

25  
200

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

---

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
" Z A R A G O Z A "**



**DESARROLLO DE UNA TECNICA DE BIOPSIA POR ATAQUE ACIDO  
Y DETERMINACION DE FLUOR, MAGNESIO, PLOMO Y ZINC COMO  
ELEMENTOS TRAZAS EN ESMALTE DENTAL HUMANO.  
ESTUDIO IN VITRO**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO**  
P R E S E N T A :  
**NORMA ANGELICA JUAREZ SALINAS**

MEXICO, D. F.

1990





## **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.

## INDICE

<b>INTRODUCCION</b>	<b>1</b>
<b>FUNDAMENTACION DEL TEMA</b>	<b>5</b>
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>7</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>9</b>
<b>HIPOTESIS</b>	<b>10</b>
<b>MATERIAL Y EQUIPO</b>	<b>11</b>
<b>DESARROLLO EXPERIMENTAL</b>	<b>15</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>26</b>
<b>DISCUSION</b>	<b>45</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>49</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>51</b>

## INTRODUCCION

El presente trabajo hace referencia al desarrollo **in vitro**, de una técnica de biopsia por ataque ácido de esmalte dental humano en molares deciduos de niños de 5 a 14 años residentes de Cd. Nezahualcoyotl con la perspectiva de llevarse a cabo **in vivo**, para seguir la evolución de tratamientos preventivos, así como evaluar eficazmente agentes profilácticos.

A partir de los 70's se han utilizado diversas técnicas de biopsia en países desarrollados, sin embargo debido a su alto costo y carencia tecnológica para reproducirlas, se planteó la necesidad de desarrollar una técnica similar pero en consonancia con tecnología disponible en México.

Debido a la complejidad del desarrollo de esta técnica se estableció primeramente un estudio piloto en molares permanentes, cuyos resultados proporcionaron el rango de concentración ácida y tiempo de exposición a utilizar en la biopsia para molares deciduos, con mayor rango de seguridad.

Al analizar las biopsias realizadas se corroboró, mediante las profundidades alcanzadas que las muestras de esmalte se encuentran libre de dentina. Confirmando además un alto grado de seguridad ya que la máxima profundidad fue de 5.0027 mm. y el grosor del esmalte en el tercio medio del

ecuador del diente de donde fueron tomadas las muestras, es de 2 a 2.5 mm.

Se analizaron las muestras para comprobar su representatividad, llevándose a cabo la determinación de la concentración de los elementos trazas Flúor, Magnesio, Plomo y Zinc, mediante un método electrométrico para el primero y los restantes por espectrofotometría de absorción atómica.

El patrón de distribución de los elementos trazas analizadas indican, que tienden a concentrarse en la superficie del esmalte.

Los valores obtenidos para Flúor son considerablemente bajos respecto a otros trabajos realizados en poblaciones no fluoruradas. Los resultados referentes a la concentración de Magnesio son inversos a los que describe la literatura, es decir, mientras se obtuvo una concentración menor en la profundidad que en la superficie, los estudios previos describen lo contrario. Sin embargo es preciso señalar que las unidades experimentales se encontraban con lesiones cariosas, aunque el estudio se realizó sobre esmalte clínicamente sano.

En el caso del Plomo la tendencia es similar a la literatura consultada, es decir, existe una mayor concentración en la superficie que en la profundidad, sin embargo, en el presente estudio los valores obtenidos son ostensiblemente mayores. El 22% de las muestras no presentó plomo. Los estudios previos describen que el contenido se incrementa con la edad, en el presente estudio los resultados fueron diversos concluyendo que el contenido de plomo se debe a la exposición y no a la edad.

El comportamiento de las concentraciones de Zinc sigue la tendencia descrita previamente, es decir, disminuye hacia la profundidad, pero las cifras tienen un comportamiento errático, encontrándose para la superficie concentraciones sin un patrón estable.

La técnica desarrollada es confiable, eficaz e idónea para el estudio de los tejidos dentarios, además se encuentra en consonancia con la tecnología que México utiliza.

## I. FUNDAMENTACION DEL TEMA

Se han desarrollado diversas técnicas para el análisis de esmalte, a partir de los estudios realizados por Brudevold, Gardner y Smith (1956), tales como las de Jenkins y Speirs (1958); Isaac, et al (1958); Speirs (1959); y Gedalla, et al (1961), que se caracterizan por ser técnicas de tipo mecánico. Estas no permiten obtener muestras de esmalte libre de dentina y no es fácil recolectar el material en forma cuantitativa debido a que parte del material se pierde como polvo fino.

Ante este problema en 1964 Mühlmann et al, desarrollaron una técnica por ataque ácido, la cual consiste en introducir la corona anatómica del diente en una solución desmineralizante de ácido perclórico ( $\text{HClO}_4$ ) 2N y teniendo como única variable el tiempo de exposición. A través de ésta se obtienen muestras consecutivas de esmalte libre de dentina, en las que es posible realizar determinaciones cuantitativas de los constituyentes inorgánicos de la totalidad de la corona.

Esta técnica se ha modificado a través de los años de tal forma que es posible la toma de biopsias de esmalte que permite conocer con mayor precisión la distribución del contenido mineral en áreas específicas del diente, así como

la ejecución de la técnica in vivo.

Su perfeccionamiento se ha realizado a partir de 1970, a través del control del tiempo y de la dimensión del área a exposición ácida, tales como los estudios realizados por Hotz, et al 1970; Von der Merwe, et al 1974; Charlton, et al 1974; Munksgaard y Bruun 1974; Brudevold, et al 1975, Retief et al 1977; Nicholson et al 1974; Vogel et al 1983.

El objetivo principal del desarrollo de estas técnicas ha sido para conocer el efecto profiláctico del Flúor, sin embargo, se han podido realizar otras determinaciones de similar importancia como la del contenido de elementos trazas en esmalte dental.

## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La composición inorgánica del esmalte dental humano, así como las propiedades químicas y físicas que de ésta se derivan (abordadas en el Anexo 1 del presente trabajo) han permitido el planteamiento y desarrollo de las biopsias por ataque ácido del mencionado tejido sin peligro de iatrogenias.

Las investigaciones clínicas realizadas con éste tipo de técnicas han puesto al descubierto el efecto profiláctico de diversos agentes fluorurados sobre esmalte dental y que éste depende del vehículo, la sal y el tiempo de exposición entre otros. Así mismo ha permitido establecer diferencias relativas a la composición química del esmalte que dependen, fundamentalmente, de características fenotípicas, de hábitos alimenticios y de áreas geográficas a las que pertenece la población en estudio.

La técnica por ataque ácido se ha llevado a cabo en América Latina sólo de manera restringida a través del estudio realizado por De la Cruz (1984), en el que se hizo una comparación del depósito de flúor en esmalte dental de niños de 9 a 14 años de edad originarios de la ciudad de México antes y después de la aplicación de tres agentes fluorurados.

Del análisis crítico de este trabajo, en el que fueron detectadas una serie de fallas en el rubro de material y método, surgió la necesidad del establecimiento de una técnica de biopsia por ataque ácido que fuera confiable, segura, eficaz, de bajo costo y que estuviera en consonancia con la tecnología disponible en el país.

Por lo citado anteriormente se realizó un estudio piloto que antecedió a la presente investigación, desarrollado por Juárez, De la Cruz y Perez. (1988), sobre dientes permanentes de población originaria de Cd. Nezahualcoyotl, Edo. de México; para establecer las condiciones de tiempo y concentración ácida a emplear en los diferentes tratamientos del presente estudio.

### III. OBJETIVOS



#### IV. HIPOTESIS

- Al efectuarse variaciones en la concentración del ácido desmineralizante, se encontrarán diferentes profundidades de las biopsias en esmalte dental humano, presentándose cambios en la concentración de los elementos trazas (Flúor, Magnesio, Plomo y Zinc).
  
- Al efectuarse variaciones en el tiempo de exposición al contacto ácido se encontrarán diferentes profundidades de las biopsias en esmalte dental humano, presentándose cambios en la concentración de los elementos trazas (Flúor, Magnesio, Plomo y Zinc).

## V. MATERIAL Y EQUIPO

**A. MATERIALES**

**1. INSTRUMENTAL**

**Bureta 50 ml**

**Cepillos profilácticos**

**Cinta aislante resistente al ataque ácido**

**Cinta testigo**

**Copas de hule**

**Frascos de polietileno 50 ml**

**Matraces volumétricos diferentes capacidades**

**Micropipetas 5 y 500  $\mu$ l**

**Papel filtro**

**Pinzas para algodón**

**Pinzas para bureta**

**Pipetas volumétricas diferentes capacidades**

**Puntas de papel**

**Soporte universal**

**Vasos de precipitado diferentes capacidades (vidrio y plástico).**

2. REACTIVOS

Acetato de amonio BAKER GR

Acido acético glacial BAKER GR

Acido clorhídrico BAKER GR

Acido perclórico BAKER GR

Carbonato de calcio MERCK GR

Citrato de amonio BAKER GR

Citrato de sodio BAKER GR

Cloruro de amonio BAKER GR

Cloruro de sodio BAKER GR

Fluoruro de sodio TECNICA QUIMICA GR

Glicerol BAKER GR

Hidroxido de sodio MERCK GR

Nitrato de magnesio PROD. QUIMICOS MONTERREY GR

Nitrato de plomo MERCK GR

Nitrato de zinc PROD. QUIMICOS MONTERREY GR

Oxido de lantano MERCK GAA

Pasta profiláctica ORAL-B

### 3. SOLUCIONES

**Solución 1.2 N HCl**

**Solución 1.4 N HCl**

**Glicerol 70%**

**Tisab pH 5.5**

**Solución óxido de lantano 0.4%**

**B. EQUIPO**

**Agitador magnético MAGNESTIR S8290**

**Balanza analítica SARTORIUS 2842**

**Cronómetro GLADOX**

**Espectrofotómetro de absorción atómica PYEUNICAM  
SP190**

**Electrodo específico de Fluoruro ORION RESEARCH**

**Motor de baja velocidad FOREDOM**

**Perforadora IVORY**

**Potenciómetro ORION RESEARCH 701A**

**Vernier metálico INOX**

## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

## A. SELECCIÓN DE LA MUESTRA

### 1. ORIGEN DE LA MUESTRA

El estudio se realizó con una muestra de 60 molares, pertenecientes a niños de 5 a 14 años que residen en ciudad Nezahualcoyotl (donde el agua que se ingiere contiene  $F^- < 0.01$  ppm). Los molares utilizados presentaban lesiones cariosas, pero tenían la mitad o más de esmalte clínicamente sano. Se conservaron en medio acuoso y a temperatura ambiente desde su extracción hasta el momento de la realización del experimento.

### 2. TAMANO DE LA MUESTRA

Los 60 molares se dividieron en cuatro grupos, constituyéndose cada uno de 15 unidades experimentales, seleccionadas completamente al azar. Recibiendo cada grupo un tratamiento específico.

**B. DESARROLLO IN VITRO DE LA TECNICA DE BIOPSIA POR  
ATAQUE ACIDO EN ESMALTE DENTAL HUMANO**

El procedimiento que se describe se llevó a cabo en cada una de las unidades experimentales. De acuerdo al cuadro siguiente:

TIEMPO DE EXPOSICION SEG	CONCENTRACION HCl	
	1.2 N	1.4 N
35	TI	TII
45	TIII	TIV

T= tratamiento aplicado en las unidades experimentales elegidas al azar.

## 1. EJECUCION DE LA TECNICA

- o) Limpiar la superficie de los molares con pasta profiláctica para eliminar las sustancias adheridas a las superficies de éstos; pulir con un cepillo y una copa de hule con movimientos circulares lentos hasta dejar limpia y pulida la superficie del esmalte.
- u) Colocar en la superficie del esmalte dental sano, en el tercio medio del ecuador del diente, una cinta aislante de 4 x 8 mm con una perforación previa de 2 mm de diámetro.
- uu) Aplicar 5  $\mu$ l de una solución 1.2 ó 1.4 N de ácido clorhídrico en glicerol al 70% sobre el esmalte expuesto a través de la perforación por espacio de 35 ó 45 seg dependiendo del grupo de tratamiento.
- uu) Aspirar la solución, transcurrido el tiempo preestablecido para cada grupo de tratamiento, y vaciarla en un frasco que contiene 500  $\mu$ l de agua deionizada, el cual es previamente identificado para cada muestra.

- v) Secar la superficie expuesta con una punta de papel y transferirla al frasco muestra.
- vi) Aplicar  $5\mu\text{l}$  de glicerol al 70% sobre la superficie expuesta.
- vii) Aspirar la solución mencionada y depositarla en el frasco muestra.
- viii) Secar la superficie expuesta con una punta de papel y transferirla al frasco muestra.
- ix) Lavar cada punta de las micropipetas con  $5\mu\text{l}$  de agua deionizada para eliminar el remanente de la solución utilizada, depositándose en el frasco muestra correspondiente.
- x) Lavar la pieza con agua deionizada y devolver al frasco de solución acuosa en el que se encontraba antes de realizar la técnica de biopsia.

**C. ANALISIS FISICO QUIMICO PARA DETERMINAR LOS ELEMENTOS**  
**TRAZAS FLUOR, MAGNESIO, PLOMO Y ZINC EN LA BIOPSIA**  
**DE ESMALTE**

**1. PREPARACION DE MUESTRAS**

- i) Adicionar 500  $\mu$ l de agua deionizada al frasco muestra (1.02 ml).
  
- ii) Tomar una alícuota de 500  $\mu$ l, transferirla a un frasco de polietileno adicionando 500  $\mu$ l de una solución 0.8 N de ácido perclórico y 4 ml de una solución buffer (pH 5.5), obteniendo un volumen de 5 ml; de éste se toma una alícuota de 2 ml para la determinación de flúor y el volumen restante para la determinación de calcio.
  
- iii) Tomar el volumen remanente del frasco muestra (520  $\mu$ l), llevarlo a 6 ml; de los cuales se toma una alícuota de 2 ml para determinar plomo y los 4 ml restantes para la determinación de magnesio y zinc.

## 2. DETERMINACION DE CALCIO

### a. Preparación de la curva de calibración

Soluciones patrón y blanco      Realizar las diluciones necesarias para preparar soluciones de concentración conocida a partir de una solución patrón concentrado (1000 ppm), para obtener soluciones de 0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1 y 2 ppm de calcio. Elaborando en forma paralela un blanco, que contenga al igual que las soluciones de calcio 10% de lantano en una concentración de 0.4%. Estas soluciones son leídas en un espectrofotómetro de absorción atómica para la determinación cuantitativa del elemento (Apendice 1).

b. Preparación de muestras. Las determinaciones de calcio se efectuaron en muestras de 3.2 ml después de adicionar 1 ml de una solución de lantano 0.4%; preparando en forma paralela un blanco.

### 3. DETERMINACION DE FLUOR

#### a. Preparación de la curva de calibración

Soluciones patrón y blanco: la determinación de este ion se hace a partir de su forma aniónica ( $F^-$ ). Preparar una solución patrón 1 M de fluoruro de sodio y, a partir de ésta efectuar las diluciones correspondientes para obtener soluciones de concentración  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  M. De estas soluciones tomar alícuotas de 50 ml y adicionar una cantidad equivalente de solución amortiguadora TISAB (pH 5.5). mezclar y proceder a leer potenciométricamente por medio de un electrodo específico para fluoruro.

b. Preparación de muestras. Las lecturas de fluoruro se efectuaron en muestras de 2 ml las cuales se llevaron a un volumen de 10 ml con agua deionizada, adicionándoles una cantidad equivalente de solución amortiguadora TISAB (pH 5.5).

#### 4. DETERMINACION DE MAGNESIO Y ZINC

##### a. Preparación de la curva de calibración

Soluciones patrón y blanco. Preparar soluciones estándar de concentración conocida para obtener las curvas de calibración de cada elemento a partir de las diluciones necesarias de alícuotas de soluciones patrón concentradas (1000 ppm) para obtener las siguientes series de concentraciones:

ELEMENTO	CONCENTRACION PPM				
Mg	0.01	0.025	0.05	0.075	0.1
Zn	0.01	0.025	0.05	0.075	0.1

Preparar en forma paralela un blanco, que contenga al igual que las soluciones 10 ml de una solución de lantano al 0.4% por cada 100 ml. Estas soluciones son leídas en espectrofotómetro de absorción atómica para la determinación cuantitativa de ambos elementos.

b. Preparación de muestras. Las determinaciones de magnesio y zinc se efectuaron en muestras de 4 ml después de adicionar 1 ml de una solución de lantano al 0.4%, preparando en forma paralela un blanco.

## 5. DETERMINACION DE PLOMO

### a. Preparación de la curva de calibración

Soluciones patrón y blanco. Realizar las diluciones necesarias para preparar soluciones de concentración conocida a partir de una solución patrón concentrada de plomo (1000 ppm), obtener la curva de calibración empleando soluciones patrón en las siguientes concentraciones 0.1, 0.25, 0.5, 0.75 y 1 ppm de plomo. Preparando en forma paralela un blanco. Estas soluciones son leídas en un espectrofotómetro de absorción atómica para la determinación cuantitativa del elemento.

b. Preparación de muestras. De la solución de 6 ml obtenida de la biopsia de esmalte se toma una alícuota de 2 ml para la determinación de plomo.

D. CALCULO DE PROFUNDIDADES DE BIOPSIA DE ESMALTE DENTAL HUMANO

El esmalte extraído en cada biopsia fue calculado a partir de la concentración de calcio, asumiendo que su contenido en el esmalte total por unidad dental es de 37.4% (Sommerack y Samsahi, 1961; Dijkman et al, 1982) y dado que la profundidad de las biopsias está relacionada con la cantidad de esmalte extraído es factible su cálculo mediante la siguiente fórmula:

$$HM = \frac{WE}{\rho \cdot A}$$

DONDE:

WE = PESO DE ESMALTE EXTRAÍDO

$\rho$  = DENSIDAD DEL ESMALTE

A = AREA DE ESMALTE EXPUESTO

## VII. RESULTADOS

## TECNICA DE BIOPSIA

A través de la técnica de biopsia por ataque ácido se obtuvieron profundidades que van de 0.2943 a 5.0027  $\mu\text{m}$ , en los cuatro tratamientos; la media de los tratamientos aplicados es de 1.3939  $\mu\text{m}$  con una desviación standar de 0.6074  $\mu\text{m}$ , los parámetros registrados en cada tratamiento se especifican en: PROFUNDIDADES GENERALES (TABLA I). Para evaluar los efectos, e interacciones del ácido clorhídrico, así como el tiempo de exposición al contacto ácido sobre la profundidad de biopsia, se aplicó el análisis de varianza utilizando un diseño al azar con dos criterios de clasificación, y un nivel de significancia de 0.05, encontrándose que ambas variables en estudio influyen en la profundidad de biopsia de manera sinérgica. Observando que la velocidad de descalcificación es directamente proporcional a la concentración ácida incrementada por la menor resistencia al ataque ácido de las capas más profundas. Sin embargo, la actividad del tiempo es más significativa porque prolonga el contacto ácido (TABLA II Y FIG. 1).

## ELEMENTOS TRAZAS

De acuerdo a los resultados obtenidos sobre los elementos trazas analizados, su gradiente de concentración decrece de las capas superficiales a las profundas del esmalte dental, (FIG. 2.). Para confirmar, se aplicó un análisis de regresión lineal simple, usando el modelo recíproco como predicción del comportamiento a futuro (FIG. 4, 6, 8 y 10).

El comportamiento que presenta la concentración por elemento en función de las variables evaluadas con respecto a la profundidad de biopsia es el siguiente:

El Flúor evaluado como ion fluoruro presentó una concentración máxima de 98.2928 ppm en una biopsia de 0.9907  $\mu\text{m}$  contra 27.2874 ppm en una biopsia de 2.2895  $\mu\text{m}$ , valores obtenidos en los tratamientos I y IV respectivamente (TABLA III Y FIG. 3). y puede apreciarse mejor el comportamiento de este elemento en la FIG. 4.

El rango de concentración obtenido para Magnesio fue de 10.2036 a 334.2397 ppm en profundidades de 5.0027  $\mu\text{m}$  y 0.2943  $\mu\text{m}$  en los tratamientos I y IV respectivamente,

tendiendo a aumentar hacia las capas superficiales (TABLA IV y FIG. 5); en la FIG. 6 puede observarse más fácilmente el comportamiento exhibido por la concentración de dicho elemento.

La presencia de plomo en el esmalte dental humano es considerado como contaminante. Los resultados de concentración obtenidos para plomo en el estudio son de 761.558 a 62.2172 ppm en biopsias con profundidades de 0.2943  $\mu\text{m}$  y 5.0027  $\mu\text{m}$ , tratamiento I y IV respectivamente; a pesar que un 22% de las muestras no presentó plomo los valores muestran que la concentración de dicho elemento tiende a disminuir hacia las capas profundas del esmalte (TABLA V y FIG. 7) comportamiento que puede ser apreciado mejor en la FIG. 8.

Al comparar los resultados obtenidos en los tratamientos aplicados, el Zinc presenta valores de concentración erráticos, esto puede verse en la TABLA 6, donde se presenta una concentración de 23.1717 ppm (0.9907  $\mu\text{m}$ ) en el tratamiento I; 47.2785 ppm (1.0457  $\mu\text{m}$ ) en el tratamiento II; 33.5320 ppm (1.2497  $\mu\text{m}$ ) en el tratamiento III y 41.1236 ppm en una biopsia de 2.2895  $\mu\text{m}$  en el tratamiento 4. Las FIG. 9 y 10 muestran el comportamiento exhibido por la concentración de dicho elemento.

TABLA I

PROFUNDIDADES DE BIOPSIAS SEGUN ATAQUE ACIDO  
Y TIEMPO DE EXPOSICION EN ESMALTE DENTAL  
DE MOLARES DECIDUOS DE NIÑOS DE 5 A 14 AÑOS  
RESIDENTES DEL ESTADO DE MEXICO (1988)

ESTUDIO IN VITRO

TRATAMIENTO I		TRATAMIENTO II		TRATAMIENTO III		TRATAMIENTO IV	
1.2 N HCl 35"		1.4 N HCl 35"		1.2 N HCl 45"		1.4 N HCl 45"	
UNIDAD DE OBSERVACION	PROFUNDIDAD $\mu$ m						
01	0.2943	16	0.4414	31	0.2943	46	1.0594
02	0.5297	17	0.4414	32	0.5297	47	1.1771
03	0.7357	18	0.5591	33	0.7357	48	1.4125
04	0.7357	19	0.5591	34	0.9123	49	1.6479
05	0.7357	20	0.6768	35	0.9123	50	1.7951
06	0.7357	21	0.6768	36	1.1182	51	1.8245
07	0.9123	22	0.6768	37	1.1771	52	2.06
08	0.9123	23	0.9123	38	1.2948	53	2.0094
09	0.9123	24	0.9123	39	1.5382	54	2.3836
10	1.1182	25	1.0594	40	1.5597	55	2.3836
11	1.1182	26	1.2948	41	1.5597	56	2.4425
12	1.3242	27	1.5597	42	1.7362	57	2.0251
13	1.3242	28	1.7951	43	1.7362	58	2.9133
14	1.7362	29	2.06	44	1.7362	59	3.3253
15	1.7362	30	2.06	45	1.9128	60	5.0027
X	0.9987		1.0457		1.2497		2.2895
$\sigma$	0.4098		0.5728		0.4985		0.9869

FUENTE DIRECTA

TABLA II

ANALISIS DE VARIANZA  
 DISEÑO AL AZAR CON DOS CRITERIOS DE CLASIFICACION

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + EK(i,j)$$

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F DE CALCULO	F DE TABLAS
$\alpha_i$	1	4.494	4.494	10.5115	4.0
$\beta_j$	1	8.468	8.468	19.8066	4.0
$\alpha\beta_{ij}$	1	3.637	3.637	8.5875	4.0
$EK(i,j)$	56	23.943	0.428	—	—

REGLA DE DECISION  $F_{\text{CALCULO}} < F_{\text{TABLAS}} \quad H_0 \text{ NO SE RECHAZA}$   
 SI  $F_{\text{CALCULO}} > F_{\text{TABLAS}} \quad H_0 \text{ SE RECHAZA}$

DONDE :

- $\alpha_i$  = EFECTO DE LA CONCENTRACION DE ACIDO CLONHIDRICO
- $\beta_j$  = EFECTO DEL TIEMPO DE EXPOSICION AL CONTACTO ACIDO
- $\alpha\beta_{ij}$  = INTERACCION DE LA CONCENTRACION Y TIEMPO DE EXPOSICION
- $EK(i,j)$  = ERROR EXPERIMENTAL
- $\mu$  = MEDIA GENERAL
- $Y_{ijk}$  = VARIABLE DE RESPUESTA (PROFUNDIDAD DE BIOPSIA)

FIGURA 1

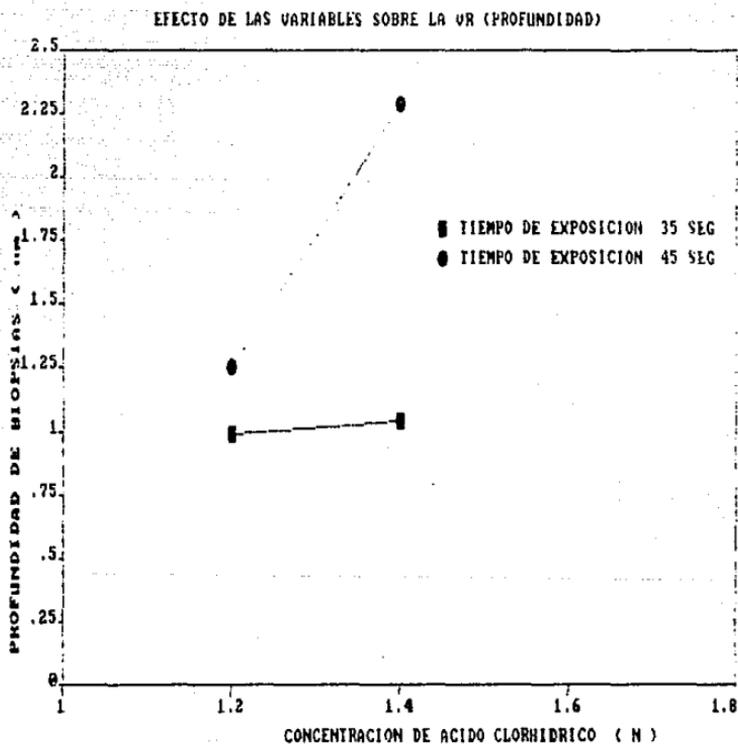


FIGURA 2

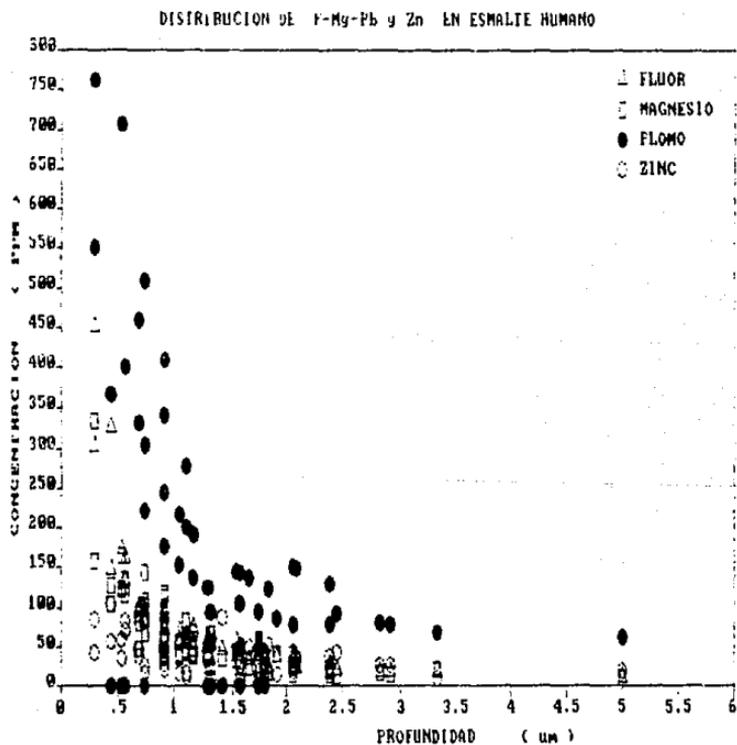


TABLE III

CONCENTRACION DE FLUORURO Y PROFUNDIDAD DE BIOPSIAS  
SEGUN ATAQUE ACIDO Y TIEMPO DE EXPOSICION EN ESMALTE  
DENTAL DE MOLARES DECIDUOS DE NIÑOS DE 5 A 14 AÑOS  
RESIDENTES DEL ESTADO DE MEXICO (1988)

ESTUDIO IN VITRO

TRATAMIENTO I			TRATAMIENTO II			TRATAMIENTO III			TRATAMIENTO IV		
1.2 N HCl 35"			1.4 N HCl 35"			1.2 N HCl 45"			1.4 N HCl 45"		
UNIDAD DE OBSERVACION	PROF (µm)	[ F° ] PPM	UNIDAD DE OBSERVACION	PROF (µm)	[ F° ] PPM	UNIDAD DE OBSERVACION	PROF (µm)	[ F° ] PPM	UNIDAD DE OBSERVACION	PROF (µm)	[ F° ] PPM
01	0.2943	449.7052	16	0.4414	324.5370	31	0.2943	300.3502	46	1.0594	57.5065
02	0.5297	120.1854	17	0.4414	145.9574	32	0.5297	172.2471	47	1.1771	51.9709
03	0.7357	105.2086	18	0.5591	159.3771	33	0.7357	82.0097	48	1.4125	44.7173
04	0.7357	93.3607	19	0.5591	131.4014	34	0.9123	97.2651	49	1.6479	33.8555
05	0.7357	80.2013	20	0.6768	98.6939	35	0.9123	86.6078	50	1.7951	32.8691
06	0.7357	80.5344	21	0.6768	96.7365	36	1.1102	53.0312	51	1.8245	21.9446
07	0.9123	89.4246	22	0.6768	94.0560	37	1.1771	72.4202	52	2.06	21.5604
08	0.9123	72.9217	23	0.9123	70.3400	38	1.2940	50.1607	53	2.0094	20.2245
09	0.9123	69.5115	24	0.9123	70.6247	39	1.5302	55.0444	54	2.3036	25.6644
10	1.1102	63.4212	25	1.0594	60.0326	40	1.5597	50.2506	55	2.3036	16.7970
11	1.1102	55.0120	26	1.2940	58.1652	41	1.5597	37.9076	56	2.4425	18.7042
12	1.3242	62.5900	27	1.5597	46.2106	42	1.7362	52.3437	57	2.8251	16.1713
13	1.3242	51.2513	28	1.7951	37.3659	43	1.7362	49.4954	58	2.9133	17.3173
14	1.7362	42.0111	29	2.06	34.0432	44	1.7362	38.6335	59	3.3253	19.3749
15	1.7362	30.1649	30	2.06	34.0266	45	1.9120	34.6421	60	5.0027	10.4199
X	0.9907	90.2920		1.0457	90.0306		1.2497	82.2726		2.2095	27.2074
σ	0.4090	99.0312		0.5720	74.1444		0.4905	69.9420		0.9069	14.0542

FUENTE DIRECTA

FIGURA 3

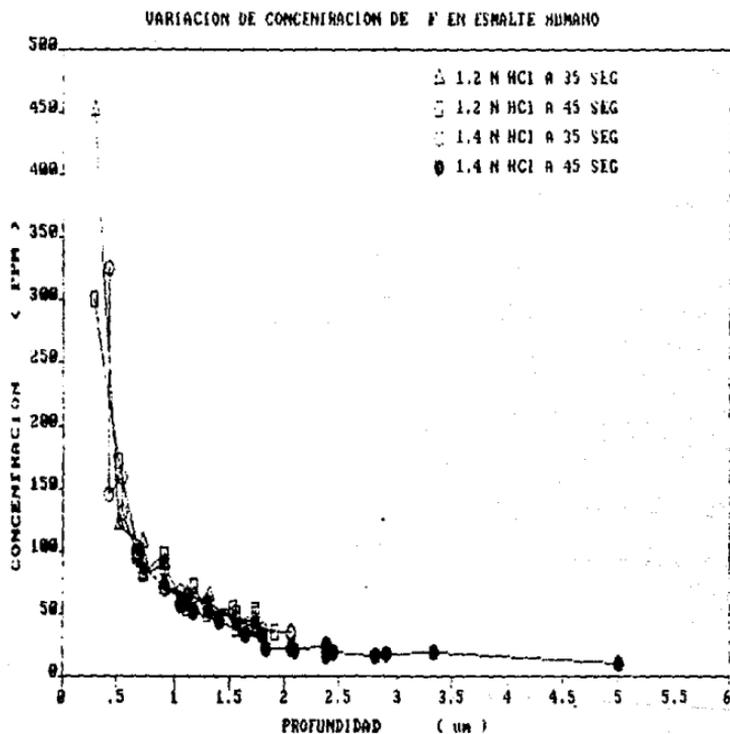


FIGURA 4

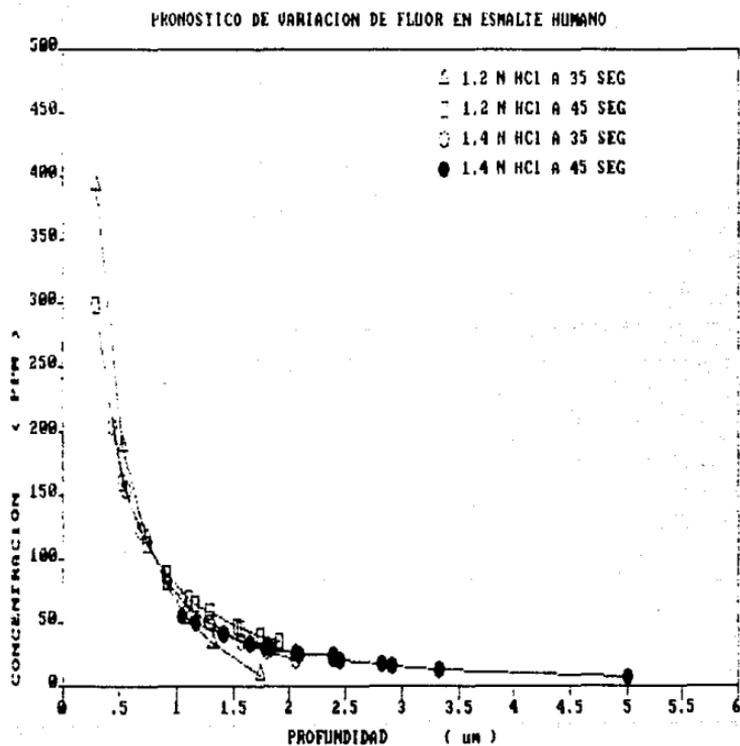


TABLA IV

CONCENTRACION DE MAGNESIO Y PROFUNDIDAD DE BIOPSIAS  
SEGUN ATAQUE ACIDO Y TIEMPO DE EXPOSICION EN ESMALTE  
DENTAL DE MOLARES DECIDUOS DE NIÑOS DE 5 A 14 AÑOS  
RESIDENTES DEL ESTADO DE MEXICO

ESTUDIO IN VITRO

TRATAMIENTO I			TRATAMIENTO II			TRATAMIENTO III			TRATAMIENTO IV		
1.2 N HCl 35"			1.4 N HCl 35"			1.2 N HCl 45"			1.4 N HCl 45"		
UNIDAD DE OBSERVACION	PROF. $\mu$ m	[ Mg ] PPM	UNIDAD DE OBSERVACION	PROF. $\mu$ m	[ Mg ] PPM	UNIDAD DE OBSERVACION	PROF. $\mu$ m	[ Mg ] PPM	UNIDAD DE OBSERVACION	PROF. $\mu$ m	[ Mg ] PPM
01	0.2943	334.2397	16	0.4414	126.9234	31	0.2943	156.5426	46	1.0594	41.1328
02	0.5297	122.2245	17	0.4414	104.3592	32	0.5297	164.5330	47	1.1771	37.0195
03	0.7357	88.0011	18	0.5591	133.6037	33	0.7357	66.0000	48	1.4125	34.3750
04	0.7357	101.5397	19	0.5591	115.7099	34	0.9123	81.0063	49	1.6479	22.6649
05	0.7357	143.8479	20	0.6768	91.9736	35	0.9123	117.3704	50	1.7951	25.6621
06	0.7357	108.3090	21	0.6768	45.9868	36	1.1102	81.2756	51	1.8245	17.0596
07	0.9123	79.1567	22	0.6768	79.0973	37	1.1771	47.5965	52	2.06	15.1099
08	0.9123	113.2760	23	0.9123	64.1443	38	1.2948	37.5000	53	2.0894	25.6230
09	0.9123	113.2760	24	0.9123	30.2136	39	1.5302	42.3077	54	2.3036	14.6249
10	1.1102	43.4212	25	1.0594	30.7024	40	1.5597	49.4922	55	2.3036	19.3257
11	1.1102	45.6479	26	1.2948	39.4231	41	1.5597	43.1061	56	2.4425	12.7433
12	1.3242	65.0121	27	1.5597	23.9470	42	1.7362	41.5906	57	2.8251	15.4267
13	1.3242	56.4104	28	1.7951	19.4199	43	1.7362	50.0035	58	2.9133	14.9573
14	1.7362	56.6493	29	2.06	22.3626	44	1.7362	59.5176	59	3.3253	20.2179
15	1.7362	55.2152	30	2.06	22.3626	45	1.9120	40.3552	60	5.0027	10.2036
X	0.9907	101.0010		1.0437	64.4260		1.2497	72.4772		2.2095	21.7431
$\sigma$	0.4090	71.3091		0.3720	40.0920		0.4905	41.6354		0.3069	9.3542

FUENTE DIRECTA

FIGURA 5

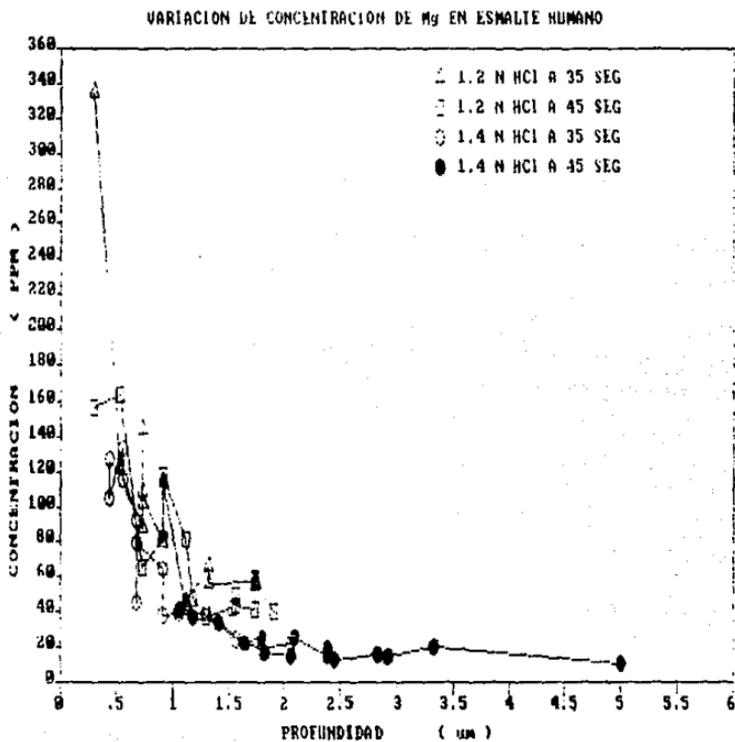


FIGURA 6

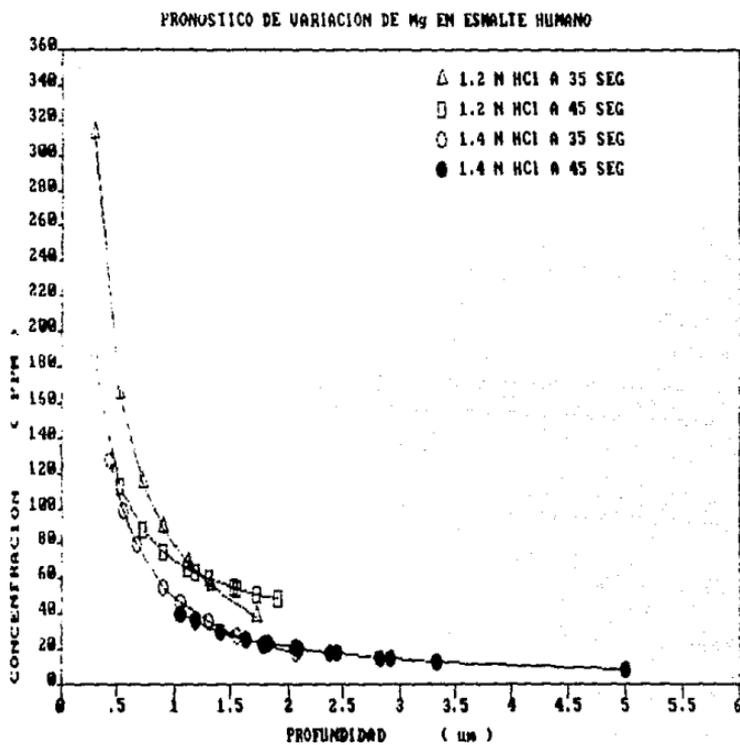


TABLA V

CONCENTRACION DE PLOMO Y PROFUNDIDAD DE BIOPSIAS  
SEGUN ATAQUE ACIDO Y TIEMPO DE EXPOSICION EN ESMALTE  
DENTAL DE MOLARES DECIDUOS DE NIÑOS DE 5 A 14 AÑOS  
RESIDENTES DEL ESTADO DE MEXICO (1988)

ESTUDIO IN VITRO

TRATAMIENTO I			TRATAMIENTO II			TRATAMIENTO III			TRATAMIENTO IV		
1.2 N HCl 35"			1.4 N HCl 35"			1.2 N HCl 45"			1.4 N HCl 45"		
UNIDAD DE OBSERVACION	PROF µm	[ Pb ] PPM									
01	0.2943	558.0147	16	0.4414	0.0	31	0.2943	761.5508	46	1.0594	152.6790
02	0.5287	705.1443	17	0.4414	366.6675	32	0.5287	0.0	47	1.1771	137.5011
03	0.7357	304.6190	19	0.5591	400.0111	33	0.7357	220.0026	40	1.4125	0.0
04	0.7357	507.6164	19	0.5591	0.0	34	0.9123	177.4203	49	1.6479	135.9092
05	0.7357	220.0026	20	0.6760	331.1051	35	0.9123	245.6509	50	1.7951	0.0
06	0.7357	0.0	21	0.6760	459.0602	36	1.1182	200.4056	51	1.0245	122.0294
07	0.9123	341.1929	22	0.6760	459.0602	37	1.1771	190.3062	52	2.06	151.0990
08	0.9123	409.4315	23	0.9123	245.6509	38	1.2948	125.0000	53	2.0094	140.9710
09	0.9123	177.4203	24	0.9123	245.6509	39	1.5302	146.4499	54	2.3036	130.5793
10	1.1182	200.4056	25	1.0594	215.5402	40	1.5597	143.6070	55	2.3036	76.9231
11	1.1182	278.3411	26	1.2948	0.0	41	1.5597	0.0	56	2.4425	91.7519
12	1.3242	94.0173	27	1.5597	101.7739	42	1.7362	0.0	57	2.0251	79.3270
13	1.3242	0.0	28	1.7951	0.0	43	1.7362	93.2204	58	2.9133	76.9231
14	1.7362	0.0	29	2.06	70.5715	44	1.7362	93.2204	59	3.3253	67.3930
15	1.7362	0.0	30	2.06	70.5715	45	1.9128	04.6157	60	5.0027	62.2172
Σ	0.9907	252.5525		1.0457	199.0730		1.2497	165.4417		2.2095	95.6122
σ	0.4010	221.0292		0.3720	172.9257		0.4905	102.0359		0.9069	50.5010

FUENTE DIRECTA

FIGURA 7

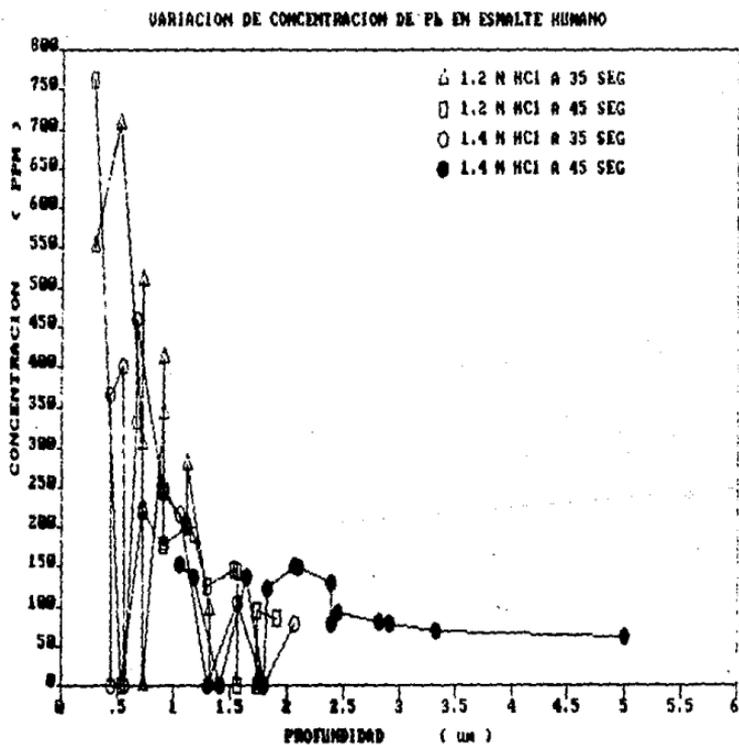


FIGURA 8

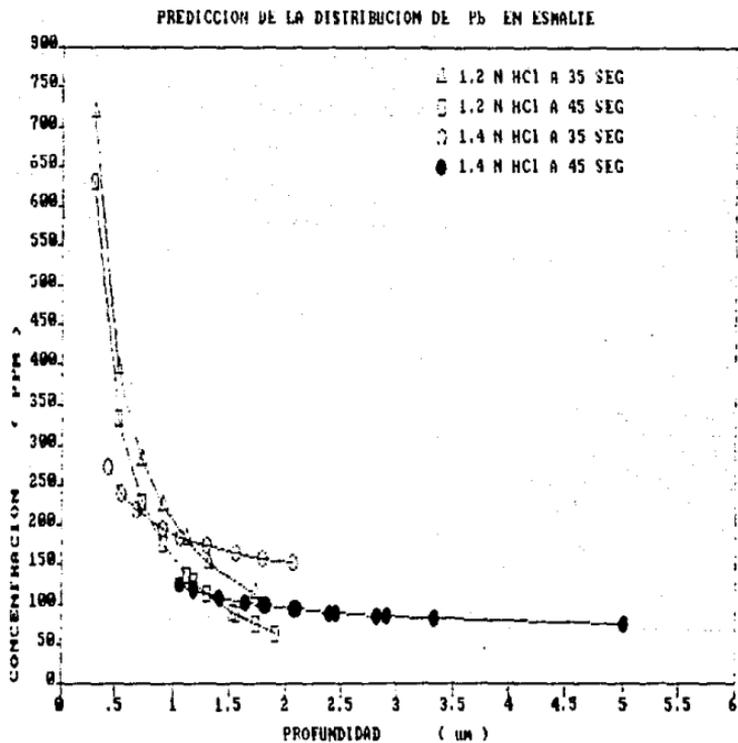


TABLA VI

**CONCENTRACION DE ZINC Y PROFUNDIDAD DE BIOPSIAS  
SEGUN ATAQUE ACIDO Y TIEMPO DE EXPOSICION EN ESMALTE  
DENTAL DE MOLARES DECIDUOS DE NIÑOS DE 5 A 14 AÑOS  
RESIDENTES DEL ESTADO DE MEXICO (1988)**

**ESTUDIO IN VITRO**

TRATAMIENTO I			TRATAMIENTO II			TRATAMIENTO III			TRATAMIENTO IV		
1.2 N HCl 35"			1.4 N HCl 35"			1.2 N HCl 45"			1.4 N HCl 45"		
UNIDAD DE OBSERVACION	PROF µm	[ Zn ] PPM									
01	0.2943	42.3888	16	0.4414	104.3592	31	0.2943	84.6176	46	1.0594	57.5859
02	0.5297	35.2571	17	0.4414	56.4184	32	0.5297	58.7618	47	1.1771	68.7586
03	0.7357	25.3849	18	0.5591	71.2553	33	0.7357	82.9241	48	1.4125	88.1411
04	0.7357	16.9239	19	0.5591	82.3898	34	0.9123	58.4966	49	1.6479	49.1872
05	0.7357	25.3849	20	0.6768	45.9868	35	0.9123	27.2954	50	1.7951	41.6143
06	0.7357	25.3849	21	0.6768	36.7895	36	1.1182	16.7805	51	1.8245	52.5437
07	0.9123	43.6727	22	0.6768	79.8973	37	1.1771	39.1349	52	2.06	42.9121
08	0.9123	28.4716	23	0.9123	58.6852	38	1.2948	24.8385	53	2.8894	35.7538
09	0.9123	34.1193	24	0.9123	28.4716	39	1.5382	38.1836	54	2.3836	22.4536
10	1.1182	11.1336	25	1.0594	17.6283	40	1.5597	7.9826	55	2.3836	37.0845
11	1.1182	16.7805	26	1.2948	35.5769	41	1.5597	11.9739	56	2.4425	41.7891
12	1.3242	9.4817	27	1.5597	29.5356	42	1.7362	17.9278	57	2.8251	26.4423
13	1.3242	23.5843	28	1.7951	25.6621	43	1.7362	38.8344	58	2.9133	25.6418
14	1.7362	7.1788	29	2.06	25.9888	44	1.7362	7.1788	59	3.3253	9.3681
15	1.7362	18.7562	30	2.06	19.3487	45	1.9128	13.8178	60	5.0827	17.6697
X C	0.9987 0.4898	23.1217 11.6581		1.0457 0.5728	47.2785 26.9311		1.2497 0.4985	33.5328 25.2328		2.2895 0.9869	41.1236 28.4428

JUDITE DIRECTA

FIGURA 9

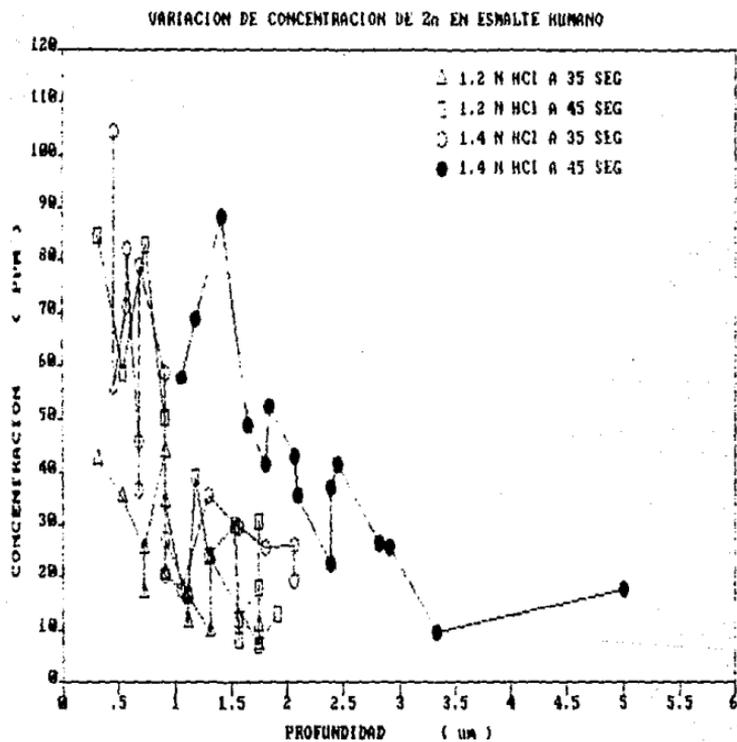
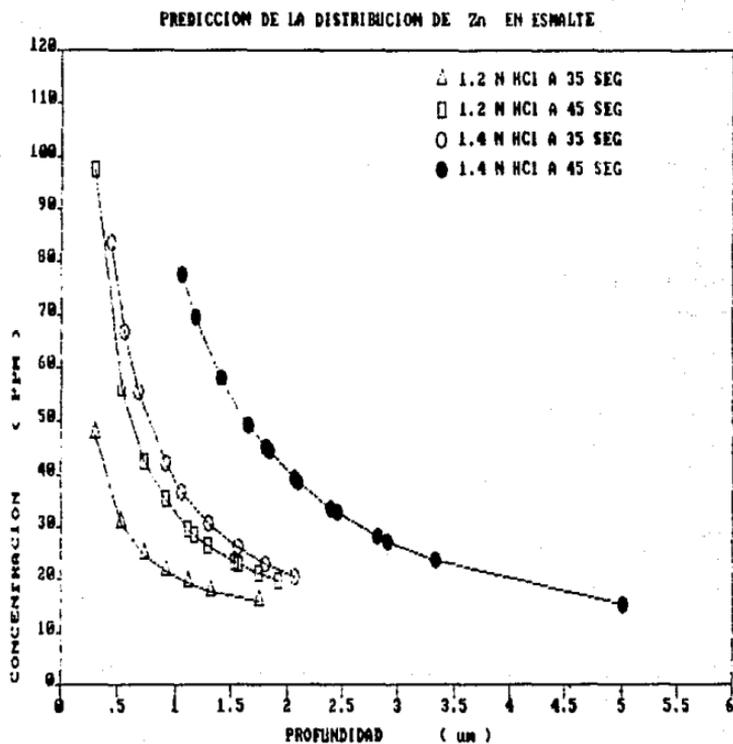


FIGURA 10



## VIII. DISCUSSION

## TECNICA DE BIOPSIA

Con la técnica de biopsia desarrollada en este estudio se obtienen muestras representativas de esmalte para la cuantificación de elementos trazas, con un alto grado de seguridad para no producir Iatrogenia, ya que las muestras fueron tomadas del tercio medio dental donde el grosor varia de 2 a 2.5 mm, y las profundidades logradas en el estudio fueron de 0.2943 a 5.007  $\mu\text{m}$ . Aún cuando se tomaran muestras del tercio cervical, que presenta generalmente un grosor de 0.5 a 1 mm se puede asegurar que no dañará la estructura dentaria.

De los cuatro tratamientos realizados en el presente estudio, el más conveniente para realizar análisis de composición química y evaluación de agentes profilácticos es el tratamiento IV (1.4 N HCl, 45 seg), proporcionando cantidades de esmalte suficiente para favorecer la determinación de los elementos constitutivos del esmalte.

## ELEMENTOS TRAZAS

**Flúor.** Los resultados ponen de manifiesto que la concentración de este elemento tiende a disminuir hacia las capas profundas del esmalte y concentrarse en las capas superficiales del mismo, patrón de distribución similar al descrito. Sin embargo, los valores obtenidos son menores a los de otros estudios (Brudevold, et. al. 1956; Assenden, 1973; Iijima y Katayama, 1985) donde el rango de concentración en dientes deciduos es de 900 a 650 ppm en poblaciones fluoruradas. Considerando que la población en estudio es fluorurada, los resultados son sumamente bajos y puede deberse a que no existe una administración adecuada de suplementos fluorurados durante el desarrollo de la dentición o bien a las diferencias fenotípicas, hábitos higiénico-dietéticos y medio ambiente en que se encuentra la población en estudio.

**Magnesio.** La concentración de este elemento teóricamente tiende a aumentar hacia las capas profundas del esmalte: se describen valores de 870 a 5720 ppm del exterior al interior del esmalte respectivamente (Shaw and Yen, 1972; Lappalainen, et al. 1981). Sin embargo, los valores obtenidos muestran un patrón de distribución inverso, es decir, la concentración de este elemento disminuyó de la

superficie a las capas profundas del esmalte; esto pudo deberse a que las unidades experimentales en que se trabajó presentaban lesiones cariosas, y en estas condiciones existe una eliminación preferencial de magnesio, ya que un alto porcentaje de este se pierde durante los primeros periodos de ataque ácido.

**Plomo.** Se ha establecido la presencia de plomo en los dientes humanos, aún en aquellos que no han brotado, los primeros estudios describen concentraciones de 20 a 70 ppm en el total del esmalte (Wvss, 1951); concentraciones en el rango de 500 a 70 ppm para las capas externas e internas respectivamente en dientes erupcionados de personas menores a los 20 años, aunque estos niveles parecen elevarse con la edad en las capas superficiales (Brudevold y Steadman, 1956; Antilla, 1986).

Los valores obtenidos en el presente estudio son superiores a los descritos para personas menores de 20 años, aunque el 22% de las muestras no presentó plomo, el patrón de distribución exhibido por la concentración de este elemento es similar al teórico, tendiendo a concentrarse en las capas superficiales del esmalte; por lo que la variación que hubo en los valores de concentración de las muestras se

debió al grado de exposición al que se encontraba la población en estudio a este elemento y no estrictamente a la edad.

**Zinc.** La presencia de Zinc en las capas superficiales del esmalte favorece la integridad del mismo, mediante la inhibición de procesos metabólicos bacterianos. Se describen valores de 200 a 900 ppm en la capa superficial y un valor constante de 200 ppm en el esmalte interno (Anttila, et al, 1986; Lappalainen, et al, 1981). A pesar que se presentaron valores de concentración erráticos para este elemento, al hacer el análisis individual de los tratamientos se observa que el comportamiento de la concentración de este elemento coincide con el descrito, el cual nos indica que el zinc tiende a concentrarse en la superficie del esmalte y disminuir hacia las capas profundas del mismo, dado que el rango de concentración obtenido es menor al descrito en la literatura, esto pudo deberse al área geográfica y hábitos higiénico-dietético-sociales de la población en estudio.

## IX. CONCLUSIONES

Al emplear diferentes concentraciones de ácido clorhídrico (HCl) se presentan variaciones en la profundidad de biopsia, así como, al modificar el tiempo de exposición al contacto ácido, debido a las características fisicoquímicas que presenta el esmalte dental humano.

La velocidad de reacción desmineralizante es aumentada al variar la concentración positivamente, sin embargo, el tiempo es más significativo, porque incrementa el contacto ácido con la superficie del esmalte manteniendo la velocidad de reacción pero en capas profundas esta velocidad se ve aumentada porque están menos calcificadas que las de la superficie.

Las profundidades obtenidas en este estudio indican, que la concentración de los elementos trazas (F, Mg, Pb y Zn) en el esmalte depende de la capa muestreada, la cual está relacionada con la cantidad de esmalte que es removido y es regulada mediante el ajuste de la concentración de ácido y tiempo de exposición. Por otra parte, se observó que la distribución de dichos elementos es inversa a la profundidad de la capa.

De lo anterior concluimos que la técnica por ataque ácido es confiable, segura, eficaz y se encuentra en consonancia con la tecnología disponible en México, además es idónea para el análisis de esmalte libre de dentina, y útil para determinar la composición química de los diferentes tejidos que componen la unidad dental, y evaluación de agentes profilácticos.

X. BIBLIOGRAFIA

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

1. Anttila. Proton induced X ray emission analysis of Zn Sr and Pb in human deciduous tooth enamel and its relationship to dental caries scores. Archs Oral Biol, 31: 723-726; (1986).
2. Anttila. Lead content of deciduous tooth enamel from a high radon area. Acta Odontol Scand, 45: 283-287; (1987).
3. Assenden R. et al. Control of sampling areas for human tooth in enamel biopsies. Archs Oral Biol, 17: 355-358; (1972).
4. Assenden R. et al. Fluoride levels in the surface enamel of different types of human teeth. Archs Oral Biol, 18: 1403-1410; (1973).
5. Assenden R. Fluoride levels of human surface enamel after the use of fluoride dentifrices. Archs Oral Biol, 18: 133-135; (1973).
6. Brudevold F. et al. Distribution of fluoride in human enamel. Journal Dental Research, 35/3: 420-429; (1956).

7. Brudevold F. Steadman L. The distribution of lead in human enamel. Journal Dental Research. 35/3; 430-437; (1956).
8. Brudevold F. et al. An enamel biopsy method for determination of fluoride in human teeth. Archs Oral Biol. 13; 877-885; (1968).
9. Brudevold F. et al. Use of an enamel biopsy method for determination of in vivo uptake of fluoride from topical treatments. Caries Research. 3; 119-133; (1969).
10. Brudevold F. et al. Determination of trace elements in surface enamel of human teeth by a new biopsy procedure. Arch Oral Biol. 20; 667-673; (1975).
11. Charlton G. et al. Association between dental plaque and fluoride in surface enamel. Archs Oral Biol. 19; 139-143; (1974).
12. Curzon M. Crocker D. Relationships of trace elements in human tooth enamel to dental caries. Archs Oral Biol. 23; 647-653; (1978).

13. Cutress T. A preliminary study of the microelement composition of the outer layer of dental enamel. Caries Research, 13; 73-79; (1979).
14. De la Cruz C. Avalicao comparativa dos efeitos da aplicacao topica de tres agentes fluorados. Estudio in vitro. Tesis; Porto Alegre; (1984).
15. Dijkman A, Arends J. Thickness of enamel layer removed by  $\text{HClO}_4$  etching. Caries Research. 16; 147-155; (1982).
16. Feagin F, Thiradilok S. Effects of magnesium and fluoride on ion exchange and acid resistance of enamel. Journal of oral Pathology, 8; 23-27; (1979).
17. Gedalia I, et al. Fluoride content of superficial enamel layer and its correlation with the fluoride content of saliva, tooth age, and DMFT count. Journal Dental Research; 40; 865-869; (1961).

18. Grobler S. LouW A. Enamel fluoride levels in deciduous and permanent teeth of children in high, medium and low fluoride areas. Archs Oral Biol, 31/7; 423-426; (1986).
19. Hatz P. et al. A new method of enamel biopsy for fluoride determination. Helv Odont Act. 14: 26-29; (1970).
20. Iijama, Katayama. Fluoride concentration in deciduous enamel in high-hand low fluoride areas. Caries Research, 19: 262-263; (1985).
21. Isaac S, et al. Solubility rate and natural fluoride content of surface and subsurface enamel. Journal Dental Research; 37: 254-263; (1958).
22. Jenkins G. Speirs, R. Some observations on the fluoride concentration of dental tissues. Journal Dental Research; 33: 734; (1954).
23. James H. et al. Sodium, Potassium, and Magnesium concentrations in the enamel and dentin of human and rhesus monkey teeth. Journal Dental Research, 51/1: 95-101; (1972).

24. Lappalainen R. et al. The concentrations of Zn and Mg, in human enamel dentin related to age and their concentrations in the soil. Archs Oral Biol, 26: 1-6; (1981).
25. Loose F. et al. Natural elements of the periodic table in human dental enamel. Caries Research; 8; 123-134; (1974).
26. Muhlemann H. et al. A chemical method for the removal of enamel surface layers by means of strong acids. Arch Oral Biol; 10; 139-148; (1965).
27. Muksgaard E, Brunn C. Determination of fluoride in superficial enamel biopsies from human teeth by means of gas chromatography. Archs Oral Biol, 18; 735-744; (1973).
28. Neil J. Fisiología y bioquímica bucal. Limusa; México; (1983).
29. Nicholson C. et al. An automated device for removing enamel layers by dissolution. Caries Research; 8; 293-299; (1974).

30. Singer L. Armstrong W. Determination of fluoride in bone with the fluoride electrode. Analytical Chemistry, 613-614; (1964).
31. Soremark R and Samsahl K. Gamma-Ray spectrometric analysis of elements in normal human enamel. Archs Oral Biol; 6: 275-283; (1961).
32. Speirs R. The nature of surface enamel. British Dental Journal; 100: 709-217 (1959).
33. Robinson C, et al. Distribution of Magnesium in mature human enamel. Caries Research. 15: 70-77; (1981).
34. Retief D, et al. A microanalytical technique for the estimation of fluoride in rat molar enamel. Archs Oral Biol; 22: 208-213; (1977).
34. Vander M, et al. An evaluation of an in vivo enamel acid biopsy technique for fluoride determination. Journal Dental Association. 29: 81-87; (1974).

35. Vogel G. et al. A microanalytical procedure for the determination of calcium, phosphate and fluoride in enamel biopsy samples. Caries Research, 17: 23-31; (1983).
36. Waters N. The selectivity of human dental enamel to ionic transport. Archs Oral Biol, 16: 305-322; (1978).
37. Weatherell J, et al. Variations in the chemical composition of human enamel. Journal Dental Research Supplement, 53/2: 180-192; (1974).
38. Willard H. et al. Instrumental methods of analysis. D Van Nostrand, Company New York; (1974).
39. Williams R. Elliott. J. Bioquímica dental básica y aplicada. El manual moderno; México; (1982).
40. Wolfgang B. Action of trace elements on the metabolism of fluoride. Journal dental Research, 42: 453-460; (1963).

## ANEXO I

## A. GENERALIDADES DE ESMALTE DENTAL HUMANO

### 1. DEFINICION

El esmalte es el tejido calcificado más duro del cuerpo humano. su función es la de una resistente cubierta protectora de la corona anatómica de los dientes, permitiéndoles soportar la aplicación de fuerzas mecánicas de gran magnitud. lo que los hace adecuados para la masticación.

### 2. PROPIEDADES FISICAS

a. Descripción. Capa brillante, semiotopa, de espesor variable, es duro y quebradizo; carece de color propio. éste depende de la dentina que produce la apariencia blanco-amarillenta de los dientes permanentes y blanco-azulada de los temporales.

b. Densidad. El esmalte dental humano tiene una densidad de 2.95 g/ml (Manly y Hodge,1935; Aasenden,1981).

c. Permeabilidad. Es extremadamente escasa: se considera al esmalte como una membrana semipermeable que

permite el flujo lento de agua, iones y sustancias de pequeño peso molecular a través de los poros que existen entre los cristales del esmalte desde el medio bucal al interior.

d. Solubilidad. El esmalte es soluble en medio ácido, pero ciertos iones modifican su índice de solubilidad.

Las propiedades físicas antes citadas dependen de las propiedades químicas que a continuación se describen.

### 3. COMPOSICION QUIMICA

El esmalte es el tejido más altamente mineralizado del cuerpo humano. Su contenido inorgánico varia de 95-96% en dientes permanentes y de 92-93% en dientes deciduos mientras que el contenido orgánico se encuentra en un rango de 0.2 al 2% presentándose valores más altos en dientes deciduos, el porcentaje remanente es agua.

a. Contenido inorgánico. Consta basicamente de un fosfato de calcio cristalino conocido como hidroxiapatita, que también se encuentra en dentina y cemento. Varios iones, pueden ser incorporados dentro del esmalte

o adsorberse en los cristales de hidroxiapatita si se hallan presentes durante su formación.

b. Contenido orgánico. La naturaleza del contenido orgánico del esmalte dental no se conoce completamente. Durante su desarrollo, la matriz del esmalte se parece a la epidermis queratinizada; contiene una relación de aminoácidos y un complejo de proteínas-polisacáridos; también se han encontrado lípidos con trazas de iones de azúcares citrato y lactato, así mismo se han identificado triglicéridos y colesterol.

c. Agua. Se ha calculado que aproximadamente 25% del agua se encuentra adsorbida en los cristales de la apatita y el agua restante se encuentra combinada con el componente mineral, seguramente en forma de una cubierta hidratada rodeando a la hidroxiapatita. La presencia de esta capa de hidratación facilita la difusión de iones y moléculas a través del esmalte promoviendo el intercambio iónico. El agua es indispensable en la interacción del esmalte con su ambiente químico.

B. ESTRUCTURA CRISTALINA DE LA FRACCION INORGANICA DEL  
ESMALTE DENTAL HUMANO

1 NATURALEZA QUIMICA DE LOS CRISTALES

Los primeros análisis químicos indicaron que la materia mineral del esmalte dental humano era una sal, fosfato de calcio. Investigaciones por difracción de rayos X confirmaron que la fase mineral corresponde a una clase de compuestos conocidos como apatitas, cuya fórmula general es:



Específicamente, la apatita presente en el esmalte es la *hidroxiapatita* (HA), donde X equivale a OH.

La microscopía electrónica ha mostrado que la *hidroxiapatita* está compuesta por cristales muy pequeños que son la verdadera unidad estructural de la apatita. la unidad de espacio más pequeña del cristal de *hidroxiapatita* es denominada célula unitaria, la cual consta de 18 iones: diez iones de calcio, seis iones de fosfato y dos

iones de hidroxilo. tiene forma paralelepípeda y se representa estequiométricamente, como:



La hidroxiapatita pertenece al sistema hexagonal de cristales. y la acumulación de sus unidades repetitivas en la dirección de sus tres ejes forma un cristal completo. Se caracteriza por la preservación de su estructura cristalina aún bajo la influencia de la sustitución de alguno de sus componentes químicos. Así, el **magnesio (Mg)**, **plomo (Pb)**, **zinc (Zn)** pueden substituir al calcio en su posición; el **flúor (F)** puede substituir al hidroxilo, sin que se pierda la configuración estructural de la hidroxiapatita. Sin embargo, la presencia de estos iones en el medio en que se forma la apatita pueden influir en su cristalinidad, y por tanto en la solubilidad del esmalte, ya que algunos de éstos, tienden a inhibir el crecimiento de los cristales y conducir a la formación de cristales con baja cristalinidad, favoreciendo de esta manera la solubilidad de la hidroxiapatita y con ello la solubilidad del esmalte dental; otros, como el flúor, producen el efecto inverso, es decir,

mejoran la cristalinidad de la hidroxiapatita reduciendo la solubilidad de ésta y por ende la solubilidad del esmalte.

Por otra parte, el ion hidronio puede penetrar en la estructura de la hidroxiapatita y con ello promover la disolución del esmalte dental, como consecuencia de la reacción entre el ion ( $H^+$ ) y el material inorgánico del esmalte (HA). Al llevarse a cabo esta reacción en el enrejado de la hidroxiapatita cambian las propiedades de cristalinidad y solubilidad del esmalte. Sin embargo, la disolución del esmalte se ve afectada por el ambiente que rodea la superficie de éste por lo que los elementos trazas de la superficie pueden influir en la velocidad de disolución del esmalte dental.

## 2. MECANISMOS DE SUSTITUCION IONICA EN LOS CRISTALES

La incorporación al esmalte de componentes iónicos depende de la disponibilidad de iones y accesibilidad de los cristales. Esto implica la participación de los procesos siguientes :

a. Adsorción. Este proceso se presenta cuando entran al retículo iones demasiado grandes o con una carga

inapropiada. La adsorción, en este caso, es una captación no específica sobre la superficie del cristal de hidroxiapatita que implica la presencia de una fuerza electrostática débil entre los iones.

b. Intercambio iónico. Los iones que se hallan formando los cristales de hidroxiapatita pueden sufrir intercambio iónico con otros iones que se encuentren presentes en el medio, por lo que casi una tercera parte de los iones de la apatita pueden intercambiarse. Se puede presentar un intercambio isoiónico, esto es, la sustitución de cationes y aniones similares en tamaño y carga a los iones del enrejado, sin alterar la red del cristal, también puede llevarse a efecto un intercambio heteroiónico, en donde la sustitución de un ion por otro que no sea igual en tamaño y carga producirá cambios en la composición y propiedades de los cristales de hidroxiapatita.

## C. ELEMENTOS TRAZAS EN ESMALTE DENTAL HUMANO

### 1. GENERALIDADES

Los elementos trazas, huella o elementos menores, son los términos que se aplican a las sustancias que se encuentran en cantidades muy pequeñas en los sistemas biológicos. Este grupo de elementos inorgánicos están presentes en los tejidos y líquidos corporales del hombre sólo en cantidades mínimas (microgramos o miligramos por gramo de tejido húmedo). Debe tenerse en cuenta que los elementos trazas tanto, esenciales como no esenciales se encuentran en concentraciones óptimas, ya que un exceso de éstos puede ser tóxico y la insuficiencia conducir a metabolismos defectuosos.

A pesar de que los elementos trazas se hallan en niveles sanguíneos y tisulares bajos, es importante prestarles atención, ya que tienen gran trascendencia en algunos procesos biológicos.

La búsqueda de una explicación al papel que desempeñan los elementos trazas en los tejidos dentales ha propiciado que se lleven a cabo un gran número de investigaciones.

Losee y colaboradores, en un estudio para determinar la presencia y variación de muchos elementos trazas y poder explicar su influencia sobre el proceso carioso en el esmalte, encontraron que por lo menos 41 elementos del sistema periódico estaban incorporados al esmalte dental humano. Sus investigaciones revelaron que se encuentran presentes los 7 elementos principales más abundantes en los organismos vivos (C,H,O,Na,N,P y Ca). En el análisis de los elementos restantes, realizados con esmalte entero obtenido de premolares, 35 elementos se encontraron en concentraciones mensurables, mientras que 31, si es que estaban presentes tenían concentraciones por debajo de los límites detectables a través del procedimiento utilizado.

De acuerdo a los trabajos realizados por otros investigadores, entre ellos Brudevold y Soremark (1967), se sabe que el esmalte superficial difiere considerablemente en cuanto a contenido y concentración de elementos trazas con respecto al esmalte más profundo.

## 2. FUNCION

A pesar de que han sido estudiados un gran número de elementos trazas presentes en el desarrollo normal de los dientes, resulta difícil dar una definición precisa y definitiva a cerca del papel que desempeñan la mayoría de estos elementos en los tejidos dentales. Algunos no parecen desempeñar un papel biológico y sólo están presentes como contaminantes adventicios del ambiente tales como *Pb*, otros parecen estar asociados con los procesos enzimáticos de las células entre los que pueden citarse *Fe, Zn, Cu, I, Mg, Co* y *Mn*, los cuales tienden a actuar como catalizadores en forma de metaloenzimas en las que el elemento traza es parte integral de la molécula de la enzima, también actúa en complejos metal-enzima en los que el ion metálico tiene una unión débil con la enzima, es decir, el ion metálico no es parte integrante de la molécula; así mismo actúan como constituyentes o activadores de hormonas, y algunos más probablemente son nutrientes esenciales, pero cuya acción metabólica aún no está clara (*F, Sr, Br*).

Los elementos trazas pueden modificar la composición química y las propiedades físicas de los dientes, especialmente las capas superficiales del esmalte. Ellos pueden alterar la cristalinidad y el tamaño de los

crisales de la hidroxiapatita. influyendo asi, en la solubilidad del esmalte. Estos elementos. tambien pueden actuar como una barrera. impidiendo la difusion de los iones hidronio ( $H^+$ ), reduciendo la velocidad de disolucion a la vez que retardan la desmineralizacion del esmalte. Ademas. pueden influir en la ecologia microbiana de la placa. ya sea inhibiendo o promoviendo el crecimiento de bacterias productoras de caries.

### 3. DISTRIBUCION.

Debido a la importancia que tienen los elementos trazas en las propiedades fisicas y quimicas de la estructura adamantina se han llevado a cabo varios estudios a cerca de la distribucion normal que presentan estos en el esmalte dental humano. Los estudios reportan que este tejido posee una constitucion y distribucion heterogenea de elementos quimicos que va a depender de la profundidad de sus capas. y, ademas, la concentracion de estos elementos en el esmalte de un mismo diente no es uniforme de una superficie a otra (Brudevold, 1968; Losee, et. al. 1974; Watherell, 1975).

La mayor parte de los elementos trazas están presentes en todo el diente en concentraciones que van desde miles de ppm hasta menos de 0.01 ppm, aunque en ciertos lugares, como es la superficie externa del esmalte la concentración puede ser más alta.

Existen iones que tienden a acumularse en aquellas partes del diente que se encuentran expuestas durante mayor tiempo a los fluidos corporales, principalmente al esmalte superficial. Por otra parte, estos fluidos también pueden disolver ciertos iones que estén presentes en el esmalte, en tal caso, y debido a que las capas externas de este tejido son las que se encuentran vigorosamente bañadas por los fluidos corporales, serán las que contengan estos constituyentes en menor cantidad.

De acuerdo a estudios realizados se ha encontrado que la concentración de algunos elementos trazas es superior en la superficie del esmalte que en el interior (F,Pb,Zn,Fe); otros tienen menor concentración en la superficie que en el interior (Na,Mg) y otros presentan una distribución aproximadamente uniforme (Sr,Cu,K).

Las diferencias en la composición y distribución del esmalte se explica por el continuo intercambio fisicoquímico

entre la superficie adamantina y el líquido bucal, así como los cambios que se presentan durante la disolución del esmalte, esto origina la discrepancia que existe en la concentración de los elementos trazas a medida que se avanza de las capas externas a las internas del esmalte.

## APENDICE I

## A. PREPARACION DE SOLUCIONES

### 1. Solución Stock de Calcio

1,000 mg/l

En un matraz volumétrico de 1 lt. disolver 2.4973 g de carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) anhidro en 25 ml de una solución de ácido clorhídrico 1 M (HCl); adicionar lentamente para evitar pérdidas durante la efervescencia, llevar al aforo con agua deionizada. Almacenar en frasco de polietileno.

### 2. Solución Stock de Fluor

Preparar una solución 1 M de fluoruro de sodio (NaF) en agua deionizada. Almacenar en frasco de polietileno.

### 3. Solución Stock de Magnesio

1,000 mg/l

Disolver 5.2734 g de nitrato de magnesio [ $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ] en 200 ml de agua deionizada y llevar al aforo a 1 lt. Almacenar en frasco de polietileno.

1. Solución Stock de Plomo

1.000 mg/l

Disolver 1.5980 g de nitrato de plomo  $[Pb(NO_3)_2]$  en 100 ml de agua deionizada y diluir a 1 lt en un matraz volumétrico. Almacenar en frasco de plástico.

3. Solución Stock de Zinc

1.000 mg/l

Disolver 4.5506 g de nitrato de zinc  $[Zn(NO_3)_2]$  en 100 ml de agua deionizada y, aforar a 1 lt con agua deionizada. Almacenar en frascos de polietileno.

6. Oxido de Lantano

0.4%  $La^{+3}$

Pesar 4.7 g de óxido de lantano grado absorción atómica y transferir a un matraz de 500 ml. adicionar 300 ml de agua deionizada, seguido por 25 ml de ácido clorhídrico (HCl). Calentar el matraz y agitar la mezcla hasta disolución completa. Enfriar y filtrar en un matraz volumétrico de 1 lt. Llevar al aforo con agua y transferir a un frasco de polietileno.

## 7. Tisab

Colocar aproximadamente 500 ml de agua en un matraz volumétrico de 1 lt. adicionar 57 ml de ácido acético glacial y 58 g de cloruro de sodio. Colocar el matraz en baño de agua para enfriar y adicionar una solución de hidróxido de sodio 3 M. hasta tener un pH entre 3.0 -3.5. Enfriar a temperatura ambiente y llevar al aforo con agua deionizada

### Nota:

Todo el material fué lavado con HCl durante 24 hrs y posteriormente se enjuagó con agua deionizada.