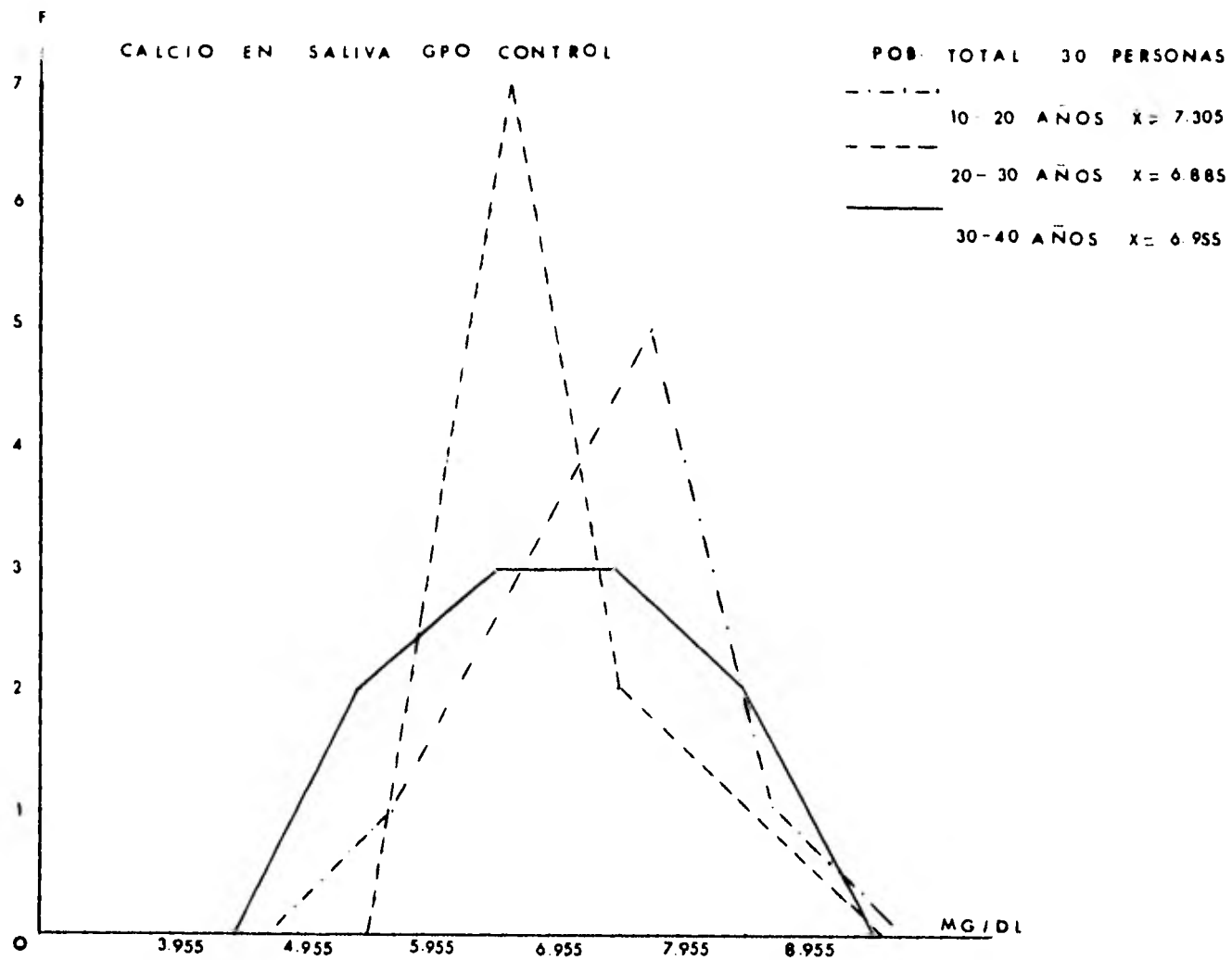
FOSFATO EN SALIVA G.P.O. CONTROL

POB TOTAL 30 PERSONAS



FOSFATO EN SALIVA GPO EXPERIMENTAL

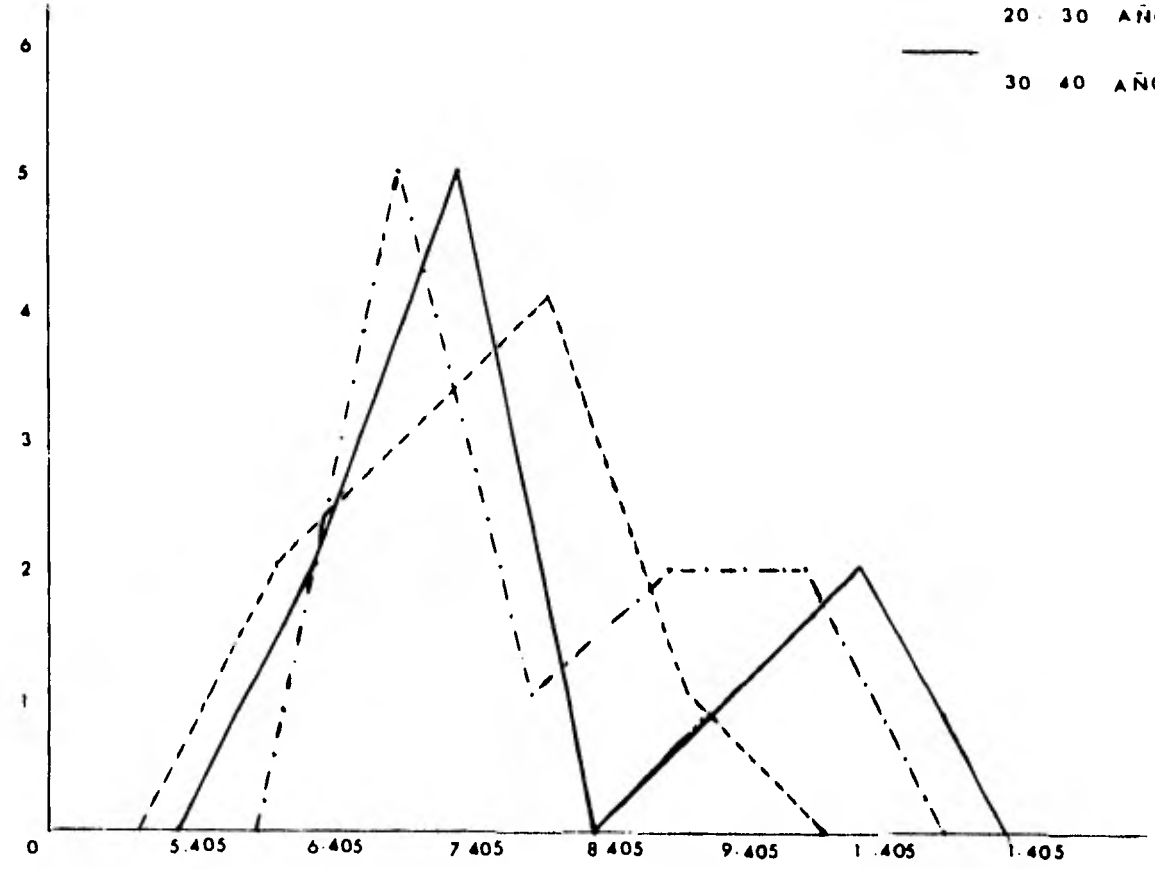




CALCIO EN SALIVA GPO EXPERIMENTAL

POB. TOTAL= 3 PERSONAS

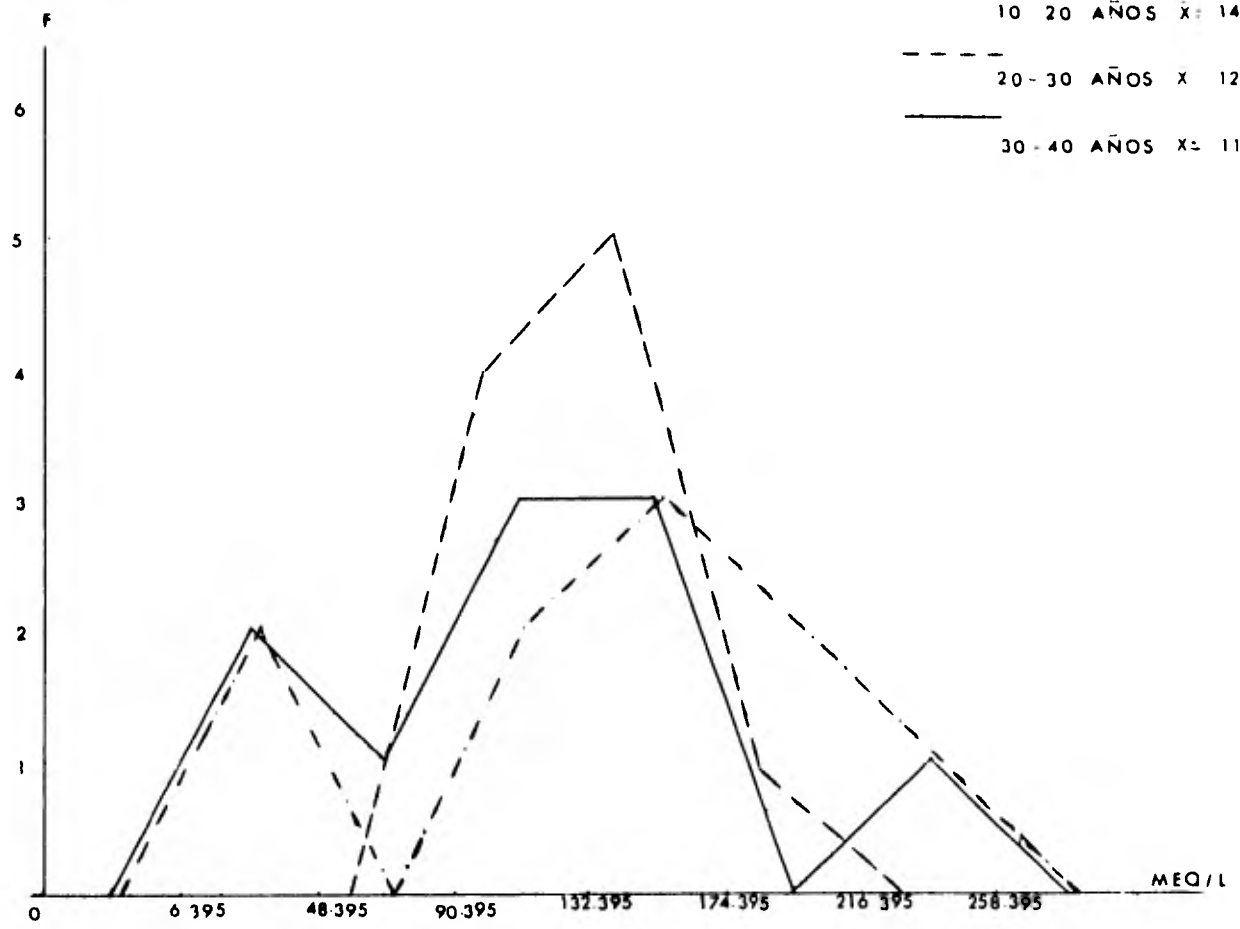
- · - · - 10- 20 AÑOS \bar{x} = 8.005
- - - 20- 30 AÑOS \bar{x} = 7.475
- 30- 40 AÑOS \bar{x} = 7.974



FOSFATO EN CALCULO

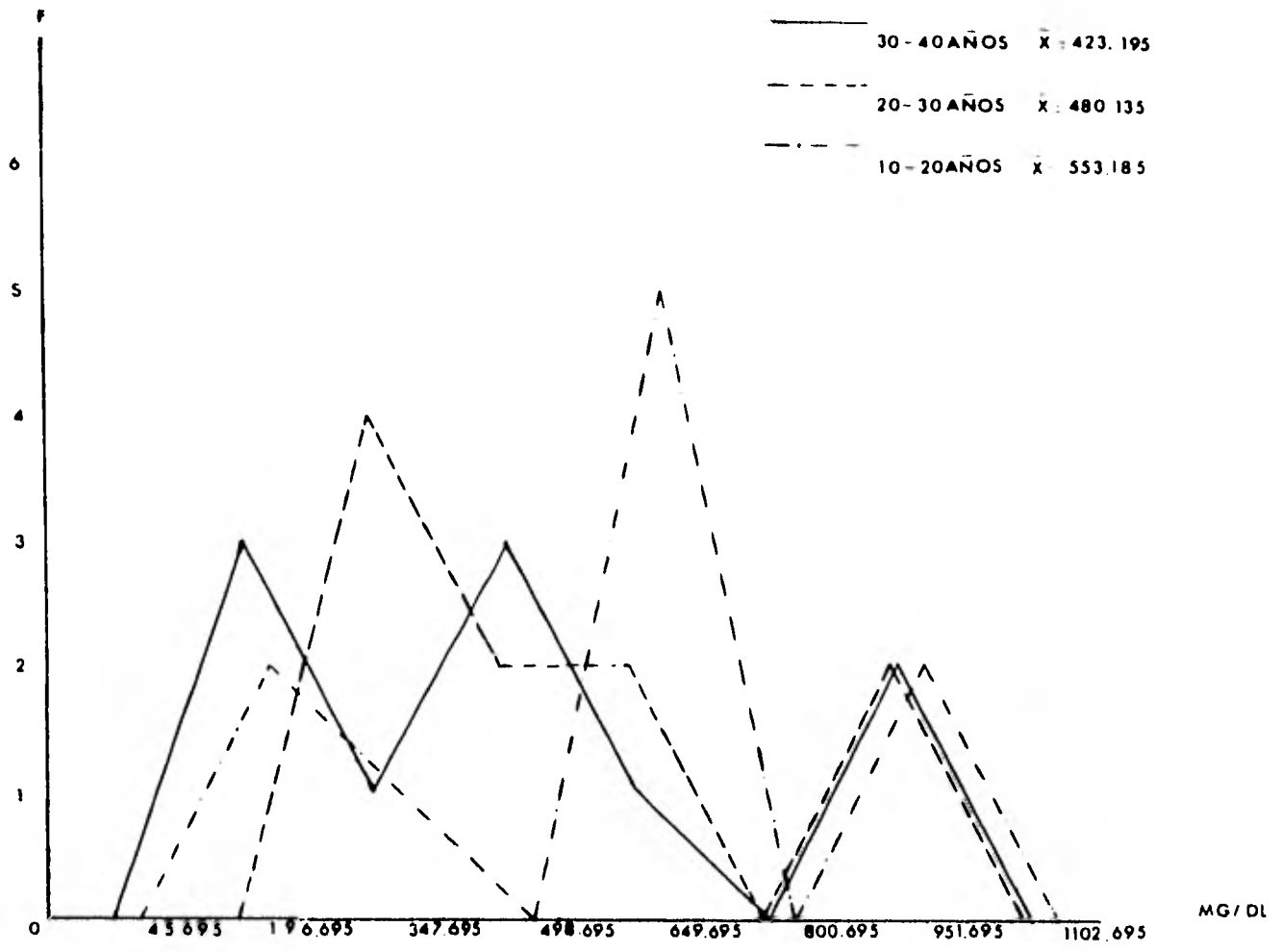
POB TOTAL 30 PERSONAS

- · - · -
10 - 20 AÑOS \bar{x} : 140.125
- - -
20 - 30 AÑOS \bar{x} : 129.085
- 30 - 40 AÑOS \bar{x} : 115.595



CALCIO EN CALCULO

POB TOTAL 30 PERSONAS



IV. DISCUSION

Desde los estudios hechos por Prinz (59), Bibby (5), Rosebury (69), Sand (71), Hodge (30) y Mandel (43); se consideró a la saliva como responsable de la formación del cálculo supragingival y con frecuencia del subgingival, estos autores hacen una comparación con la formación de cálculos en los conductos salivales, además dicen, porque la saliva proporciona las materias primas como son el calcio, el fosfato, el magnesio; y estos elementos son indispensables para la formación de cristales de fosfato de calcio.

También los estudios hechos por Leung (42), Hodge (30) y Sand (71); consideraron al cálculo dental como el resultado de la precipitación de calcio y fosfato de una solución coloidal supersaturada (la saliva).

Dreisbach (15), analizó la saliva humana y explicó la capacidad de ésta para ligar calcio sin referir al responsable de la unión, creyendo que era una segregación mucosa - y el pH de la solución; a menor pH menor calcio y a mayor pH mayor calcio.

Nuestro estudio demuestra que la concentración de calcio está aumentada cuando el pH salival está más elevado.

Sin embargo Gow (26), no encontró relación alguna entre el calcio y el pH salival. Vogel (83), observó que el total de calcio contenido en el fluido parotídeo y submaxilar fué ionizado dependiendo del pH de la saliva. La super saturación del fluido oral ha sido recientemente considerado como un pre-requisito fisiológico para la precipitación del fosfato de calcio.

Varios autores han examinado la cuestión de que si el fluido oral de personas carentes de cálculo contiene menos calcio y fosfato inorgánicos que los contenidos en personas con depósitos de cálculo, Tenenbaum (80) y Szymczyk (79) confirmaron esta hipótesis; mientras que Rapp (63) la rechazó.

La presente investigación acepta y demuestra la hipótesis confirmada por Tenenbaum (80) y Szymczyk (79).

Existen diversos estudios que relacionan la viscosidad y la cantidad de cálculo dental los cuales demuestran que a menor viscosidad mayor cantidad de cálculo dental y que la viscosidad disminuye a medida que aumenta la edad Kusunoki (40) y Kroger (39).

La investigación que se presenta en esta Tesis no incluyó la relación entre la viscosidad y la cantidad de cálculo dental debido a la falta del equipo de laboratorio

necesario. Los parámetros en los cuales estuvo basado, fueron mencionados en el primer capítulo y aunque no incluye el análisis de la viscosidad salival; involucró el análisis del contenido de calcio y fosfato en el cálculo dental y su relación con las concentraciones de estos elementos - en la saliva, además como parámetro principal se determinó el pH salival para observar la influencia que ejerce en la deposición de calcio y fosfato presentes en la saliva.

V. C O N C L U S I O N E S

De acuerdo a los resultados obtenidos, las conclu-siones a que podemos llegar y cuyo objetivo es demostrar - la influencia del pH salival para la formación del cálculo supragingival son las siguientes:

- I. Las concentraciones de calcio en saliva se en-cuentran más elevadas mientras que la edad es - menor.

- II. Las concentraciones de calcio en saliva disminu-yen a medida que aumenta la edad, sin embargo - se registraron valores más altos en el grupo de 30 a 40 años en relación a los del grupo de 20 a 30 años; pero no mayores que los del grupo de 10 a 20. Esto se explica dada la tendencia a la calcificación en la edad adulta.

- III. Las concentraciones de calcio en saliva está - más elevadas en los sujetos formadores de cálcu-lo dental, ya que los valores promedio de dichas personas fue de 7.81 mg/dl; mientras que los va-lores promedio de las personas no formadoras - fue de 7.04 mg/dl.

- IV. Las concentraciones de fosfato en saliva aumentan a medida que la edad disminuye, aunque existe un incremento en la concentración de fosfato en saliva (no significativo) en el grupo de 20 a 30 años.

- V. Las concentraciones de fosfato en saliva se encuentran aumentadas en aquellos sujetos formadores de cálculo dental.

- VI. Los valores de pH en los sujetos no formadores de cálculo se incrementan con la edad.

- VII. Los valores de pH en el grupo experimental disminuyen a medida que aumenta la edad.

- VIII. El valor promedio de pH está aumentado en los sujetos formadores de cálculo, en relación al promedio de pH de los sujetos no formadores.

- IX. Las concentraciones de calcio en cálculo dental se encuentran más elevadas a medida que disminuye la edad.

- X. Las concentraciones de fosfato en cálculo dental se encuentran más elevadas a medida que disminuye la edad.

XI.- Las concentraciones de calcio y fosfato en cálculo dental, no son proporcionales a la canti-dad presente de cálculo.

por lo que podemos concluir que el pH salival es uno de los factores participantes para la formación de cálculo - supragingival.

VI. RESUMEN

Trabajo de investigación con el objeto de demostrar la influencia que ejerce el pH salival en la precipitación de calcio y fosfato presentes en la saliva, para la formación del cálculo dental supragingival.

Para el desarrollo de esta investigación, se dividió el trabajo en 4 fases; la primera incluye una recopilación bibliográfica de los estudios hechos sobre el tema, - la segunda fase es clínica e involucra la obtención del material de experimentación: cálculo dental y saliva, una fase de laboratorio en la que con técnicas fotométricas se realizaron las determinaciones de calcio y fosfato en saliva, así como la determinación de los valores de pH salivales y finalmente una fase estadística para el análisis de los resultados obtenidos.

Con la fase estadística se llegó a conclusiones - que incluyen la demostración de la hipótesis de trabajo.

VII. B I B L I O G R A F I A

- 1.- Admson, K.T. : The role of enzyme action in the formation of dental calculus. Austral. J. Exper. Biol. 6, 215 (1929).
- 2.- Armstrong, W. G.: Amino-acid composition of the acquired pellicle of human tooth enamel. Nature 210, 197 (1966).
- 3.- Bachra, B.N., Trautz, O.R. and Simon, S.L.: Precipitation of calcium carbonates and phosphates: II.A precipitation diagram for the system calcium-carbonate-phosphate and the heterogeneous nucleation of solids in the metastability region. Adv. in Fluorine Res. and Dent. Caries Prev. 3, 101 (1965).
- 4.- Barros, L. and Witkop, C.J.: Oral and genetic study of Chileans 1960.- III. Periodontal disease and nutritional factors. Arch. oral Biol. 8, 195, (1963a).
- 5.- Bibby, B.G.: The formation of salivary calculus. - Dent. Cosm. 77, 668 (1935).
- 6.- Biryukow, D.A.: Human mucosins. Chem. Abstr. 31, 3127 (1937).
- 7.- Brandtzaeg, P.: The significance of oral hygiene in the prevention of oral disease. Odont. Tidskr. 72. 460 (1964)
- 8.- Bulleid, A.: And experimental study of *Leptothrix buccalis*. Guy's Hosp. Rep. 74, 444 (1924).
- 9.- Burchard, H.H.: The origin of salivary calculus Dent. Cosm. 37, 821 (1895).

- 10.- Cantarow. A. and Trumper, M.: Clinical Biochemistry. W.B. Saunders Company (1962).
- 11.- Critchley, P., Wood, J.M., Saxton, C.A. and Leach, S.A.: The polymerisation of dietary sugars by dental plaque. Caries Res. 1, 112 (1967).
- 12.- Davies, G.N.: Dental conditions among the polynesians of Pukapuka (Danger Island). J. dent. Res. 35, 734 (1956).
- 13.- Dawes, C. and Jenkins, G.N.: The effects of different stimuli on the composition of saliva in man. J. Physiol. 170, 86 (1964).
- 14.- Dewar, M.R. and Parfitt, G.J.: An investigation of the physical properties of saliva and their relationship to the mucin content. J. dent. Res. 33, 596 (1954a).
- 15.- Dreisbach, R.H.: Calcium binding by normal human saliva. J. dent. Res. 39, 1133 (1960).
- 16.- Ennever, J., Sturzenberger, O.P. and Radicke, A.W.: The calculus surface index Method for scoring clinical calculus studies. J. Periodont. 32, 54 (1961).
- 17.- Englander, H.R., Kesel, R.G. and Gupta, R.: Effect of natural fluoride on the periodontal health of adults. Amer. J. Publ. Health 53, 1233 (1963-1964).
- 18.- Ericsson, Y.: Enamel apatite solubility. Acta Odont. Scand. 8, Suppl. 3 (1949).
- 19.- Ericsson, Y. and Stjernström, L.: Saliva viscosity measurements. Oral Sur. 4, 1465 (1951).
- 20.- Fosdick, L.S. and Starke, A.C.: Solubility of tooth enamel in saliva at various pH levels J. dent. Res. 18, 417 (1939).

- 21.- Fouchard, P.: The surgeon dentist. Vol. I (1746), -
French edition. Lindsay English Translation, (1946).
- 22.- Frank, R.: Uber den Ammoniakgehalt des Speichels und
sein Verhältniss zur Zahnsteinbildung.
Dtsch. Mschr. Zahnheilk. 47, 657 (1929).
- 23.- Gibbons, R.J., Socransky, S.S., Araujo, W.C. and Van
Houte J.: Studies of the predominant cultiv
tivable microbiota of dental plaque.
Arch. Oral. Biol. 9, 365 (1964).
- 24.- Glimcher, M.J.: Specificity of the molecular structure
of organic matrices in mineralization.
In: Calcification in Biological Systems,
(R.F. Sognnaes Ed.), Amer. Ass. Adv. Sci.
Washington D.C., p. 421 ff. (1960).
- 25.- Gommorri. J.G.: Lab. clin. Med. (1942), 27, 955.
- 26.- Gow, B.S.: Non-ultrafilterable calcium and magnesium
in human saliva. Arch. Oral Biol. 10, 15
(1965).
- 27.- Greene, J.C. and Vermillion.: Oral hygiene and perio-
dental disease. Amer. J. publ. Hlth 53,
913 (1963).
- 28.- Gron, P., Van Campen, G.J. and Lindtrom, I.: Human den-
tal calculus. Inorganic chemical and c
crystallographic composition. Arch. oral
Biol. 12, 829 (1967).
- 29.- Henry, R.J.: Clinical Chemistry. Principles and Techni-
ques, Harper and Row Publishers (1964).
- 30.- Hodge, H.C. and Leung, S.W.: Calculus formation. J.
Periodont. 21, 211 (1950).
- 31.- Jacobson, M. and Kesel, R.G.: Salivary ammonia and its
correlation to dental calculus. J. dent.
Res. 29, 364 (1950).

- 32.- James, P.M.C., Jackson, D., Slack, G.L. and Lawton, F. E: Gingival health and dental cleanliness in English School children. Arch. oral - Biol. 3, 57 (1950).
- 33.- Jensen, T.A. and Dano, M.: Crystallographic of dental calculus and the precipitation of certain calcium phosphates. J. dent. Res. 33, 741 (1954).
- 34.- Karlström, S. and Miller, E.G.: Factors in the formation of salivary calculus. J. dent. Res. 8, 452 (1928).
- 35.- King, J.D.: Gingival disease in Dundee. Dent. Rec. 65, 9-16, 32-38, 55-60 (1945).
- 36.- Kisling, E. og Krebs, G.: Parodontale forhold hos voksne nepatienter med Down's Syndrom. Tandlægebl. 67, 101 (1963).
- 37.- Krasnow, F. and Oblatt E.B.: Ultrafiltration and absorption studies: Significance of salivary calcium, phosphorus, partition in relation to dental caries. J. dent. Res. 15 366 (1935).
- 38.- Krasse, B. and Egelberg, J.: The relative proportions at sodium, potassium and calcium in gingival pocket fluid. Acta odont. Scand. 20, 143, (1962).
- 39.- Kröger, H.: Das Auftreten von Zahnstein und Karies in Beziehung zu der Viskosität und dem pH Wert des Spichels. Dtsch. Zahnärz Ztbl. 15, 147 (1961).
- 40.- Kusunoki, M.: Studien über die Zahnsteinbildung (I). J. Biochem. 31, 481 (1940).
- 41.- Leach, S.A.: Release and breakdown of sialic acid from human salivary mucin and its role in the formation of dental plaque. Nature 199, 486 (1963).

- 42.- Leung, S.W.: Calculus, its formation and possible prevention. *Pensylv. dent. J.* 27, 3 (1960).
- 43.- Lilienthal, B., Amerena, A. and Gregory, G.: An epidemiological study of chronic periodontal disease. *Arch. oral Biol.* 10, 553 (1965)
- 44.- Littleton, N.W.: Dental caries and periodontal disease among Ethiopian civilians. *Publ. Hlth. Rep.* 78, 631 (1963).
- 45.- Lovdal, A., Arno, Schei, O. and Waerhaug, J.: Combined effect of subgingival scaling and controlled oral hygiene on the incidence of gingivitis. *Acta odont. Scand.* 19, 537 - (1961).
- 46.- Lynch, Rapahel, Mellor Spare Inwood: *Métodos de Laboratorio*, 2a. Edición (1972), Edit. Interamericana.
- 47.- Mandel, I.D.: Histochemical and biochemical aspects at calculus formation. *Periodontics* 1, 43 (1963).
- 48.- Manly, R.S., Liberfab, R., Freese, M. and O'Brien, A.: Determination of levan content and formation rate in dental plaque. *IADR.* 44, G. M. Abstr. 201 (1966).
- 49.- Mannenberg, F.: Saliva factors in cases of erosion. *Odontol. Revy* 14, 156 (1963).
- 50.- Martinek, R.G.: *J. Am. Med. Techn.* 33, 416 (1971).
- 51.- McDougall, W.A.: Studies on the dental plaque. IV. Levans and the dental plaque. *Austr. dent. J.* 9, 1 (1964).
- 52.- McHugh, W.D., McEwen, J.D. and Hitchin, A.D.: Dental disease and related factors in 13 year old children in Dundee. *Brit. dent. J.* 117, 246 (1964).

- 53.- Meckel, A.H.: The formation and properties of organic films on teeth. Arch. oral Biol. 10,585 (1965).
- 54.- Möler, M.: Die Viskosität des menschlichen. Speichels. Med. Diss. Freiburg/Br. (1928).
- 55.- Moore, B.: The phisiological and pathological metabolism of calcium and phosphates in relationship to the deposition of insoluble salts in formation of bones, teeth and calculi. Brit. dent. J. 31, 825 (1910).
- 56.- Morrow, P., Casarett, L., Toribara, T.Y. Newman, W.F. and Hodge, H.C.: Complex ion formation in calcium bicarbonate system. Fed. Proc. 14, 372 (1955).
- 57.- Muhler, J.C. and Ennever, J.: The occurrence o dental calculus trough several secessive periods in a select group of subjects. J. Periodont. 33, 22 (1962).
- 58.- Naeslund, C.: Studies of tartar formation. Acta Path. Microbiol. Scand. 3, 637 (1926).
- 59.- Prinz, H.: The origin of salivary calculus, Dent. Cosm 63, 231; 369; 503, 619 (1921).
- 60.- Raabe, Recueil S.: trav. Chim. Pays-Bas (1955) 74, 651
- 61.- Ramfjord, S.P.: Indices for prevalence and incidence - of periodontal disease. J. Periodont. 30 51 (1959).
- 62.- Ramfjord, S.P.: The periodontal statues of boys 11 to 17 years old in Bombay, India. J. Periodont. 32, 237 (1961).
- 63.- Rapp. G.W.: Biochemistry of oral calculus. II. The presence of carbonic anhidrase in human saliva. J. Amer. Dent. Ass. 33, 191 (1946)

- 64.- Rascon H.: Introducci6n a la estadística descriptiva
Edit. UNAM pp. 5-50.
- 65.- Rathje, W. and Fröhlich, E.: Über den Zusammenhang von
Kariesanfälligkeit, Viskosität un Sekre-
tions geschwindigkeit des Speichels.
Dtsch. zahnärztl. Zschr. 4, 959 (1949).
- 66.- Richterich, KR.: Chemie-Theorie und Praxis, Verlag S.
Karger Basel, erw. Aufl. (1971), pag.228
- 67.- Roberg, O.T.: Sialolithiasis. Ann. Surg. 39, 669. 1904
- 68.- Rojkin, M.L. y Mariani, M.C.O. de: Bioquim. Clin.
VII/4:405-413 (1973).
- 69.- Rosebury, T. and Karshan, M.: Salivary calculus. In: -
Dental Science and Dental Art. Philadel-
phia. Lea and Febiger (1938)
- 70.- Russell, A.L.: A System of clasification and scoring
for prevalence surveys of periodontal
disease. J. dent. Res. 35, 350 (1956).
- 71.- Sand. H.F.: The carbonic acid content of saliva and
its role in the formation of dental cal-
culus. Thesis. Thoronsen and Co., Oslo
(1949).
- 72.- Schei., Waerhaug, J., Lovdal, A. and Arno, A.: Alveo-
lar bone loss as related to oral hygiene
and age. J. periodont. 30, 7 (1959).
- 73.- Schmidt-Nielsen, B.: The solubility of tooth substance
in relation to the composition of saliva
Acta odont. Scand. and Suppl. 2 (1964).
- 74.- Schroeder, H.E.: Saliva viscocity and calculus forma-
tion in man. Arch. Oral Biol. 9, 65
(1964a).

- 75.- Schroeder, H.E.: Crystal morphology and gross structures of mineralized plaque and of calculus. *Helv. Odont. Acta* 9, 73 (1965).
- 76.- Smith, G.H.: Factor affecting the deposition of dental calculus. *Austr. J. Exp. Biol.* 7, 45 (1930).
- 77.- Socransky, S.S., Gibbons, R.J., Sale A.C. Bortnick, L. Rosenthal, E. and Macdonald, J.B.: The microbiota of the gingival crevice area of man. I. Total microscopic and viable counts and counts of specific organisms. *Arch. oral Biol.* 8, 275 (1963).
- 78.- Stralfors, A.: Investigations into the bacterial chemistry of dental plaque. Thesis, A.B. - Thule Stockholm (1950).
- 79.- Szymczyk, T.: The chemical composition of saliva and the formation of dental calculus in man. *Bull Acad. Polon. Scie. Cl. II*, 12, 471, (1964).
- 80.- Tenenbaum, B. and Karshan, M.: Factors in saliva correlated with the occurrence of calculus. *J. Amer. dent. Ass.* 26, 1956 (1939).
- 81.- Theilade, J.: The microscopic structure of dental calculus. Univ. Rochester, Thesis. Rochester, N.Y. (1960).
- 82.- Tsuiki, S. and Pigman, W.: The mucin of bovine sublingual glands. *Arch. oral Biol.* 2, 1. (1960).
- 83.- Vogel, J.J., Naujoks, R. and Brudevold, F.: The effective concentrations of calcium and inorganic orthophosphate in salivary secretions. *Arch. oral Biol.* 10, 523, (1965).
- 84.- Wannemacher, E.: Kaurorgan und Speichel. *Fortschr. Med.* 77, 221 (1959).

- 85.- Wayne, W. Daniel.: Bicestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud.
- 86.- Wolf, J. and Neuwirt, F.: Reparative Vorgänge and der Oberfläche der natürlichen un Künstlich her vorgerufenen Defekte. Dtsch. Zahn, Mund. Kieferheilk. 8, 222; 382 (1941).
- 87.- Wood, J.M.: Polysacharide synthesis and utilization - of dental plaque. J. dent. Res. 43, Suppl. IADR Abstr. 28, p. 955 (1964).