

66
2 ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

TECNICAS POLAROGRAFICAS EN SIALOQUIMICA

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
CIRUJANO DENTISTA
P R E S E N T A
LUIA ILIANA CAMPOS QUINTANA

Director: Dra. Beatríz Aldape Barrios

Director Externo:

Dra. Mireya González Begné

Asesor: Dr. Víctor M. Castaño Meneses

Vo Bo
[Signature]

Vo Bo

[Signature]

[Signature]



México, D. F.

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

FALLA DE ORIGEN



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.

A DIOS:

**GRACIAS SEÑOR
POR HABERME DADO LA VIDA
Y AYUDARME A ALCANZAR ÉSTA META.**

DEDICO ÉSTE TRABAJO

AL MEJOR PADRE:

MI PADRE



A MIS PADRES:

Por ser lo mejor que jamás he tenido,
por su amor y comprensión y sobre todo
por haberme guiado por el camino de éxito.
Los amo.

Gracias

A MIS HERMANOS:

Clara y Eduardo por todo su apoyo
y todo el cariño que siempre me han brindado.

Gracias.

A MIS AMIGOS:

Gracias por su incondicional y
estupenda amistad.

A toda la gente que de alguna
manera me apoyó y tuvo participación
en la realización de ésta tesis GRACIAS.

AGRADEZCO SINCERAMENTE:

A mis dos directores de tesis:

La Dra. Mireya González B. por haberme dado la oportunidad de participar en ésta investigación, por haberme guiado y apoyado, pero sobre todo por haberme brindado su amistad.

Y el Dr. Víctor Castaño M. por todo el apoyo que me brindó durante mi formación profesional.

A Olivia Rivera H. por su paciencia
y valiosa ayuda.

Al Dr. José Luz González por toda su ayuda
para la realización de éste trabajo.

A Oscar L Gámiz por su colaboración
para la realización de éste trabajo.

A la Dra. Beatriz Aldape B. por
todas sus atenciones

A la Facultad de Odontología.

Al honorable jurado.



ÍNDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
HIPÓTESIS.....	3
OBJETIVO.....	3

CAPÍTULO I.

GLÁNDULAS SALIVALES.....	4
Anatomía de las glándulas salivales.....	4
Histología de las glándulas salivales.....	6
Fisiología de las glándulas salivales.....	8
Síntesis y secreción de proteínas.....	9
Fluido y transporte electrolítico.....	11
Control de la secreción neural.....	12

CAPÍTULO II.

SALIVA.....	14
Composición salival.....	15
Funciones salivales.....	17

CAPÍTULO III.

SIALOQUÍMICA.....	22
--------------------------	-----------

CAPÍTULO IV.

ELECTROLITOS.....	24
Secreción electrolítica a través de saliva.....	27

CAPÍTULO V.

INTRODUCCIÓN AL MÉTODO POLAROGRÁFICO	29
Polarógrafo.....	30
Técnica polarográfica.....	31
Ventajas y desventajas en polarografía.....	33
Aplicaciones del método polarográfico.....	35
MATERIALES Y MÉTODOS	
<i>Material</i>	38
Colección y manejo de la muestra salival.....	38
Técnica polarográfica.....	39
<i>Metodología:</i>	
Elaboración de las curvas de calibración.....	40
Dilución de la muestra salival.....	41
Determinación de Cloro en saliva.....	41
Determinación de Calcio en saliva.....	42
Determinación de Sodio en saliva.....	42
Determinación de Potasio en saliva.....	43
Análisis estadístico.....	43
RESULTADOS	
Resultados de las curvas de calibración.....	44
Resultados del análisis polarográfico.....	49
DISCUSIÓN	56
CONCLUSIONES	58
BIBLIOGRAFÍA	59

RESUMEN

Como se sabe, hoy en día la saliva es objeto de múltiples investigaciones, con el propósito principal de utilizarla como sustituto de sangre u orina en el diagnóstico de enfermedades específicas y en una gran variedad de situaciones clínicas. El propósito del presente estudio fue demostrar que a través de un método analítico como lo es la Polarografía, se puede determinar la concentración de electrolitos salivales como son Sodio, Potasio, Cloro y Calcio. Debido a que el estudio es completamente original, no existe reporte alguno al respecto, por lo que primeramente fue necesario determinar los medios y las condiciones para la detección de los diferentes iones. Se seleccionó un solo individuo clínicamente sano entre los 20 y 30 años de edad, al que se le colectó saliva total estimulada por espectoración en un periodo de 5 minutos y entre 8:30 y 10:00 a.m. Dichas muestras fueron analizadas polarográficamente, los resultados obtenidos fueron comparados con los valores reportados en la literatura, analizados por otros métodos; las concentraciones obtenidas polarográficamente de Calcio y Cloro tienen gran similitud con las concentraciones publicadas de poblaciones extranjeras, no así para Sodio y Potasio debido a la semejanza entre ambos electrolitos, siendo imposible determinarlos polarográficamente juntos, por ésto, fue necesario hacer la cuantificación de Sodio a través de un electrodo selectivo para dicho ion.

En general, los resultados obtenidos son satisfactorios tanto en la cuantificación electrolítica de algunos iones salivales como en la sensibilidad del equipo, lográndose con éxito el primer estudio sobre cuantificación electrolítica salival en la población mexicana.

INTRODUCCIÓN

Debido al importante papel que juega la saliva, no sólo por las múltiples funciones que ésta desempeña en la cavidad bucal, sino también por su capacidad diagnóstica con tan solo una pequeña porción de la misma, es tema de diversas investigaciones en diferentes áreas básicas y clínicas. En el presente caso, se propone una nueva metodología para el análisis químico salival, utilizando un método electroquímico llamado Polarografía; dicho método ha sido utilizado anteriormente para la identificación de ciertos elementos en sangre, orina, así como también para identificación de algunos fármacos en el organismo, demostrando ser un método eficaz para análisis químicos en el área médica.

La utilización del método polarográfico para el análisis químico salival, constituye una contribución metodológica innovativa que permitirá cuantificar electrolitos en la misma, aportando una nueva técnica que beneficiará al país, ahorrando altos costos debido a la utilización de equipos más complejos y sofisticados (Espectroscopia de absorción atómica).

Tomando en consideración lo anteriormente descrito y, dada la complejidad de la saliva (en cuanto a su composición) es necesario realizar la presente investigación no sólo para determinar las características ion salivales de nuestra población, sino también para verificar la sensibilidad del aparato. Para conocer los alcances y originalidad del presente estudio es necesario conocer las bases tanto de saliva como de polarografía, las cuales son descritas en los capítulos siguientes.

OBJETIVO

El objeto del presente estudio fue determinar, mediante la utilización del método Polarográfico, la concentración de diferentes electrolitos salivales tales como Sodio, Potasio, Cloro y Calcio, así como también determinar la sensibilidad, eficacia y margen de error del equipo.

HIPÓTESIS

El método Polarográfico ofrece atractivas posibilidades de especificidad para el análisis de diferentes compuestos, por lo que se considera que al utilizar dicho método, se obtendrá un análisis químico electrolítico salival más sencillo, rápido y con un mínimo de error.

CAPÍTULO I.

GLÁNDULAS SALIVALES.

GLÁNDULAS SALIVALES

La palabra saliva se usa para describir la combinación de fluidos presentes en la cavidad bucal; sin embargo, en el sentido estricto de la palabra, ésta se refiere solo al fluido acuoso hipotónico secretado por las glándulas salivales. (1)

Las glándulas salivales, son aquellas cuyas secreciones fluyen directamente en la cavidad bucal; por a su tamaño, las glándulas salivales se dividen en dos grupos principales: glándulas salivales mayores (parótidas, submandibulares y sublinguales) y glándulas salivales menores o accesorias (labiales, palatinas, linguales, del piso de la boca, de la mucosa bucal) [Fig. 1]. En cuanto a su secreción, las glándulas salivales se dividen a su vez en serosas, mucosas y mixtas. (1,2)

1. Glándulas serosas (parótida y de Von Ebner). Este tipo de secreción contiene ptialina (una α -amilasa), que es una enzima para digerir los almidones.
2. Glándulas mucosas (glándulas del paladar y de la lengua en su base y borde lateral). La secreción mucosa contiene mucina, cuya finalidad es la lubricación.
3. Glándulas mixtas, en este grupo se encuentran la glándula submandibular (constituída principalmente por acinos serosos), la glándula sublingual (constituída principalmente por acinos mucosos) y finalmente las glándulas salivales menores como las de los labios, mucosa bucal y apicales de la lengua. (1,3,4)

ANATOMÍA DE LAS GLÁNDULAS SALIVALES.

- **Glándula parótida:** Esta glándula de forma piramidal, es la más grande y se encuentra situada por debajo del conducto auditivo externo, por debajo de la apófisis mastoidea y

por detrás de la rama ascendente de la mandíbula, su conducto excretor (Stenon) se localiza en la mucosa bucal a nivel de la papila del segundo molar superior. (3,5)

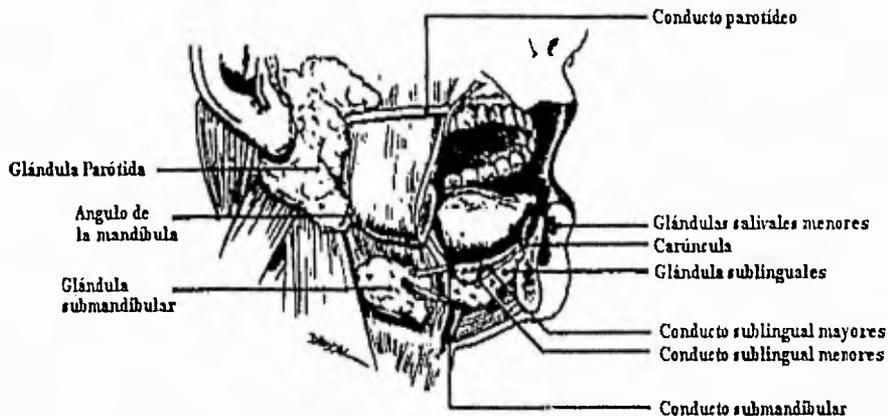


Fig. 1 GLANDULAS SALIVALES

TOMADO DE BRADWAY S., 1991 (6).

- **Glándula submandibular:** De forma de herradura se encuentra localizada sobre el músculo hipogloso entre los vientres anterior y posterior del digástrico, el borde inferior del cuerpo de la glándula une esos dos vientres en el triángulo carotídeo. La parte principal de la glándula se encuentra debajo del piso de la boca bajo el músculo milohioideo, mientras que su conducto excretor (Wharton) desemboca en el piso de la boca a los lados del frenillo de la lengua. (3,5)

- **Glándula sublingual:** Se ubica en una depresión de la mandíbula, en la fosa sublingual, por debajo del piso de la boca y en la parte anterior del músculo milohioideo. El principal conducto excretor de ésta glándula es el de Bartholin, el cual desemboca en el vértice de la carúncula sublingual. (3,5).

- **Glándulas salivales menores:** Se encuentran distribuidas en toda la mucosa de la cavidad bucal (labiales, del piso de la boca, del tercio posterior del paladar duro, del paladar blando, linguales, glosopalatinas y de la mucosa bucal). (1,2)

HISTOLOGÍA DE LAS GLÁNDULAS SALIVALES

Todas las glándulas salivales, tanto mayores como menores, se caracterizan por un sistema acinar y un sistema ductal. La estructura funcional de las glándulas salivales está dada por las unidades secretoras, éstas están formadas por células secretoras (que forman la saliva primaria o isotónica), células de los diferentes tipos de conductos (que modifican la composición de la saliva primaria), células mioepiteliales y en algunas ocasiones oncocitos. El estroma por su parte, está compuesto por un tejido conjuntivo fibroso laxo, el cual forma los tabiques interlobulillares, interlobulares y la cápsula, abundantes vasos sanguíneos y linfáticos, nervios (simpáticos y parasimpáticos) y células plasmáticas que intervienen en la síntesis de IgA secretoria. [Fig. 2] (1,2,6)

Entre las principales funciones del estroma se encuentran: a) Asegurar la arquitectura de la glándula salival durante la masticación. b) Transporte de metabolitos a través del sistema vascular aferente y eferente. c) Transmisión del estímulo mediante fibras nerviosas autónomas.(1)

La saliva primaria se produce en el sistema acinar, que en las glándulas serosas se constituye de alfa-amilasa y en las glándulas mucosas de sialomucina. Algunas sustancias no específicas como la lisozima y lactoferrina se pueden encontrar en el conducto acinar de la glándula parótida. En el sistema ductal, la saliva se modifica de isotónica a hipotónica debido a la reabsorción e intercambio de electrolitos, por lo que presenta menos solutos. Este sistema se encarga a su vez del transporte y secreción de saliva y está compuesto esencialmente por tres tipos de conductos: intercalar, estriado y excretor. (1,3,6)

Los conductos intercalares son delgados y pequeños, éstos unen los acinos con los conductos estriados. Por lo general están formados por células cúbicas bajas de citoplasma escaso y pálido que no contiene gránulos, el núcleo es de disposición central y son difíciles de distinguir. (3,6)

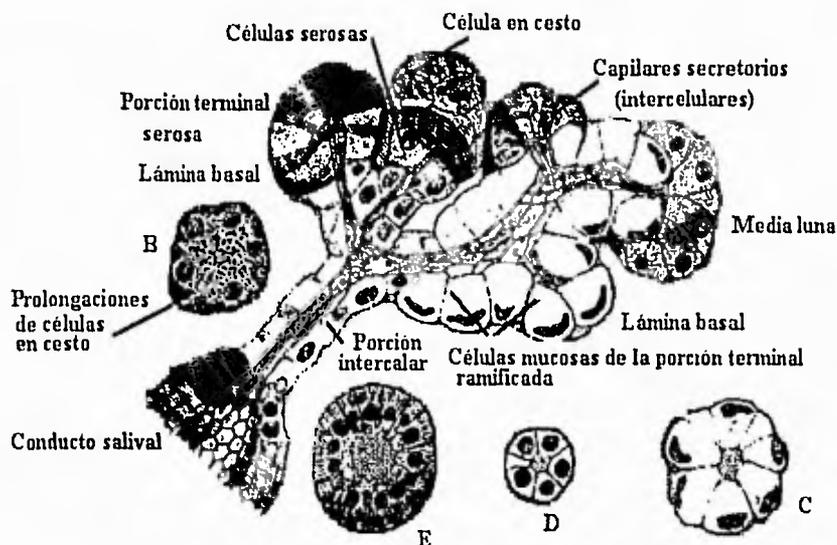


Fig. 2 Esquema representativo de una glándula salival submaxilar, donde se observa: B) Corte transversal de una porción terminal puramente serosa. C) Corte transversal de una porción mucosa. D) Corte transuersal de un conducto intercalare. E) Corte transversal de un conducto salival.

TOMADO DE GONZALEZ M., 1994 (1).

Los conductos estriados están revestidos por una capa de células epiteliales cúbicas altas. Su citoplasma es relativamente abundante, eosinófilo, que característicamente posee estriaciones perpendiculares, ésto es debido a la presenciade mitocondrias dispuestas en forma radial a la membrana basal de la célula. Su núcleo tiene disposición central, de tamaño grande y redondo. Estos conductos son importantes debido a que no solo se encargan de la secreción del líquido salival en forma rápida y activa, sino que también pueden concentrar yodo en sus células y secretar otros componentes de la saliva como elementos traza. (1,3,6)

Los conductos excretores en su porción proximal están revestidos por epitelio cilíndrico simple, que gradualmente se transforma en epitelio pseudo-estratificado; conforme se acerca a la cavidad bucal, su porción más externa se reviste de epitelio escamoso estratificado no queratinizado. En la superficie externa de estos conductos suelen encontrarse paquetes de fibras colágenas y elásticas, las cuales permiten el estrechamiento pasivo de los mismos para acomodar los diferentes volúmenes de saliva. (1,3)

Por otro lado, se ha observado que también se suelen identificar otras células, las que se localizan alrededor de las unidades secretoras (células mioepiteliales) y en algunas porciones de los conductos (oncocitos). Las células mioepiteliales o células en canasta son ramificaciones y forman una red alrededor de las células secretoras y conductos (7), así como también se encuentran entre la membrana basal y los cuerpos celulares; las células mioepiteliales presentan un citoplasma escaso y un núcleo voluminoso, éstas tienen la función de contracción del acino o del conducto, lo cual facilita la secreción salival, por lo que suelen contener enzimas como la fosfatasa, ATPasa, fosforilasa, actina y actomiosina (8). En cuanto a los oncocitos, éstos son células grandes de citoplasma fuertemente eosinófilo, con un núcleo central pequeño y picnótico y se observan con mayor frecuencia en las glándulas parótidas y submandibulares de individuos de edad avanzada.(1)

FISIOLOGÍA DE LAS GLÁNDULAS SALIVALES

La saliva como otras secreciones, es derivada de dos eventos funcionales: la síntesis, almacenamiento y secreción de macromoléculas salivales y el transporte electrolítico y del fluido desde los capilares salivales (6). Ambos, tanto la síntesis como el transporte del fluido, son mediados por mecanismos específicos de las células acinares y los productos de éstos eventos son combinados en el lumen acinar para producir una secreción isotónica llamada saliva primaria. Los electrolitos de la saliva primaria al atravesar el sistema ductal sufren un intercambio produciendo finalmente una secreción hipotónica. (1,6). Se sabe que las concentraciones de proteínas, agua y electrolitos

dependen de la hora del día (ritmo circadiano), así como también de la duración y tipo de estímulo secretor (6). La integración de éste sistema es principalmente controlado por el sistema nervioso autónomo, el cual es estimulado por el gusto y mecanismos receptores en la boca; éste control puede ser modulado por influencias neutras como ansiedad, miedo, etc. que provienen del sistema nervioso central, así como también por hormonas y drogas, las cuales interactúan con los receptores de las células del parénquima de las glándulas salivales. (6)

Síntesis y secreción de proteínas.

Una de las principales funciones salivales, es el mantenimiento e integridad de los dientes contra constantes traumatismos físicos, químicos y microbianos; dicho fenómeno es regulado por polipéptidos y proteínas que han sido identificados en la secreción salival [cuadro 1] (9)

Las familias de moléculas salivales pueden ser originadas ya sea como producto de las células acinares o como producto de las células estromales y ductales. Las derivadas de las células acinares son:

- Mucinas
- Proteínas ricas en prolina y glucoproteínas
- Péptidos ricos en histidina
- Fosfoproteínas que contienen cisteína
- α -Amilasa
- Estaterina

Todas ellas de origen seroso a excepción de las mucinas. Los productos de las células estromales y ductales son:

- Lactoferrina
- Lisozima
- Calicreína
- Peroxidasa salival

- IgA secretora. (9)

La síntesis, almacenamiento y secreción de las proteínas salivales, provienen a través de los mismos mecanismos de transcripción y translación encontrados en otros tipos de células exócrinas (6,9). Durante dichos mecanismos, las proteínas pueden ser modificadas postranslacionalmente debido a la adición de carbohidratos (glucosilación), fosfatos (fosforilación), y/o lípidos (acilación) (9)

CUADRO 1

PRODUCTOS DE CELULAS ACINARES MUCOSAS Y SEROSAS		
FAMILIA	FUNCIÓN	COMPOSICIÓN QUÍMICA
1. Mucinas	Complejos heterotópicos Limpieza y adherencia microbiana Nutriente microbiano Lubricación Digestión y gusto Formación de películas intrabucales	Glucoproteína
2. Proteínas ricas en prolina y glucoproteína	Limpieza y adherencia microbiana Modula el equilibrio de calcio y fosfato Lubricación Nutriente microbiano Formación de películas intrabucales	Fosfoproteínas y glucoproteínas
3. Histatina y estaterina	Modula el equilibrio de calcio y fosfato Modula el crecimiento de la flora bucal Antimicótico Amortiguador del pH salival	Proteínas y fosfoproteínas
4. Cistatinas	Modula el equilibrio de calcio y fosfato Modula el crecimiento de la flora bucal Complejos heterotópicos Formación de películas intrabucales	Proteínas y fosfoproteínas
5. α -Amilasa	Digestión de carbohidratos complejos Complejos heterotópicos	Proteínas y glucoproteínas

6. Lisozima	Actividad antimicrobiana Interacción con otras moléculas Formación de películas intrabucales	Proteína
7. Lactoferrina	Actividad antimicrobiana Interacción con otras moléculas Formación de películas intrabucales	Glucoproteína
8. Calicreína	Procesamiento postranslacional de las PRPs y cistatinas	Glucoproteína
9. Peroxidasa salival	Catalizador en la formación de productos tóxicos para algunas bacterias	Glucoproteína
10. IgA secretora	Interacción con otras moléculas Formación de películas intrabucales Limpieza y adherencia microbiana Actividad antimicrobiana	Glucoproteína

Fluido y transporte electrolítico.

Inicialmente, el agua y los electrolitos son transportados del fluido intersticial extraglandular dentro del lumen acinar para producir la saliva primaria. La concentración

electrolítica de la saliva primaria es modificada en el sistema ductal para producir la secreción hipotónica. El fluido salival y los electrolitos son originados en el capilar de origen del fluido intersticial. El transporte del fluido dentro de la glándula salival puede ser conceptualizado como tres cámaras definidas por dos barreras permeables. El tejido intersticial alrededor del acino representa la primera cámara la cual contiene transudantes séricos; el lumen acinar y el sistema ductal comprenden la segunda y tercera cámara respectivamente. Las células acinares actúan como una barrera con dos funciones: una membrana semipermeable que permite el paso de agua pero no de sal y una bomba para el transporte activo de electrolitos dentro del lumen acinar. Durante la secreción de electrolitos, el bombeo desde el fluido intersticial aumenta la presión osmótica en el lumen acinar atrayendo un flujo pasivo de agua. Esta acción combinada crea una fuerza que origina que la saliva primaria vaya en contra de la presión hidrostática (la segunda barrera) creada por la saliva lista en el sistema ductal.(6)

Cuando la saliva no estimulada pasa a través del sistema ductal, las concentraciones séricas son modificadas, el sodio, cloro y bicarbonato disminuyen mientras que el potasio aumenta. El sodio es absorbido por la membrana luminal de las células ductales a través de un mecanismo de requerimiento energético en un intercambio directo o indirecto de potasio. Como el sodio es bombeado dentro del estroma extraglandular, éste atrae al cloro por la barrera ductal (3). Por otro lado, cuando hay estimulación glandular, las concentraciones de sodio y cloro se incrementan cerca de los niveles séricos, el bicarbonato se incrementa por arriba del valor sérico y el potasio disminuye considerablemente; en cuanto al flujo salival, éste se incrementa también y los mecanismos de transporte comienzan a saturarse por lo que el sodio y el cloro son descargados junto con el flujo salival.(6,10)

Control neural de la secreción salival.

La inervación de las glándulas mayores se deriva de las ramas simpáticas del sistema nervioso autónomo. En el humano, la estimulación de la inervación parasimpática produce una secreción salival acuosa, con un contenido relativamente bajo de materiales orgánicos, dicha secreción va acompañada de una vasodilatación pronunciada en la glándula ya que los nervios parasimpáticos (desde el séptimo al noveno par de nervios craneales) son secretores y vasodilatadores. El suministro simpático se realiza en relación a la secreción proteínas como la amilasa y un vasoconstrictor, por lo que en la estimulación se provoca una vasoconstricción y la secreción salival es rica en constituyentes orgánicos. (11,12)

Los nervios se encargan de inervar las células acinares, las células conductales, vasos sanguíneos y células mioepiteliales.(11)

La secreción salival está controlada por señales nerviosas parasimpáticas de los núcleos salivadores, éstos núcleos se ubican aproximadamente en el límite de médula oblonga y puente, y son activados por estímulos sápidos o táctiles en la lengua u otras

zonas de la boca. La mayor parte de estímulos gustativos, especialmente el sabor ácido, desencadenan una copiosa secreción salival, frecuentemente hasta de 5 a 8 mL por minuto. Ciertos estímulos táctiles como la presencia en la boca de objetos lisos provocan salivación copiosa, en tanto que objetos ásperos, producen menos saliva o incluso inhiben su secreción (12). Los impulsos que llegan a los núcleos salivales desde los centros superiores, pueden aumentar o disminuir la cantidad de saliva. Así, el hombre secreta más saliva cuando huele o come un plato apetitoso. La zona del apetito que controla lo anterior se encuentra en el cerebro, cerca de los centros parasimpáticos del hipotálamo anterior y funciona sobre todo en respuesta a señales procedentes de las áreas corticales de gusto y olfato, o de la amígdala.(12)

CAPÍTULO II.

SALIVA.

SALIVA

Se denomina saliva al fluido hipotónico que baña las superficies bucales. De acuerdo a la glándula salival que la secreta, la saliva se divide en saliva total, saliva parotídea, saliva submandibular, saliva sublingual, etc. La llamada saliva total, está compuesta de la secreción exocrina producida por las glándulas salivales mayores y menores, el fluido gingival crevicular, bacterias y células descamadas. (9)

La producción diaria de saliva es de aproximadamente 1-1.5 litros, sin embargo, se estima que un valor de 500 a 600 mL suele ser mucho más realista (13). La cantidad de suministro salival depende de la contribución de cada una de las diferentes glándulas y del estímulo y condiciones fisiológicas de las mismas, es decir, se estima que la glándula parótida aporta el 25% del volumen total de la secreción diaria, la glándula submandibular el 71% y la glándula sublingual un 3-4 % ; se sabe que la contribución de las glándulas salivales menores es difícil de determinar y que ésta suele ser muy pequeña, de aproximadamente un 7-8 % del total de la saliva **[cuadro 2]** (14,15). Así mismo, el aporte salival de cada glándula varía después de la estimulación, por ejemplo, en estado de reposo los valores más altos corresponden a la glándula submandibular, en cambio, después de la estimulación, el volumen de la secreción proporcionado por la glándula parótida puede exceder el de la submandibular. **[cuadro 3]** (3)

Por lo que respecta al flujo salival, éste está sujeto a una serie de cambios fisiológicos, entre los cuales se encuentran: ingestión de alimentos, el ritmo circadiano, el clima, el efecto de la luz, la edad, el sexo, actividad física, hidratación, stress, etc. (1,3).

Aunque la saliva es considerada una solución neutra y la concentración de ion hidrógeno (pH) en ésta varía alrededor de lo neutral, la secreción salival de las glándulas parótidas y submaxilares, tiene un valor ligeramente ácido, el cual se vuelve alcalino después de la estimulación, por la pérdida de moléculas de CO₂; así, la saliva humana en estado de

reposito tiene un pH de 5.6 a 6.2 y después de la estimulación varía alrededor de 5.0 a 7.0.. (1,3)

CONTRIBUCIÓN DE CADA GLÁNDULA SALIVAL A LA SECRECIÓN DIARIA DE SALIVA (MUNZEL, 1976)		CONTRIBUCIÓN DE CADA GLÁNDULA SALIVAL A LA SECRECIÓN DE "SALIVA TOTAL" DESPUÉS DE SU ESTIMULACIÓN (MUNZEL, 1976)		
	<i>Volumen total</i>	<i>Estimulación</i>	<i>Submandibular</i>	<i>Parótida</i>
Glándula parótida	25%	Mínima	66%	33.3%
Glándula submandibular	71%	Media	50.0%	50.0%
Glándula sublingual	3-4%	Máxima	33.3%	66.6%
Glándulas menores	traza			

COMPOSICIÓN SALIVAL.

La saliva está constituida principalmente de agua y diferentes sustancias de diferentes pesos moleculares a las que se les divide en componentes orgánicos e inorgánicos (electrolitos, sustancias no electrolíticas [urea, ácido úrico, glucosa, amoniaco, lípidos, colesterol, ácidos fáticos], proteínas y enzimas). (1,16)

Los iones en mayor cantidad como el sodio, potasio, cloro y bicarbonato, son los principales contribuidores de la osmolaridad de la saliva, la cual es aproximadamente la mitad que la del plasma (11). El bicarbonato también es el principal componente buffer en la saliva, así como otros componentes como histatinas y fosfatos (1,6,11). La cantidad de flúor contenido en saliva es mucho menor al contenido en plasma, pero es elevado significativamente en personas que ingieren agua fluorada o utilizan pastas dentales fluoradas (11). El calcio y el fosfato en saliva están presentes libremente; parte del calcio

es destinado a proteínas y otra parte a complejos solubles con carbonato, fósforo o lactato. Alrededor del 10% del fosfato se presenta en forma de ésteres, principalmente fosfoproteínas, aunque también se encuentran indicios de la presencia de pirofosfatos (P_2O_7). (11)

En el caso de los electrolitos, éstos varían de acuerdo a ciertos factores como el ritmo circadiano, el pH de la saliva y el flujo salival. De ésta forma, tenemos, por ejemplo, el contenido de fosfatos inorgánicos disminuye muy temprano en la mañana (6 a.m.) y alcanza su máximo en la tarde (6 p.m.); en cambio, las concentraciones de los iones como el sodio, yodo y cloro muestran una relación totalmente inversa a la mencionada. Finalmente, la concentración del ion potasio es independiente por completo y no muestra éste tipo de variación cada 12 horas. (1,17)

En cuanto a las proteínas salivales, su concentración total no solo depende del tipo de sujeto evaluado sino de los métodos utilizados para coleccionar saliva. Muchas de las proteínas salivales son componentes de los gránulos de cimógeno y alcanzan la saliva por exocitosis. Estas proteínas incluyen a las enzimas digestivas como la alfa-amilasa y a muchas glucoproteínas, las cuales son causales de la viscosidad de la saliva. Otros constituyentes como son la albúmina y algunas inmunoglobulinas se difunden de manera diferente: del suero pasan a la saliva primaria, mediante un proceso de gradientes de concentración. (1,9)

A la vez, también se ha observado que los aminoácidos que se encuentran en la saliva, no solo varían de sujeto a sujeto, sino que se presentan en diferentes concentraciones dependiendo de la saliva que se trate. La secreción de las glándulas salivales contiene al menos 40 proteínas diferentes y glucoproteínas, las cuales desempeñan un papel protector importante dentro de la cavidad bucal, ya que protege las superficies de los tejidos bucales y ayuda a mantener la integridad de los dientes contra el constante traumatismo químico, físico y microbiano. (1,9)

FUNCIONES SALIVALES.

En conjunto, el resultado de todos los componentes salivales, sirven principalmente para: a) mantener el balance ecológico microbiano dentro de la cavidad oral, b) preparación del bolo alimenticio para su deglución y digestión, y c) preservar la integridad de los tejidos orales. (6)

Dentro de éstas tres grandes funciones, podemos desglosar las siguientes:

1. Función digestiva: La digestión es modulada por dos enzimas encontradas en la saliva, éstas son: a) alfa-amilasa, secretada principalmente por la glándula parótida (17), la cual es uno de los componentes más abundantes en la saliva y cuya función consiste en hidrolizar el almidón, desdoblándolo en pequeños fragmentos; y b) la lipasa, secretada por las glándulas salivales menores linguales (Von Ebner) de la base de la lengua. Se piensa que ésta enzima juega un papel importante en la digestión inicial de los lípidos. (6)

En adición, la saliva participa en la hidratación y dispersión de partículas alimenticias durante el proceso de masticación y deglución (6); ésta hidratación está provista principalmente por la glándula parótida, ya que el proceso de masticación, estimula dicha glándula para la estimulación de la producción de saliva acuosa (17); éste proceso, como ya se ha mencionado, ayuda a la formación y lubricación del bolo alimenticio facilitando su deglución y paso a través del esófago (6). Así mismo, las glándulas submandibular, sublingual y menores, producen mucina la cual cubre dicho bolo alimenticio; sin éstas funciones salivales la masticación y la deglución se hacen prácticamente imposibles. (18)

Cabe mencionar, que además la saliva juega un papel gastronómicamente importante debido a que ayuda a la solubilización de muchos componentes alimenticios y actúa como medio para la interacción con los receptores de las células gustativas. (19)

2. Protección de tejidos bucales: Algunos componentes salivales tienen la propiedad de adsorberse selectivamente al esmalte dental, a las superficies microbianas y a las células epiteliales. Dicha adherencia depende de las características físico-químicas que cada molécula posee particularmente; así mismo, éstas moléculas forman complejos moleculares que interactúan colectivamente formando películas protectoras, que ayudan como lubricantes, que ayudan a la formación de barreras permeables contra ácidos, a la retención de humedad y a la modulación de la adherencia microbiana; un ejemplo de lo anterior son las mucinas salivales, ya que no solo se encargan de cubrir las superficies dentales y las mucosas, sino también forman complejos con factores antimicrobianos tales como la IgAs, lisozima y cistatina incrementando así su actividad antimicrobiana. (6)

3. Actividad antimicrobiana: La saliva posee una multiplicidad de sistemas de defensa; el grupo de proteínas salivales formado por lisozimas, lactoferrinas y lactoperoxidasa, así como histatinas e IgAs, trabajan en conjunto con otros componentes salivales teniendo un efecto inmediato contra la bacteria, ya sea interviniendo en su reproducción o eliminándola directamente. (19)

La lisozima puede causar lisis en la pared bacteriana especialmente en el *S. mutans* por intercambio de aniones (19) es por eso que las uniones de carbohidratos existentes en la pared celular de las bacterias gram+ sufren cambios osmóticos que causan estallamiento de las mismas. (6)

La peroxidasa salival utiliza los iones de tiocinato de la dieta (SCN-) y el peróxido de hidrógeno bacteriano para sintetizar una sustancia llamada hipotiocinato, la cual inhibe el crecimiento y metabolismo bacteriano. (6)

La lactoferrina ejerce una actividad bacteriostática mediante la captación de iones hierro, el cual es un nutriente esencial para las bacterias. Las histatinas inhiben la viabilidad de *Candida albicans* y también pueden inhibir el crecimiento del *S. mutans*. La IgAs es el componente primario del sistema inmune de la mucosa oral y se encarga de la

actividad antimicrobiana mediante uniones específicas con los microorganismos orales previniendo de ésta forma la adherencia y colonización sobre superficies orales. (6,19)

4. Función amortiguadora: La saliva provee varios mecanismos amortiguadores, los cuales contrarrestan la acidez producida por los restos alimenticios que se depositan sobre las superficies de los dientes cuando éstos se fermentan por acción de las bacteria que se encuentran en la boca, produciendo por consiguiente ácidos que después conducen a la desmineralización de los dientes y luego a la caries dental. Entre éstos mecanismos amortiguadores (buffer) se encuentran el bicarbonato salival, las histatinas, amoniaco y urea.

El bicarbonato salival es considerado el primer agente amortiguador de la saliva, el cual es producido en las células ductales, aunque se ha demostrado que también se puede producir en la cavidad bucal mediante la acción de las anhidrasas carbónicas. Una vez que se encuentra el bicarbonato en la cavidad bucal, éste forma complejos con las mucinas salivales las cuales se adsorben a las superficies bucales, de ésta manera la función protectora de las mucinas se incrementa notablemente favoreciendo a su vez la producción de una barrera amortiguadora que evita la penetración de sustancias ácidas a las mucosas bucales y al esmalte de los dientes.

Por su parte, las histatinas (péptidos ricos en histidina) por su alto contenido en histidina (aminoácido básico) pueden neutralizar los ácidos producidos durante el metabolismo bacteriano. (6,19)

5. Proceso de mineralización e integridad dental: En adición a la ayuda contra la acidez de la placa bacteriana, la saliva ayuda a la protección del diente mediante distintas formas. Dicha protección comienza inmediatamente después de la erupción del diente dentro de la cavidad bucal y aunque la corona del diente morfológicamente está completamente formada, estructuralmente se encuentra incompleta, es entonces cuando la interacción con la saliva provoca una maduración post-eruptiva vía difusión de iones tales como calcio, fósforo, magnesio y fluoruro, así como otros componentes sobre la

superficie del esmalte. Esta maduración incrementa la dureza de la superficie dental y disminuye la permeabilidad, por lo que existe un incremento en la resistencia contra la caries dental (19).

Bajo condiciones normales de fuerza iónica y pH, los minerales que componen al esmalte dental (calcio-fosfato, lo que se denomina hidroxiapatita), se disuelven lentamente en saliva carente de componentes proteínicos, pero, al existir un flujo y composición salival normal, asociados a una exposición mínima de ácidos bacterianos, no hay disolución durante períodos prolongados de tiempo. De hecho, el esmalte descalcificado por una lesión cariosa temprana se remineraliza si la superficie es limpiada regularmente y se encuentra en contacto con saliva. Se ha sugerido que los residuos ácidos, incluyendo los fosfatos de las fosfoproteínas salivales, atraen el calcio salival favoreciendo la formación de sales de calcio-fosfato importantes en el proceso de remineralización.(6,19)

6. Defensa: La saliva a su vez contiene sustancias que proveen resistencia específica en contra de agentes infecciosos presentes en la cavidad bucal, como las inmunoglobulinas. Aunque el contenido de IgG e IgM en saliva es reducido, el contenido de IgA en la secreción parotídea es del 100%; ésta inmunoglobulina es principalmente secretoria (IgAs), la cual es formada en las células plasmáticas del tejido conjuntivo intersticial, para después llegar a las células epiteliales donde se une a otra proteína conocida como componente secretorio. La IgAs es muy importante en la inmunidad local y su formación se da por bacterias y virus que alcanzan la mucosa bucal (1). La lisozima salival, la peroxidasa y la alfa-amilasa son otros componentes salivales que ayudan en la resistencia contra agentes infecciosos (función antimicrobiana).

7. Otras funciones: Así mismo, la saliva está relacionada con otras funciones llevadas a cabo en el organismo, tal es el caso de:

a) Balance de agua: Las glándulas salivales son parte de un sistema de control para el mantenimiento de un nivel de hidratación adecuado, es decir, la sed o la necesidad de

ingerir líquidos son generalmente signos de una boca seca, ésta sensación resulta de la disminución de la secreción salival en reposo y la activación de los receptores en la cavidad bucal que pasan al cerebro. (19)

b) Función excretora: La saliva puede servir teóricamente como una ruta de eliminación de muchos agentes tóxicos, como es el caso del alcohol. (19)

CAPÍTULO III.

SIALOQUÍMICA

SIALOQUÍMICA

La saliva es actualmente un medio de diagnóstico efectivo tanto para la detección de enfermedades locales y sistémicas que afectan las glándulas salivales, como para monitorear la concentración de sustancias ajenas al cuerpo (20), todo esto es realizado con la ayuda de la sialoquímica, es decir, la investigación de la composición química salival; de ésta forma, el diagnóstico se basa en el análisis de sustancias contenidas en la saliva como: sustancias endógenas (algunas de éstas son proteínas salivales específicas y otros como constituyentes séricos no específicos) y sustancias exógenas (como drogas y fármacos). (3)

El uso de saliva como método de diagnóstico es una atractiva alternativa para muchos investigadores, debido a que ésta ofrece algunas ventajas sobre el suero, es decir, la saliva es de fácil recolección, puede ser obtenida a bajo costo y en suficiente cantidad para el análisis; para los pacientes es una técnica no invasiva que reduce dramáticamente la ansiedad e incomodidad y simplifica el procedimiento de repetir la extracción de muestras. Para el profesional, la colección de saliva es un método más seguro que la sangre, ya que con ésta se puede exponer a un contagio de VIH o hepatitis con mayor facilidad. (21)

La sialoquímica ha sido aplicada para detectar: (a) enfermedades de las glándulas salivales sin evidencia de involucramiento sistémico, (b) enfermedades sistémicas las cuales involucran las glándulas salivales y situaciones clínicas en las cuales el índice de flujo salival y química son útiles en el diagnóstico o monitoreo del paciente. (19)

Estas aplicaciones salivales van desde el uso forense hasta el monitoreo de drogas y diagnóstico de enfermedades sistémicas así como condiciones que afectan las glándulas salivales. (21)

Otra aplicación del análisis salival es en el laboratorio médico en donde se determinan los niveles de varias hormonas (cortisol, progesterona, estriol, testosterona, etc.) y el monitoreo fármacos (diazepam, cafeína, teofilina, antibióticos, anticonvulsivos, etc.) (22,23)

La sialoquímica puede ser valuable para la determinación del diagnóstico de tumores de glándulas salivales mayores, como en el caso de la parotitis recurrente crónica caracterizada por la filtración de componentes séricos (albúmina) y lactoferrina en la saliva. (24)

La saliva también es útil en el diagnóstico de enfermedades metabólicas y pancreáticas, tal es el caso de la fibrosis quística donde hay incremento de la concentración de sodio en las glándulas salivales menores; así como también en la diabetes mellitus donde la actividad de la amilasa se incrementa y hay disminución de sodio. (3,20)

La identificación de sujetos con riesgo de desarrollar caries dental severa y enfermedad periodontal puede percibirse a través de un análisis salival, mediante la determinación no solo del pH salival, sino también del contenido proteico y electrolítico salival. (1)

Así mismo, a través de la saliva se pueden determinar algunas funciones del cuerpo, tal es el caso de la ovulación, ya que las concentraciones del calcio, potasio y cloro disminuyen en esta etapa. (3)

CAPÍTULO IV.

ELECTROLITOS.

ELECTROLITOS

La masa del cuerpo humano está constituida principalmente de agua, ésta forma parte esencial de todas las células y líquidos del cuerpo (entre ellos la saliva), ya que entra en reacciones bioquímicas, actúa como un solvente para numerosos iones y moléculas, proporciona un medio de transporte para procesos intra y extracelulares y sirve como lubricante. (25)

En el organismo, el agua se distribuye en dos compartimientos principales: el llamado líquido intracelular, que se encuentra dentro de las células corporales, y el líquido extracelular, que circula entre los espacios que hay entre las células, y se divide a su vez en plasma sanguíneo (compartimento vascular) y líquido intersticial. (4,12)

El sistema respiratorio y el renal regulan la composición del fluido extracelular, que a su vez influye en gran medida en la composición del líquido intracelular, el cual debe mantenerse dentro de sus límites ajustados, con el fin de que los procesos metabólicos intracelulares alcancen su máxima eficacia. (25)

Ambos líquidos, intra y extracelular difieren principalmente de su composición electrolítica. Un electrólito se define como un compuesto que en un medio acuoso se ioniza o disocia en partículas cargadas eléctricamente, aumentando con ello la conductividad eléctrica de la disolución (4,12). Siendo los electrólitos componentes esenciales de toda materia viva, son clasificados como aniones y cationes:

Anión: ion con carga negativa ----- Ánodo (polo +)

Catión: ion con carga positiva ----- Cátodo (polo-)

Además de tener tres funciones generales importantes en el organismo: son minerales indispensables, regulan la osmosis de agua entre los compartimientos corporales, y participan en la conservación del equilibrio ácido-base necesario para las actividades celulares normales. (14,25)

Los iones extracelulares principales son: Sodio (Na^+), Cloro (Cl^-) y bicarbonato (HCO_3^-); en el compartimento intracelular predominan: Potasio (K^+), Magnesio (Mg^{2+}), y Fosfatos inorgánicos (HPO_4). **[cuadro 4]**

Hasta el momento, las teorías físico-químicas de la difusión no han explicado adecuadamente la desigual distribución de la mayoría de los solutos entre los compartimientos intra y extracelular. Las membranas celulares no son solo barreras semipermeables: algunas tienen permeabilidad selectiva para ciertas moléculas y, en muchos casos hay mecanismos de transporte activo que actúan a través de las membranas de las células ligados íntimamente a los procesos metabólicos de éstas. (4,25)

El riñón es el principal responsable del mantenimiento de la composición hidroeléctrica del organismo, manteniendo un equilibrio con relación a una variada cantidad de sustancias que se excretan en cantidades equivalentes a las ingeridas y, regulando la concentración de solutos y por tanto la osmolaridad (osm/L) de líquidos orgánicos. (25)

Las necesidades de electrolitos en la dieta varia mucho, deben ingerirse en pequeñas cantidades y son retenidos cuando el consumo es escaso, en cambio cuando el consumo es excesivo, se compensa con su eliminación principalmente por orina. (25)

El intestino delgado es el lugar donde el agua y los electrolitos se reabsorben, realizándose allí mismo su secreción y ejerce junto con el colon la función reguladora de

éstos. Los electrolitos se absorben mediante un mecanismo de transporte activo, con gasto energético (25). En el caso de difusión pasiva los electrolitos pasan debido a una diferencia del gradiente electroquímico o acompañando al agua, en respuesta a una diferencia del gradiente osmótico o hidrostático. La absorción y secreción de agua y electrolitos están mediadas por hormonas y neurotransmisores. (4,25)

CUADRO 4

PRINCIPALES ELECTROLITOS EN EL ORGANISMO (26)

ELEMENTOS	FUNCIONES	METABOLISMO	ENFERMEDAD O SÍNTOMAS POR DEFICIENCIA	ENFERMEDAD O SÍNTOMAS POR INTOXICACIÓN	FUENTES
CALCIO	Constituyente de huesos, dientes, regulación de la función nerviosa y de la función muscular	Su absorción requiere una proteína fijadora de calcio. Regulado por vitamina D, hormona paratiroidea, calcitonina, etc.	Niños: raquitismo Adultos: osteomalacia. Puede contribuir la osteoporosis	Ocurren con absorción excesiva debida a hipervitam. D o hipercalcemia debida a hiperparatiroidismo, o hipercalcemia idiopática	Productos lácteos, habas, vegetales de hojas verdes
FÓSFORO	Constituyente de huesos, dientes, ATP, intermediarios metabólicos fosforilados. Ácidos nucleicos	Se desconoce el control de su absorción. La concentración sérica es regulada por reabsorción renal	Niños: raquitismo Adultos: Osteomalacia	Relación Ca ⁺ /P _i sérica baja estimula hipertiroidismo secundario; puede conducir a pérdida ósea	Aditivo alimenticios con fosfatos
SODIO	Catión principal en el líquido extracelular. Regula el volumen plasmático, equilibrio acidobásico, función nerviosa y muscular, Na ⁺ , K ⁺ ATPasa	Regulado por la aldosterona	Desconocidos con dieta normal; secundario a lesiones o enfermedad	Hipertensión (en individuos susceptibles)	Sal de mesa; sal agregada a los alimentos preparados
POTASIO	Catión principal en el líquido intracelular; función nerviosa y muscular, Na ⁺ , K ⁺ ATPasa	También regulado por la aldosterona	Se presentan secundarios a enfermedad, lesión o terapéutica con diuréticos, debilidad muscular, parálisis, confusión mental. La rela-	Paro cardiaco, úlceras del intestino	

			ción Na ⁺ /K ⁺ alta predispone a hipertensión		
COLORO	Equilibrio de líquidos, electrolitos y jugo gástrico		Los lactantes que toman fórmulas libres de sal. Secundarios a vómito terapéutico con diuréticos, padecimiento renal		Sal de mesa
MAGNESIO	Constituyente de huesos, dientes; cofactor enzimático		Secundarios a mala absorción o diarrea	Reflejos tendinosos profundos y respiración deprimidos	Vegetales de hojas verdes (que contengan clorofila)

SECRECIÓN ELECTROLÍTICA A TRAVÉS DE LA SALIVA

Como se puede observar, la saliva contiene una cantidad particularmente elevada de potasio y en ciertas condiciones, también de iones de bicarbonato. Por otra parte las concentraciones de sodio y cloro son considerablemente menores en la saliva que en el plasma, debido al mecanismo de secreción salival. [cuadro 5]

La secreción salival tiene lugar en dos etapas: la primera incluye los acinos y la segunda en los conductos salivales. Los acinos secretan la llamada secreción primaria, que contiene las enzimas salivales en una solución de iones no muy diferente a la del plasma. Sin embargo, cuando la secreción primaria fluye siguiendo los conductos, tienen lugar dos procesos principales de transporte activo que modifican netamente la composición iónica de la saliva. En primer lugar, los iones de sodio son reabsorbidos activamente y los iones de potasio son secretados hacia los conductos, en recambio por el sodio; por lo tanto, la concentración sódica de la saliva disminuye, como la de cloruros, mientras que la de potasio aumenta. En segundo lugar se secretan iones de bicarbonato hacia los conductos (éste proceso es catalizado por la anhidrasa carbónica presente en

las células epiteliales de los conductos). Durante la secreción de iones de bicarbonato, se absorben en forma pasiva todavía más iones de cloro, absorbidos pasivamente de los conductos en recambio por iones de bicarbonato. (4)

CUADRO 13

COMPONENTES DE LA SALIVA HUMANA (1,6)					
ELECTROLITOS mEq/Litro	Componentes	Parótida	Submandibular	Sublingual	Plasma
	Potasio	21/24	17/14.4	13.2	4
	Sodio	36/1.3	45/3.3	32.7	140
	Cloro	28/22	25/12	26.2	105
	Bicarbonato	30/1.1	18/4	10.9	27
	Calcio	1.6/1.1	2.4/1.56	2.1	5
	Magnesio	0.12/0.16	0.04/0.07	?	2
	Fosfato	3.7/9	5.5/5.6	4.1	2
ORGÁNICOS mg/100mL	Componentes	Parótida	Submandibular/ Sublingual	Plasma	
	Proteínas	221	132	7,000	
	Lípidos	8	8	600	
	Carbohidratos	31	15	100-400	

CAPÍTULO V.

*INTRODUCCIÓN AL MÉTODO
POLAROGRÁFICO.*

INTRODUCCIÓN AL MÉTODO POLAROGRÁFICO

Las voltametrías comprenden un grupo de procedimientos de electroanálisis que se basan en la relación de intensidad-potencial sobre un pequeño electrodo fácilmente polarizable en la disolución que interesa analizar. El desarrollo de las voltametrías se inició a partir de 1920, con el descubrimiento de la polarografía por el químico Jaroslav Heyrovsky (26,31). En los últimos años se han ideado numerosas modificaciones del método polarográfico original y se considera una de las técnicas más difundidas no solo como recurso analítico, sino también como auxiliar en el esclarecimiento de problemas de estructura y constituciones moleculares. (28,30)

Prácticamente, en una forma u otra, todos los elementos pueden ser objeto de análisis polarográfico. Se sabe que el comportamiento polarográfico de cualquier especie es único en determinadas condiciones experimentales; ésta técnica ofrece posibilidades de especificidad muy atractivas para el análisis (alta sensibilidad, fácil manipulación, suficiente agudeza y precisión, rapidez, bajo costo, etc.) (26); por lo que, ha llegado a constituir uno de los métodos instrumentales electroanalíticos de mayor trascendencia, mostrando extensas posibilidades de aplicación en la cinética de reacciones, en el terreno analítico de las aleaciones y minerales, en la ciencia de los coloides, en la electroquímica de los compuestos orgánicos y en el campo de los problemas biológicos, médicos y clínicos. (28)

La mayoría de los análisis polarográficos se realizan en solución acuosa, pero si es necesario, se sustituye el agua por otro disolvente. La cantidad mínima para realizar un análisis polarográfico es con 1 o 2 mL de la muestra a estudiar, aunque se puede realizar únicamente con un volumen tan pequeño como una gota. Así, el método polarográfico resulta especialmente indicado para la determinación de cantidades que van de los miligramos a los microgramos. (26)

Los errores relativos oscilan entre el 2 y 3 % en los trabajos habituales, por lo que el índice de incertidumbre es comparable con las precisiones que presentan otros métodos para el análisis de concentraciones de partes por millón. (26)

POLARÓGRAFO.

El dispositivo experimental utilizado está constituido fundamentalmente por:

- a) Un potencióstato que constituye la fuente del potencial.
- b) Aparatos de medición de corriente como milivoltímetros y amperímetros, conductores y conexiones eléctricas necesarias.
- c) Celda polarográfica. (26,27)

La celda polarográfica consta de un microelectrodo pequeño y fácilmente polarizado, un electrodo de referencia grande no polarizable, un electrodo auxiliar que no participa en ninguna reacción química y la solución a analizar (26,27,29). El microelectrodo en el que se produce la reacción analítica es una superficie de mercurio de unos pocos milímetros cuadrados. Aquí el mercurio es impulsado por la gravedad a través de un capilar muy fino para proporcionar una corriente continua de gotitas idénticas, cada una de las cuales tiene un diámetro máximo de entre 0.5 y 1 mm., teniendo una vida de entre 2 y 6 segundos. (29,31)

El electrodo de referencia debe ser grande con relación al microelectrodo, para que su comportamiento permanezca esencialmente constante con el paso de pequeñas corrientes, es decir, debe permanecer no polarizado durante el análisis. Se emplea frecuentemente un electrodo de calomel saturado, formado por mercurio, cloruro mercurioso y una disolución saturada de cloruro de potasio, que se une al sistema a estudiar por una membrana de vidrio porosa. (28,29,30)

El electrodo auxiliar únicamente cede o acepta electrones pero no participa en ninguna reacción química; éstos son buenos conductores de la corriente eléctrica (alambre de platino por ejemplo), por lo que la electrólisis se lleva a cabo entre el electrodo de trabajo y el electrodo auxiliar. (28,30)

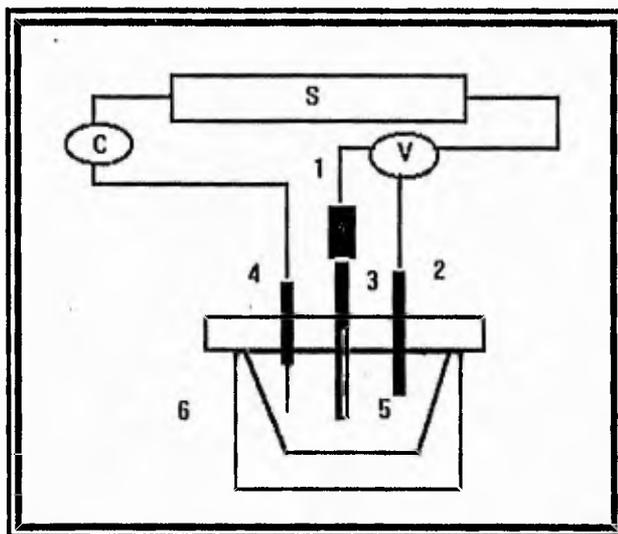


Fig. 3 Circuito de electrólisis

S Fuente de corriente	3 Electrodo goteante de mercurio
C Microamperímetro	4 Electrodo auxiliar
V Milivoltímetro	5 Solución a electrolizar
1 Depósito de mercurio	6 Celda de electrólisis
2 Electrodo de referencia	

TÉCNICA POLAROGRÁFICA.

Este método se basa en los fenómenos de óxido-reducción de una sustancia electroactiva en solución, que se producen en la vecindad del electrodo. Una sustancia electroactiva es aquella capaz de oxidarse (cuando cede un electrón) o

reducirse (cuando acepta un electrón) en la superficie del electrodo, es decir, participan en una reacción electroquímica. (33)

El proceso de electrólisis (reacción electroquímica), consiste en el paso de una corriente eléctrica a través de una disolución en la cual están sumergidos dos o tres electrodos, para realizar el intercambio electrónico en dos de ellos y que se lleve a cabo dicho proceso. Para que haya paso de corriente es necesario establecer una diferencia de potencial adecuada entre los dos electrodos, lográndose por medio de un generador eléctrico o fuente de potencial eléctrico. (33)

La electrólisis está constituida principalmente por tres etapas: 1) Transporte de las sustancias reaccionantes desde el seno de la disolución hasta la superficie del electrodo. 2) Transferencia electrónica propiamente dicha. 3) Separación de las sustancias producidas lejos de la superficie del electrodo. (28,30)

El transporte de las sustancias reaccionantes puede hacerse de tres formas: a) Difusión, donde las sustancias se mueven debido a la existencia de un gradiente de concentración entre dos puntos de la disolución, es decir, desde el seno de la disolución hasta la superficie del electrodo. b) Convección, que tiene lugar por un gran desplazamiento de la disolución debido a un gradiente térmico dentro de ella o por agitación. c) Migración, debido al efecto sobre los iones cargados. (28)

Lo esencial en polarografía es que la reacción electródica está controlada exclusivamente por la velocidad de difusión de los iones, es decir, la convección y la migración eléctrica deben de ser nulas. (28)

Para poder estudiar los fenómenos de electrólisis se requiere un montaje que consiste en:

- a) Celda de electrólisis.
- b) Potenciostato que constituye la fuente de potencial.
- c) Aparatos de medición (milivoltímetros y amperímetros).

d) Electroodos (de trabajo, de referencia y auxiliar). (33)

La electrólisis se lleva a cabo entre el electrodo de trabajo y el auxiliar y la corriente que circula entre ambos constituye la corriente de electrólisis. (33)

La polarografía además, está basada en la medida y en la interpretación de las curvas intensidad-potencial (polarogramas) obtenidas cuando se realiza una microelectrólisis (reducción u oxidación) sobre el microelectrodo de mercurio. (26,33)

Un polarograma, es decir, la representación gráfica de los datos de curvas de corriente-voltaje, nos proporcionan información cualitativa y cuantitativa sobre la composición de la solución en la que están sumergidos los electrodos, ésto en presencia de un gran exceso de electrólito soporte o de apoyo. (26).

Un electrólito soporte consiste en la disolución de un electrólito que se encuentra presente en una concentración mayor, cincuenta veces por lo menos, que la de los iones o sustancias en estudio. Su finalidad consiste principalmente en soportar la migración iónica por efecto del campo eléctrico entre los electrodos, dejando así que los iones en estudio se acerquen a los mismos movidos únicamente por la difusión, sin intervención de la migración eléctrica. (28)

VENTAJAS Y DESVENTAJAS EN POLAROGRAFÍA.

1. Alta sensibilidad. Este método permite análisis rutinarios de soluciones hasta de niveles de 100 ppb, bajo óptimas condiciones manteniendo una alta pureza de químicos, agua y limpieza de la celda polarográfica. En caso de presencia de impurezas en las soluciones, aún siendo concentraciones de 1 ppb, pueden ser determinadas. (32)

2. Buena selectividad y resolución. La selectividad del método es determinada por deposición de los potenciales de sustancias orgánicas e inorgánicas, dependiendo de la composición del electrolito soporte. (32)
3. Suficiente agudeza y precisión. Este método permite una alta precisión de aproximadamente 0.5% . A concentraciones muy bajas, la precisión es un poco más pobre entre 5 y 10%, pero en esos casos, especialmente en el análisis de sustancias complejas, los errores de un 20% pueden ser tolerables. La agudeza de la determinación puede ser afectada por varios factores, el más común de éstos son las impurezas en las soluciones. (32)
4. Rapidez. El tiempo utilizado al elaborar cada polarograma puede variar entre 5 y 10 minutos, aunque puede ser disminuido utilizando una velocidad mayor. (28,32)
5. Prácticamente todos los elementos pueden ser analizados por polarografía. (32)
6. Posibilidad de determinación de varias sustancias simultáneamente. Esto es posible basándose en las diferencias de potencial de media onda de sustancias orgánicas e inorgánicas, utilizando un electrolito soporte adecuado. (32)
7. Simple preparación de las sustancias para el análisis. Es similar a la que se utiliza con otros métodos, a base de técnicas sencillas con la utilización de una simple y pequeña muestra. (32)
8. Fácil manipulación. El aparato es muy simple y la técnica es sencilla, por lo que con un corto periodo de entrenamiento se puede manejar correctamente. (28,32)
9. Posibilidad de una extensiva automatización. El polarógrafo fue el primer instrumento automático para el análisis químico, el cual representa los resultados en forma análoga. Este instrumento permite la utilización de técnica computarizadas para las mediciones

polarográficas, de ésta forma, no solo se controla el proceso de medición sino también los resultados obtenidos. (32)

10. Costo aceptable.

11. Debido a la facilidad con que se oxida el mercurio, restringe su uso como ánodo.

12. Debe tenerse especial precaución con el capilar de mercurio, ya que puede obstruirse con facilidad. (28)

APLICACIONES DEL MÉTODO POLAROGRÁFICO.

La polarografía representa un método instrumental de análisis de amplias posibilidades, que con sus características propias y en casos particulares, la hacen superior a los restantes métodos instrumentales con los que se puede entrar en la competencia. (28,30)

El método polarográfico se distingue especialmente por su rapidez, sensibilidad y precisión. La exactitud es de aproximadamente 1% en la escala de concentraciones entre 10^{-2} y 10^{-4} M y aproximadamente un 5% entre 10^{-4} a 10^{-5} M. (28)

1. Aplicaciones en medicina y farmacia:

a) Análisis de sangre:

- Determinación de acetoina ($\text{CH}_3\text{-COCHOH-CH}_3$)
- Determinación de iones cloruro
- Determinación de cobre
- Determinación de plomo
- Determinación de oxígeno

b) Análisis de orina:

- Determinación de acetoina
- Determinación de quinina
- Determinación de plomo
- Determinación de andrógenos
- Determinación de estrona

c) Materiales biológicos:

- Determinación de arsénico
- Determinación de hierro
- Determinación de cobre
- Determinación de magnesio

d) Productos farmacéuticos:

- Determinación de formaldehído
- Determinación de morfina
- Determinación de quinina
- Determinación de Vitamina B1, tiamina
- Determinación de Vitamina B2, lactoflavina o riboflavina
- Determinación de Vitamina B12
- Determinación de Vitamina C, o ácido ascórbico
- Determinación de ácido barbitúrico.

2. Aplicaciones en Industrias Agrícolas y en Edafología:

- a) Análisis de alimentos
- b) Análisis de plantas

3. Aplicaciones en la industria química:

- a) Análisis de aguas
- b) Análisis de suelos

4. Aplicaciones en metalurgia:

- a) Materiales ferrosos
- b) Aleaciones a base de plomo y estaño
- c) Aleaciones a base de cobre
- d) Aleaciones de zinc
- e) Aluminio y sus aleaciones

5. Aplicaciones en química nuclear. (28)

***MATERIALES Y
MÉTODOS.***

MATERIAL.

Para la colección de las muestras salivales se utilizaron:

- 15 tubos de polipropileno de 15 mL (Corning, NY, E.U.A.)
- 1 caja de guantes de látex desechables (Ambiderm, E.U.A.)
- 1 caja de cubrebocas
- 1 hielera (Li'l Entertainer, E.U.A.)
- 15 ligas de hule (Águila, México)
- 1 bolsa de hielo frapé

Para el análisis químico de las muestras se utilizaron:

- 1 Polarógrafo modelo 174/70 (EGG Princeton Applied Research, E.U.A.)
- 1 Potenciostato o analizador polarográfico modelo 174A (EGG Princeton Applied Research Corporation, E.U.A.)
- 1 Graficador modelo Omnigraphic (Houston Instrument, E.U.A.)
- 1 Tanque de Nitrógeno para burbujeo
- 1 Electrodo de ion selectivo (Corning, E.U.A.)
- 1 Balanza analítica (Sartorius A 200S, Alemania)
- 3 vasos de precipitado de 50 mL de Pyrex (Corning, México)
- 1 vaso de precipitado de 250 mL de Pyrex (Corning, México)
- 1 pipeta volumétrica de 10 mL (Corning, México)
- 1 pipeta de 1 mL (Corning, México)

Colección y manejo de las muestras salivales:

3 mL de saliva total humana estimulada fueron colectados diariamente entre 8:30 y 10:00 a.m. de un estudiante sano de sexo masculino de 23 años de edad, de acuerdo al método descrito por Tenouvo, 1989.

Las muestras salivales se colectaron en tubos de 15 mL de polipropileno, en los cuales previamente se registró el tipo de saliva utilizada [Estimulada (E), No estimulada (NE)], el peso del tubo vacío y el peso del tubo incluyendo la muestra salival; con la finalidad de obtener gravimétricamente la cantidad de flujo salival/minuto colectado.

Todas las muestras se mantuvieron en hielo hasta que se realizaron los análisis polarográficos correspondientes.

Técnica polarográfica:

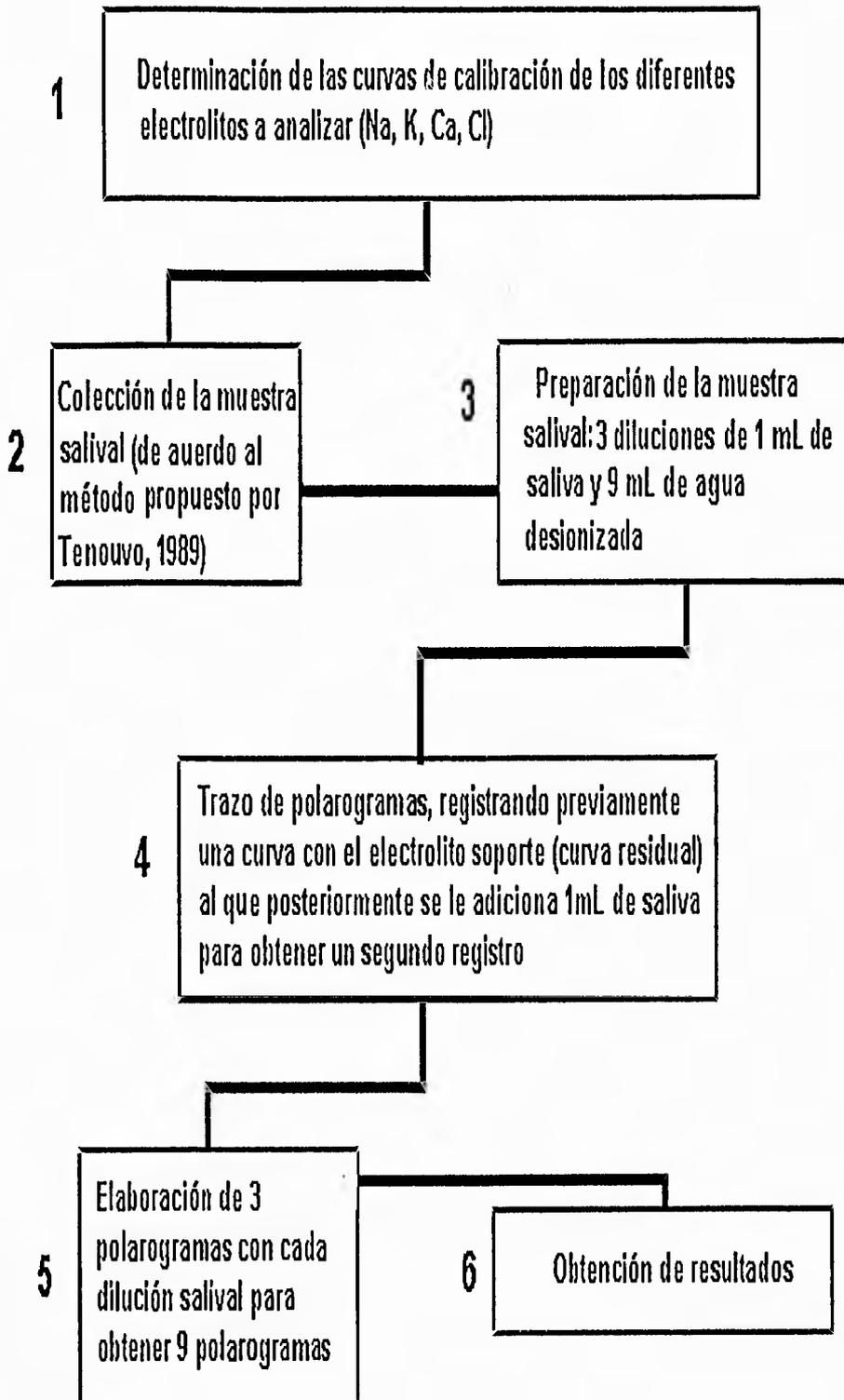
a) Reactivos:

- $[\text{CH}_2\text{H}_5]_4 \text{NBr}$ (Tetrabutilamonio tetrafluoroborato).
- KNO_3 (Nitrato de Sodio).
- Soluciones estándar de:
 - Ca+ 1000 ppm
 - K+ 1000 ppm
 - Na+ 1000 ppm
 - NaCl 1000 ppm
- Agua desionizada.

b) Montaje experimental:

- Equipo contador de gota
- Depósito (bulbo) de cristal de 125 mL para mercurio
- Capilar de vidrio de 6 pulgadas
- Manguera de plástico que conecta al bulbo y al capilar
- Celda de vidrio de 50 mL
- Electrodo de calomel saturado y platino
- Tubo de purga

METODOLOGÍA



METODOLOGÍA.

1. ELABORACIÓN DE CURVAS DE CALIBRACIÓN

La curva de calibración es un método utilizado en polarografía para la elaboración del análisis cuantitativo, dicho método consiste en el trazo de un polarograma patrón previo, que incluye una serie de ondas a concentraciones crecientes. Las curvas de calibración para cada electrolito a estudiar se realizaron en base a las concentraciones de los mismos publicados por González y col. 1994 (1). Dichas curvas fueron trazadas con ayuda de un electrolito soporte previamente seleccionado, adicionándole la solución estándar de cada electrolito a concentraciones más altas para cada onda, ésto es, a la primera se le adicionó el equivalente a 1×10^{-4} M, a la segunda 2×10^{-4} M y así hasta obtener 5 o 6 ondas.

Las condiciones en las que se obtuvo cada curva de calibración se muestran en el siguiente cuadro:

CONDICIONES	SODIO	POTASIO	CLORO	CALCIO
Técnica	Dif. de Pulsos	Dif. de Pulsos	Dif. de Pulsos	Pulsos
Potencial	-2.12	-2.14	+1.39	-2.37
Potencial de barrido	5mV/seg	5mV/seg	5mV/seg	5mV/seg
Tiempo de gota	1 seg	1 seg	1 seg	1 seg
Altura de pulso	1.5 V	1.5 V	1.5 V	1.5 V
Escala de corriente	0.5 mA	0.5 mA	0.2 mA	0.2 mA

El electrolito soporte utilizado para Sodio, Potasio y Calcio fue el Tetrabutilamonio tetrafluoroborato $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4 \text{NBF}_4$ 0.1 Molar, a diferencia del Cloro, donde se utilizó el Nitrato de potasio (KNO_3) 0.1 Molar. El tiempo de burbujeo de nitrógeno húmedo para cada caso fue de 6 minutos.

Una vez obtenidas las curvas de calibración, éstas se compararon con las curvas polarográficas de la muestra a estudiar y se determinó la concentración de ésta de acuerdo a la altura registrada en cada una de las ondas

2. DILUCIÓN DE LA MUESTRA SALIVAL

La muestra salival debió ser diluida con el fin de trabajar dentro de los parámetros establecidos con las curvas de calibración. Para la realización de dicha dilución, se utilizaron tres vasos de precipitado en los cuales se colocó 1 mL de saliva y 9 mL de agua desionizada, hasta aforar a 10 mL.

3. DETERMINACIÓN DE CLORO EN SALIVA

Condiciones:

Técnica: Diferencial de Pulsos.

Potencial: +1.39

Potencial de barrido: 5 mV/seg

Tiempo de gota: 1 seg

Altura de pulso: 1.5 V

Escala de corriente: 0.20 mAmp.

Temperatura: 19° C

pH: 7

Una vez diluida la muestra salival tres veces como ya se mencionó, se realizó el trazo de tres polarogramas con cada una de ellas con el fin de obtener nueve registros. El procedimiento a seguir para cada polarograma es el siguiente: se colocó en la celda de vidrio 10 mL del electrolito soporte (KNO_3), haciéndolo burbujear con nitrógeno

húmedo durante 6 min., transcurrido el tiempo, se registró la onda del mismo (curva residual) y después se adicionó 1 mL de la dilución salival, burbujeando 30 seg. más antes del registro de ésta.

4. DETERMINACIÓN DE CALCIO EN SALIVA

Condiciones:

Técnica: Pulsos

Potencial: -2.37

Potencial de barrido: 5 mV/seg

Tiempo de gota: 1 seg

Altura de pulso: 1.5 V

Escala de corriente: 0.2 mAmp.

Temperatura: 20° C

pH: 7

El procedimiento fue el mismo que con Cloro, con la única diferencia de que se utilizó $[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3]_4 \text{NBF}_4$ como electrolito soporte.

5. DETERMINACIÓN DE SODIO EN SALIVA

Debido a la semejanza del potencial entre sodio y potasio y a que éstos registraron una sola curva en el análisis polarográfico, fue necesario determinar uno de ellos por otro método electroquímico, es decir, el sodio fue determinado a través de un voltímetro y un electrodo selectivo para sodio. Antes del análisis en saliva, se prepararon soluciones estándar de sodio a diferentes concentraciones, comenzando con 1×10^{-4} hasta llegar a 7×10^{-4} ; con éstas soluciones se elaboró una tabla de acuerdo a la

concentración de la solución y el valor registrado por el voltímetro; dicho valor se obtuvo colocando el electrodo en cada una de las diferentes concentraciones dejándolo 3 min. en cada una, y anotando el valor observado en el voltímetro una vez transcurrido el tiempo.

Para el análisis salival, se procedió a la dilución de la muestra (de la misma forma que para los otros electrolitos) y posteriormente se introdujo el electrodo selectivo para sodio en cada dilución durante 3 min. para después registrar el valor obtenido y así, comparar los resultados con la tabla de concentraciones previamente realizada.

6. DETERMINACIÓN DE POTASIO EN SALIVA

Condiciones:

Técnica: Diferencial de pulsos
Potencial: -2.14
Potencial de barrido: 5 mV/seg
Tiempo de gota: 1 seg
Altura de pulso: 1.5 V
Escala de corriente: 0.50 mAmp.
Temperatura: 19° C
pH: 7

El procedimiento fue el mismo que para Cloro y Calcio; en la determinación de Potasio se utilizó el mismo electrolito soporte que para Calcio.

7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El manejo de los resultados se realizó por medio del método estadístico conocido como "*t de student*" con un nivel de significancia de $p \leq 0.05$.

RESULTADOS.

RESULTADOS DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN

CLORO:

Una vez obtenido el polarograma de la curva de calibración de acuerdo a las condiciones que se describen en el capítulo de metodología y conociendo la concentración que se adicionó en cada curva, se gráfícó la concentración vs altura, ajustando los puntos con una regresión lineal. Los resultados de la curva de calibración de cloro se describen en el siguiente cuadro:

ALTURA cm.	CONCENTRACIÓN Mol/L	ALTURA cm. (REGRESIÓN LINEAL)
2.00	5.00E-04	2.20
3.70	1.00E-03	3.86
6.00	1.50E-03	5.52
7.80	2.00E-03	7.18
9.00	2.50E-03	8.83

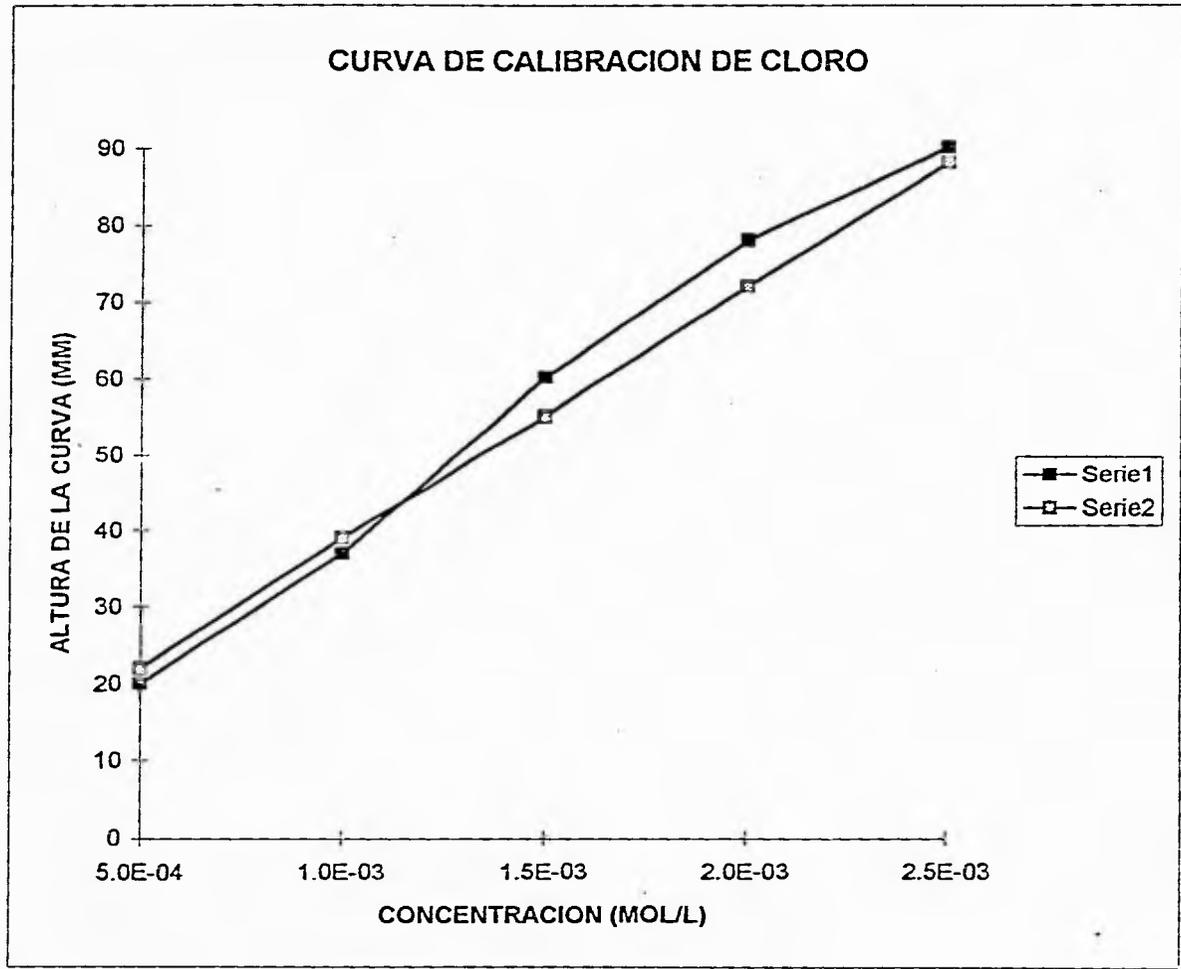
Ordenada al origen = 0.54 cm.

Pendiente = 3317.6 Mol/L cm

Factor de correlación = 0.9855

La tercera columna indica los valores ajustados por la regresión lineal, tomándose como variable dependiente los valores de altura y variable independiente los valores de concentración.

Como se puede observar en la **Gráfica 1** los valores obtenidos en la regresión lineal, tienen un buen ajuste, lo que indica que cada adición realizada es proporcional a



Gráfica 1

una altura conocida, ésto la hace una buena gráfica de calibración trabajando siempre bajo las mismas condiciones.

CALCIO:

En la determinación de Calcio, tanto en la curva de calibración como en el análisis polarográfico salival, se utilizó la técnica de *Pulsos*, debido a las interferencias recibidas por las concentraciones mayores de los electrolitos de Sodio y Potasio. El procedimiento para la realización de la curva de calibración de Calcio fue el mismo que se utilizó para Cloro y los resultados se resumen a continuación:

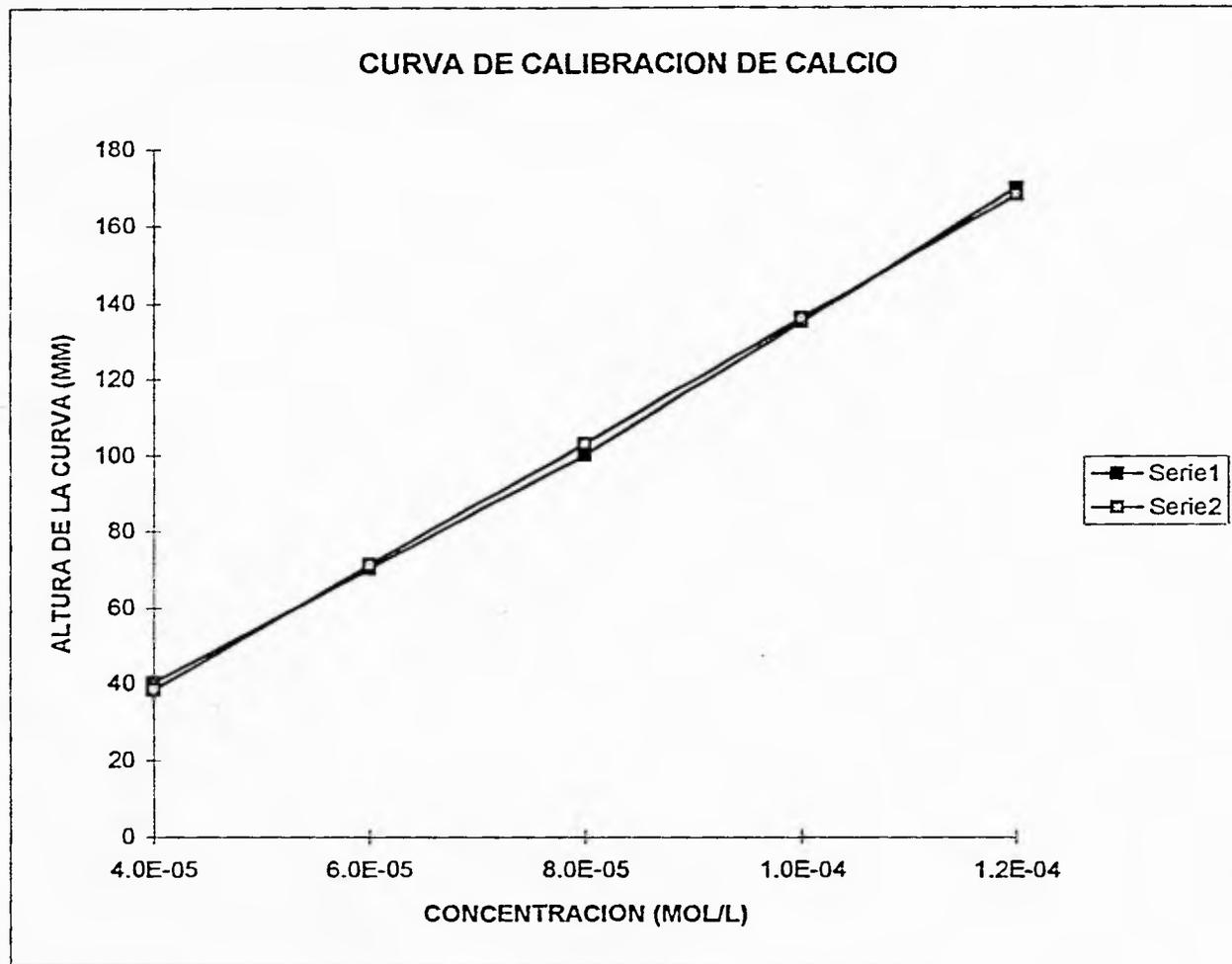
ALTURA cm.	CONCENTRACIÓN Mol/L	ALTURA cm. (REGRESIÓN LINEAL)
0.40	4.00E-05	0.38
0.70	6.00E-05	0.71
1.00	8.00E-05	1.03
1.35	1.00E-04	1.36
1.70	1.20E-04	1.68

Ordenada al origen = 0.27 cm

Pendiente = 1625 Mol/L cm

Factor de correlación = 0.9991

En la **Gráfica 2** se muestra la curva de calibración del calcio, en donde se puede observar que se obtuvo una proporción adecuada de altura y concentración.



Gráfica 2

SODIO:

Para la cuantificación de Sodio, se realizaron dos curvas de calibración, una por polarografía y la otra utilizando un voltímetro y un electrodo selectivo para sodio.

Los resultados de la curva de calibración por polarografía son los siguientes:

ALTURA cm.	CONCENTRACIÓN Mol/L	ALTURA cm. (REGRESIÓN LINEAL)
1.50	1.00E-04	1.61
3.20	2.00E-04	3.02
4.40	3.00E-04	4.43
5.80	4.00E-04	5.84

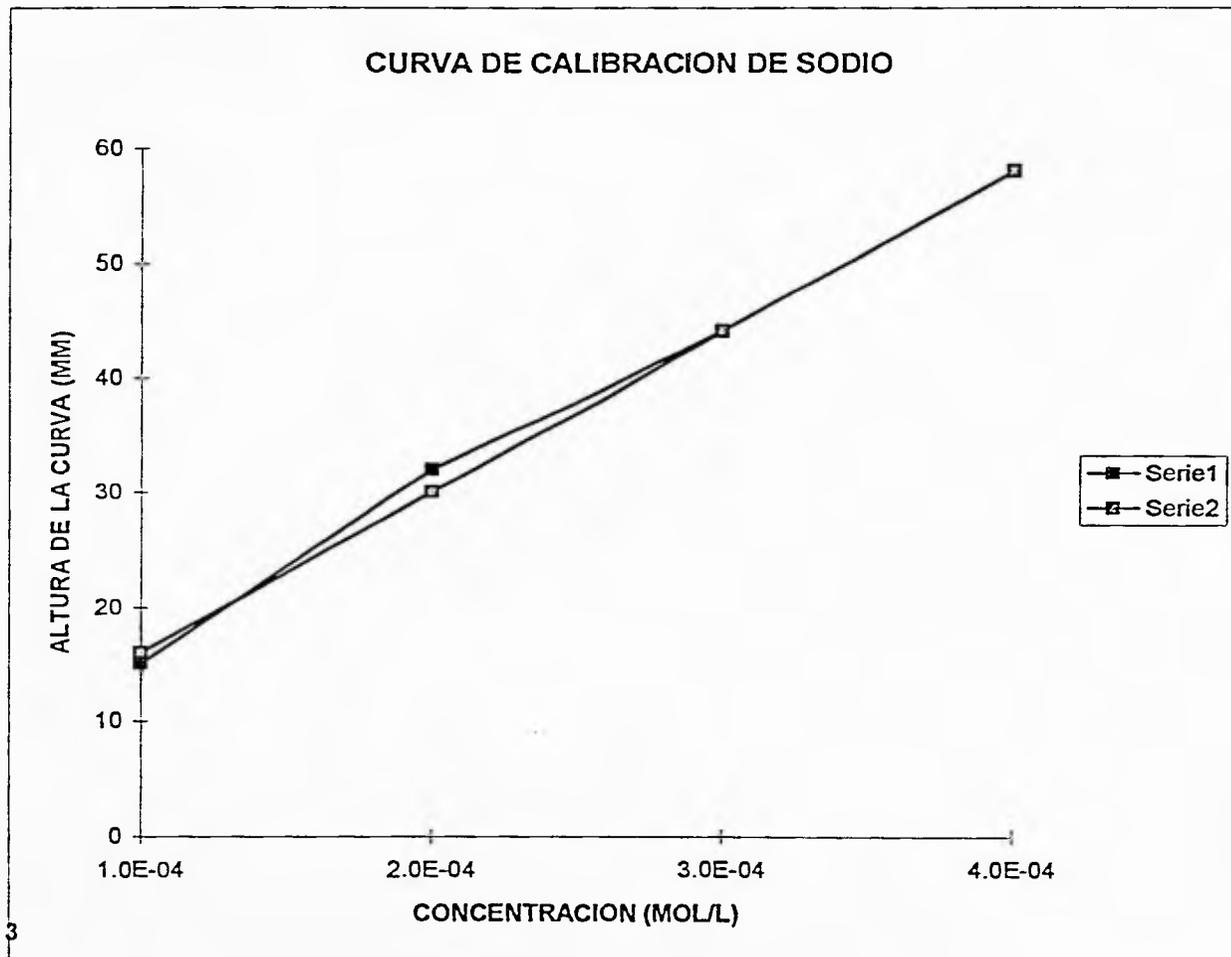
Ordenada al origen = 0.2 cm

Pendiente = 14100 Mol/L cm

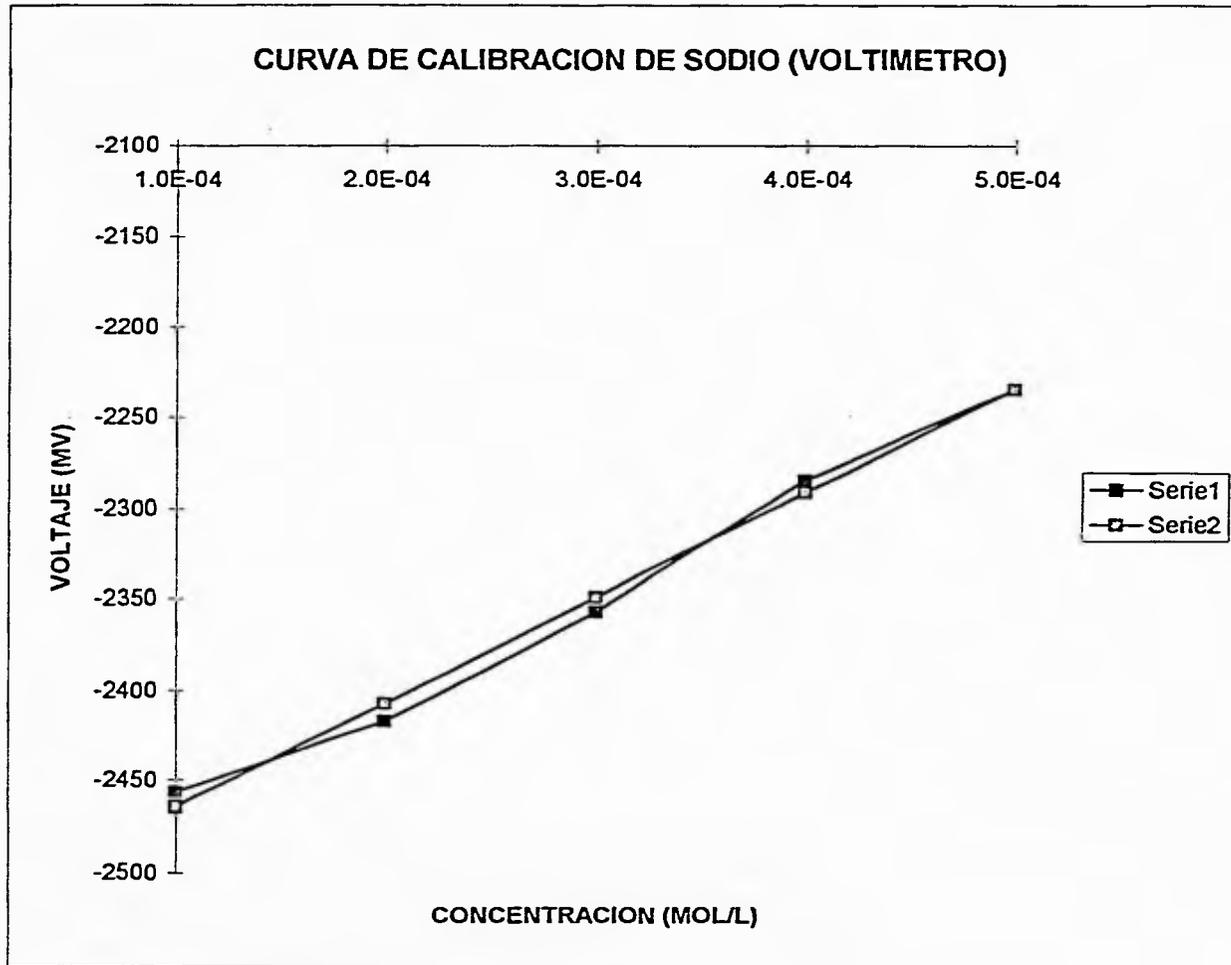
Factor de correlación = 0.9976

La curva de calibración de Sodio por polarografía se realizó de igual manera que la de Calcio y Cloro. En la **Gráfica 3** se muestra la proporción obtenida de altura y concentración de la curva de calibración de sodio bajo la técnica polarográfica.

Debido a la semejanza de potenciales de Sodio y Potasio fue necesaria la utilización de un método alternativo para la cuantificación de Sodio, es por ello que se utilizó un voltímetro en base a estándares de concentraciones conocidas (como se describe en el capítulo de metodología), determinando su potencial a través del voltímetro. Los resultados obtenidos bajo dicho método se describen en el siguiente cuadro y se ilustran en la **Gráfica 4**.



Gráfica 3



Gráfica 4

CONCENTRACIÓN Mol/L	VOLTAJE mV	VOLTAJE mV (REGRESIÓN LINEAL)
1.00E-04	-245.7	-246.56
2.00E-04	-241.7	-240.77
3.00E-04	-235.7	-234.98
4.00E-04	-228.4	-229.19
5.00E-04	-223.4	-223.4

Ordenada al origen = -252.35 mV

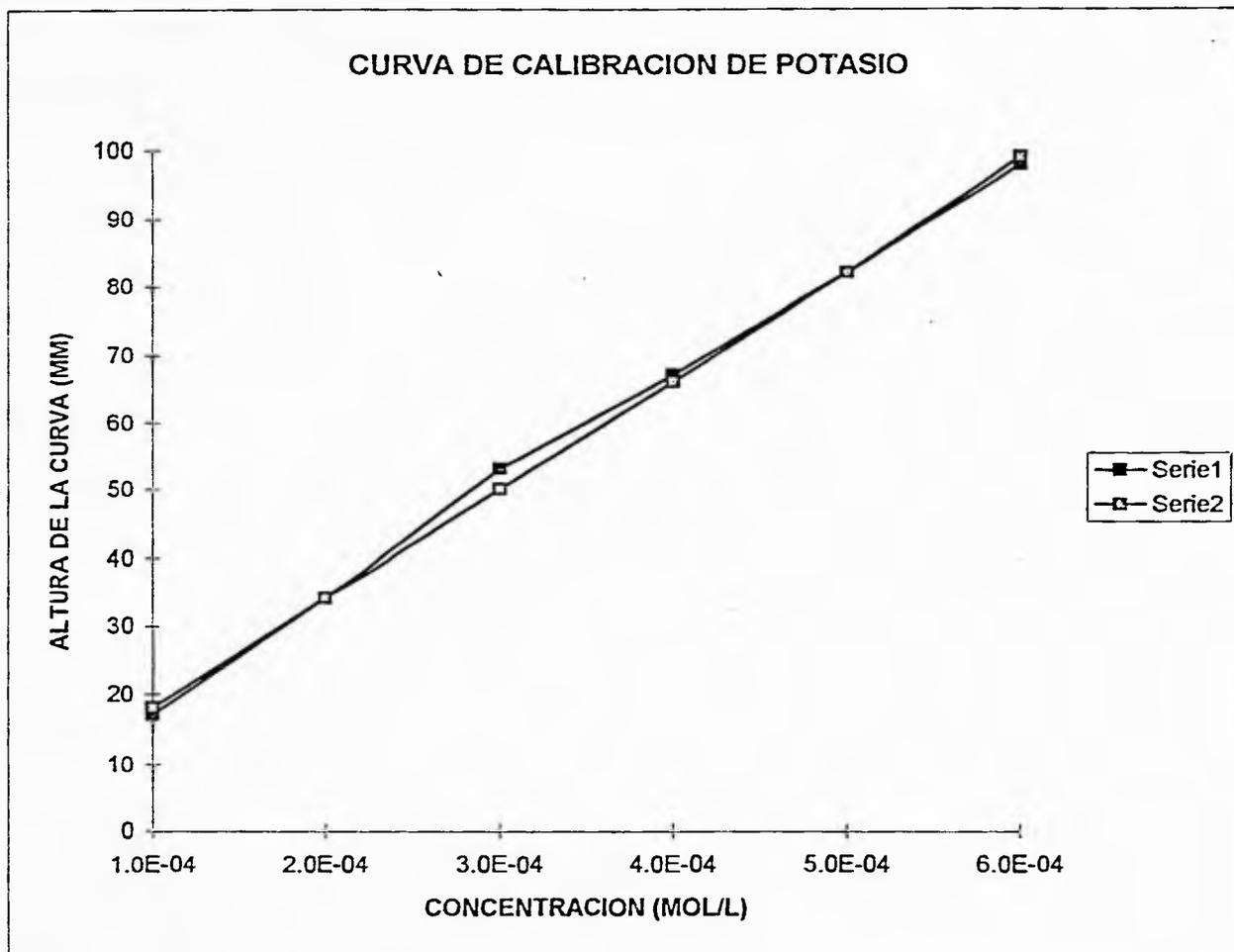
Pendiente = 57900 Mol/L Mv

Factor de correlación = 0.9959

POTASIO:

La curva de calibración de Potasio se realizó por polarografía de acuerdo a las condiciones descritas en la parte de metodología y de igual forma que las demás. Los resultados son los siguientes:

ALTURA cm.	CONCENTRACIÓN Mol/L	ALTURA cm. (REGRESIÓN LINEAL)
1.70	1.00E-04	1.83
3.40	2.00E-04	3.44
5.30	3.00E-04	5.05
6.70	4.00E-04	6.65
8.20	5.00E-04	8.26
9.80	6.00E-04	9.87



Gráfica 5

Ordenada al origen = 0.22 cm
Pendiente = 16085.71 Mol/L cm
Factor de correlación = 0.9989

Como se observa en la **Gráfica 5**, los valores obtenidos en la regresión lineal tienen un buen ajuste a una línea recta, ésto la hace una buena gráfica de calibración.

RESULTADOS DEL ANÁLISIS POLAROGRÁFICO

La cuantificación electrolítica se llevó a cabo de la siguiente forma:

Una vez obtenidas las curvas de calibración, se midió la altura de cada curva a partir del primer trazo (curva residual), con éstas medidas se elaboraron las tablas y gráficas de altura vs concentración, descritas anteriormente. Posteriormente, cada polarograma obtenido en el análisis salival de cada electrolito se midió de igual forma y de acuerdo a los valores establecidos con anterioridad en las tablas y gráficas de calibración, se obtuvo la concentración a partir de la altura registrada. El intervalo de confianza para cada cuantificación se determinó a través del análisis estadístico *t de student*. Los resultados del análisis salival son descritos a continuación.

CLORO:

Recolección salival:

Tipo de saliva: Saliva Total Estimulada

Hora de recolección: 8:45 a.m.

Tiempo de recolección: 5 minutos

Tubo utilizado: 030E

Peso del tubo: 6.38 gr.

Peso del tubo incluyendo la muestra: 12.60 gr.

Peso de la muestra salival: 6.22 gr.

Volumen de la muestra salival: 5.5 mL.

Volumen salival secretado por minuto: 1.1 mL/min.

Análisis Polarográfico:

CORRIDA No.	ALTURA cm.	CONCENTRACIÓN DE DILUCIÓN mol/L	CONCENTRACIÓN REAL mol/L
1	6,00	1,65E-03	1,65E-02
2	6,50	1,80E-03	1,80E-02
3	6,00	1,65E-03	1,65E-02
4	6,00	1,65E-03	1,65E-02
5	7,00	1,95E-03	1,95E-02
6	6,00	1,65E-03	1,65E-02
7	6,00	1,65E-03	1,65E-02
8	6,50	1,80E-03	1,80E-02
9	6,00	1,65E-03	1,65E-02

Análisis de datos:

Promedio \bar{X} = 1.71E-02

Desviación estándar S= 1,09E-03

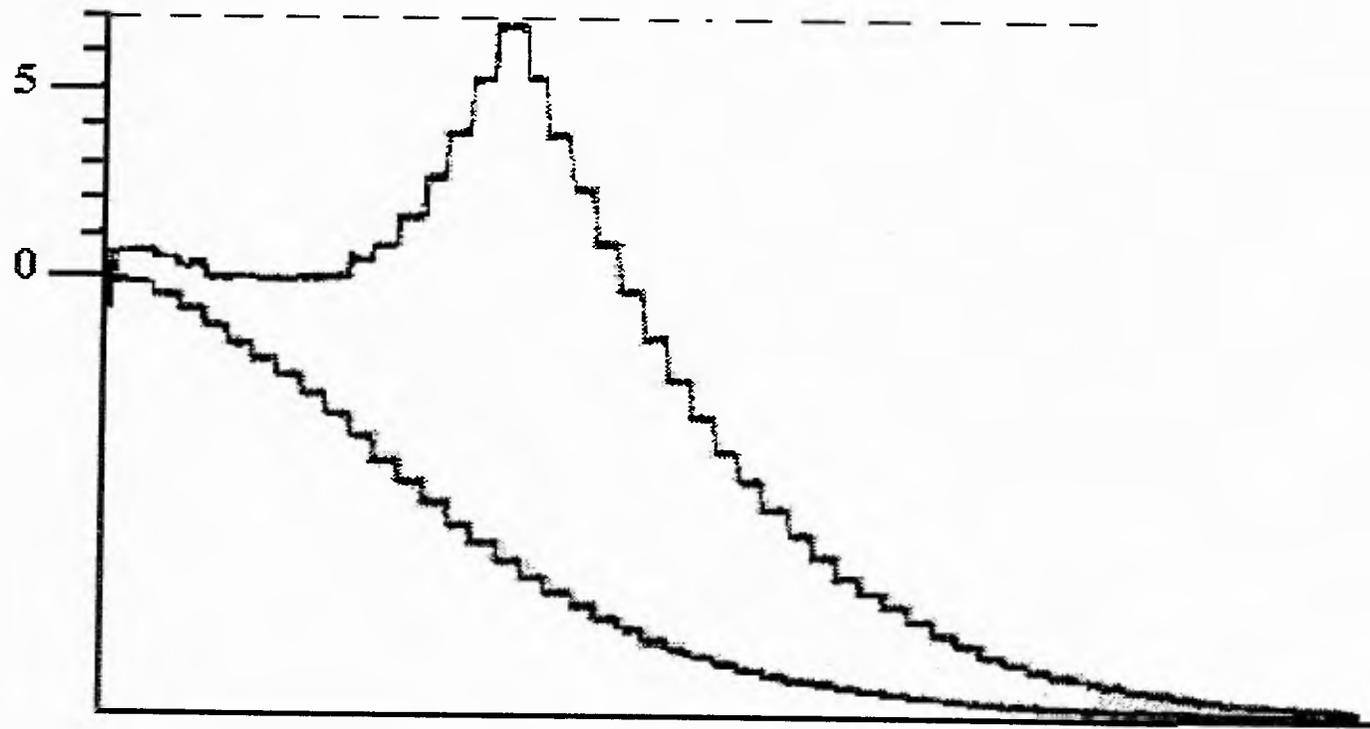
Valor de t: (95%, n-1) = 1,8595

Intervalo de confianza = 1.67E-02 mol/L a 1.78E-02 mol/L

16.4 a 17.8 mMol/L

Para la determinación de Cloro, se realizaron 9 polarogramas, todos bajo las mismas condiciones y la misma técnica con las que previamente se realizó la curva de calibración.

Los 9 polarogramas se elaboraron utilizando una sola muestra salival, por lo que las variantes observadas en el cuadro anterior son mínimas.



POLAROGRAMA DE CLORO

CALCIO:

Recolección salival:

Tipo de saliva: Saliva Total Estimulada

Hora de recolección: 8:30 a.m.

Tiempo de recolección: 5 minutos

Tubo utilizado: 030E

Peso del tubo: 6.38 gr.

Peso del tubo incluyendo la muestra: 12.63 gr.

Peso de la muestra salival: 6.25 gr.

Volumen de la muestra salival: 5.5 mL.

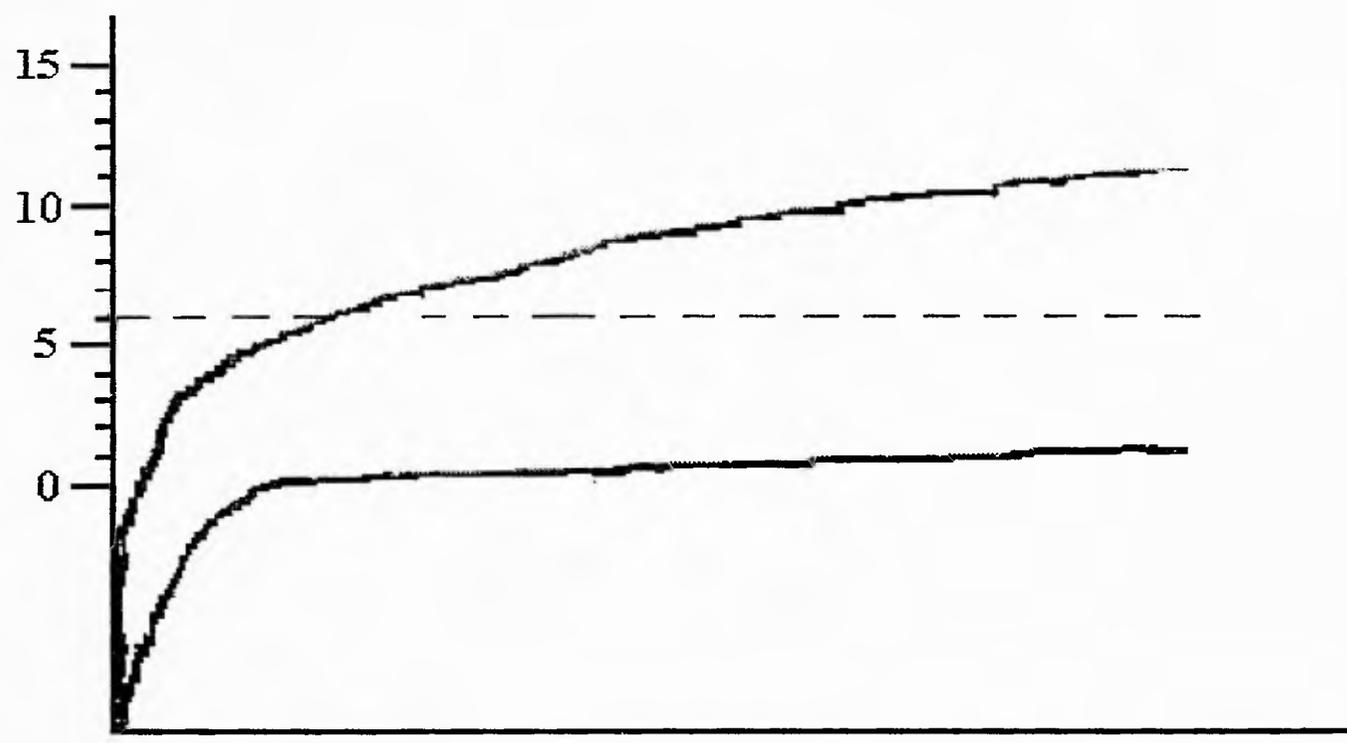
Volumen salival secretado por minuto: 1.1 mL/min.

Análisis Polarográfico:

CORRIDA No.	ALTURA cm.	CONCENTRACIÓN DE DILUCIÓN mol/L	CONCENTRACIÓN REAL mol/L
1	0,7	5,97E-05	0,97E-04
2	0,6	5,35E-05	5,35E-04
3	0,6	5,35E-05	5,35E-04
4	0,37	3,94E-05	3,94E-04
5	0,65	5,66E-05	5,66E-04
6	0,8	6,58E-05	6,58E-04
7	0,5	4,74E-05	4,74E-04
8	0,5	4,74E-05	4,74E-04
9	0,5	4,74E-05	4,74E-04

Análisis de datos:

Promedio \bar{X} = 5.23E-04 Mol/L



POLAROGRAMA DE CALCIO

Desviación estándar $S = 7,90E-05$

Valor de t (95% $n-1$) = 1,8595

Intervalo de confianza = $4.74E-04$ mol/L a $5.72E-04$ mol/L

0.47 a 0.52 mMol/L

De la misma forma que para el Cloro, se realizaron 9 determinaciones con una misma muestra salival, bajo las mismas condiciones en que se realizó la curva de calibración.

Para la determinación de Calcio, fue necesario cambiar la técnica que se utilizó para Cloro y Potasio, debido a que al trazar un polarograma se registraba solo una curva para Sodio, Potasio y Calcio y, con la ayuda de la técnica *Pulsos* se logró separar Sodio y Potasio de la curva del Calcio.

SODIO:

Recolección salival:

Tipo de saliva: Saliva Total Estimulada

Hora de recolección: 8:30a.m.

Tiempo de recolección: 5 minutos

Tubo utilizado: 025E

Peso del tubo: 3.37 gr.

Peso del tubo incluyendo la muestra: 12.84 gr.

Peso de la muestra salival: 6.47 gr.

Volumen de la muestra salival: 6.5 mL.

Volumen salival secretado por minuto: 1.3 mL/min.

Análisis Polarográfico:

POTENCIAL mV	ALTURA cm.	CONCENTRACIÓN DE DILUCIÓN mol/L	CONCENTRACIÓN REAL mol/L
-243,7	2,40	1,60E-04	1,60E-03
-243,9	2,50	1,79E-04	1,79E-03
PROMEDIO	2,45	1,70E-04	1,70E-03

Como se muestra en el cuadro, el Sodio fue determinado de acuerdo al voltaje registrado de dos diluciones tomadas de una misma muestra salival, utilizando un electrodo selectivo. El resultado es calculado de acuerdo al promedio de las dos lecturas, con éste promedio se llegó a la concentración y altura de acuerdo a la tabla y gráfica de calibración.

POTASIO:

Recolección salival:

Tipo de saliva: Saliva Total Estimulada

Hora de recolección: 8:30a.m.

Tiempo de recolección: 5 minutos

Tubo utilizado: 025E

Peso del tubo: 6.37 gr.

Peso del tubo incluyendo la muestra: 12.84 gr.

Peso de la muestra salival: 6.47 gr.

Volumen de la muestra salival: 6.5 mL.

Volumen salival secretado por minuto: 1.3 mL/min.

Resultados de Sodio:

Concentración: 1.70E-02 Mol/L

1.70 mMol/L

Altura: 2,45 cm.

Análisis Polarográfico de Potasio:

CORRIDA No.	ALTURA TOTAL cm:	ALTURA cm:	CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL mol/L	CONCENTRACIÓN REAL mol/L
1	10,1	7,65	4,62E-04	4,62E-03
2	9,7	7,25	4,37E-04	4,37E-03
3	9,5	7,05	4,25E-04	4,25E-03
4	9,3	6,85	4,12E-04	4,12E-03
5	9,9	7,45	4,49E-04	4,49E-03
6	9,5	7,05	4,25E-04	4,25E-03
7	9,6	7,15	4,31E-04	4,31E-03
8	9,1	6,65	4,00E-04	4,00E-03
9	9	6,55	3,94E-04	3,94E-03

Análisis de datos:Promedio \bar{X} = 4,26E-03

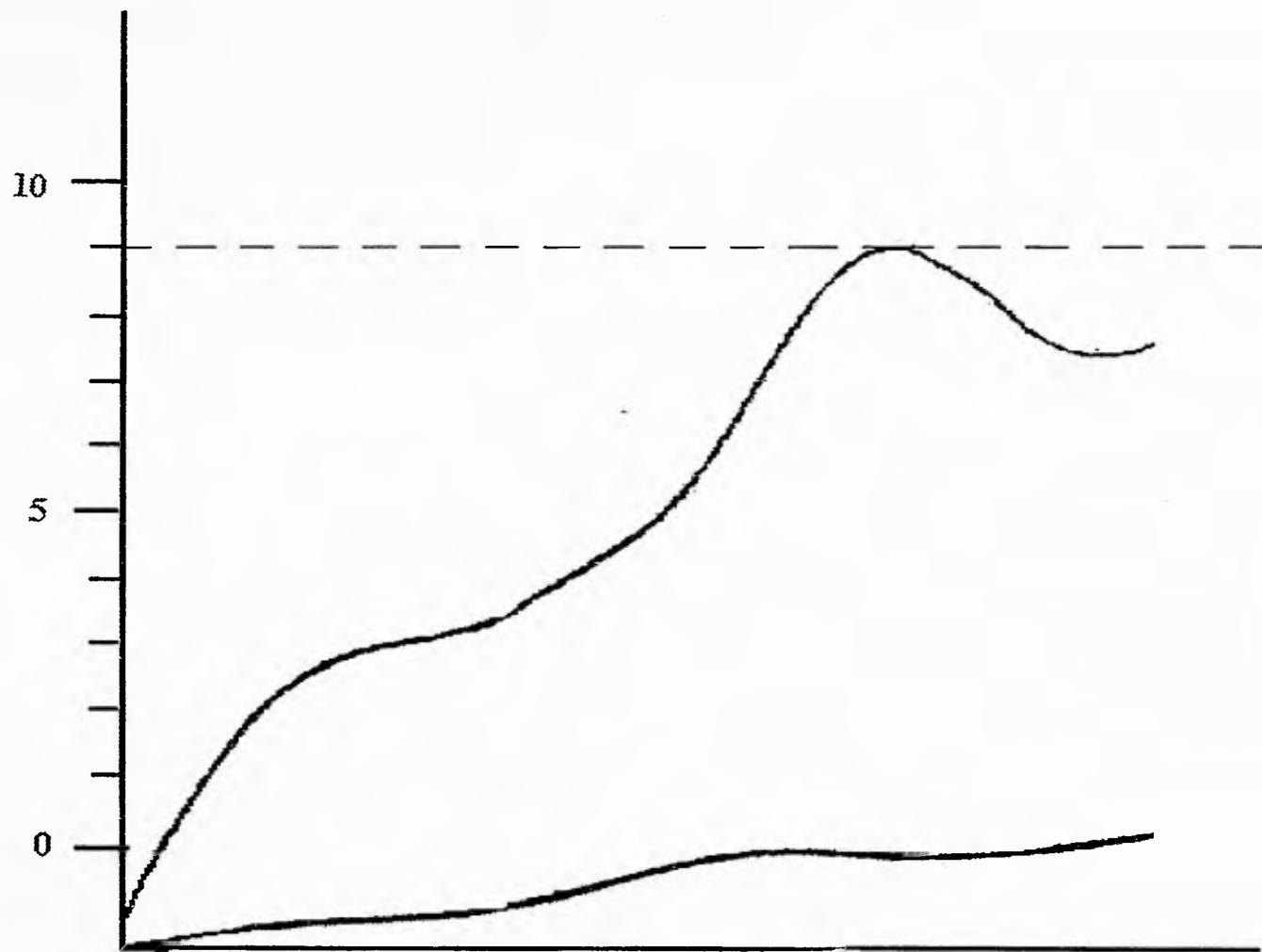
Desviación estándar = 2,21E-04

Valor de t (95% n-1) = 1,8595

Intervalo de confianza = 4,12E-03 mol/L a 4,40E-03 mol/L

4,12 a 4,4 mMol/L

El potasio fue determinado indirectamente, ya que primero se determinó la concentración de sodio y a través de ésta se obtuvo la altura de la curva según la gráfica



POLAROGRAMA DE SODIO Y POTASIO

de calibración por polarografía. Al polarograma realizado con sodio y potasio por polarografía (altura total), se le restó la altura de la concentración de sodio, ésta diferencia correspondió a la altura de potasio. Una vez obtenida la altura de potasio se determinó su concentración de acuerdo a la gráfica de calibración (concentración vs altura).

*DISCUSIÓN Y
CONCLUSIONES.*

DISCUSIÓN

Haciendo una revisión de los artículos publicados sobre el tema donde se incluyen los valores electrolíticos salivales obtenidos por otros métodos reportados, pudimos hacer una comparación de éstos con los resultados obtenidos por polarografía. La comparación se resume en el siguiente cuadro:

ELECTROLITO	TENOVO* (35)	GONZÁLEZ Y COL.* (1)	EDGAR Y COL.*(36)	ANÁLISIS POLAROGRÁFICO*
SODIO	13-80	16.2-18.06	6-26	1.7
POTASIO	13-38	12.43-37.9	14-32	4.12-4.40
CLORO	10-56	20.06-26.4	17-29	16.4-17.8
CALCIO	0.2-4.7	1.58-2.03	1-2	0.47-0.57

* Concentraciones en mMol/L.

Es importante tomar en cuenta que los valores publicados observados en el cuadro son de poblaciones extranjeras y que las concentraciones electrolíticas varían según la raza, edad, sexo, características genéticas, dieta, grado de nutrición, altitud, clima, así como la técnica utilizada en el estudio, ya que generalmente éste se realiza a través de espectrofotometría de absorción atómica. (3)

Los resultados obtenidos del análisis polarográfico difieren un poco a los reportados en la literatura con excepción del Cloro y un tanto el Calcio, que podían considerarse dentro del intervalo de error experimental. Esto ratifica la alta sensibilidad del aparato polarográfico para éstos iones, ya que el Cloro es uno de los electrolitos con más dificultad para su detección y de hecho, su determinación representa un reto experimental para cualquier técnica.

En cuanto al Sodio y al Potasio, que es donde se observa una mayor discrepancia, ésta se puede atribuir a la dificultad que existió para su detección y cuantificación, ya que al ser dos iones potencialmente muy parecidos por pertenecer a la misma familia en la tabla periódica, polarográficamente no se detectan por separado y al utilizar un electrodo específico para Sodio, se amplía el margen de error, lo que permitiría explicar el resultado tan bajo que se obtuvo. Por otro lado, debe considerarse la interacción que existe entre las proteínas y los iones, principalmente con Sodio, Calcio y Fosfatos; es decir, las proteínas al atraer iones, forman un complejo proteína-ión, por lo que al hacer la cuantificación de éstos, puede darnos un resultado enmascarado del valor real. Así mismo, el resultado puede verse afectado por un fenómeno igual al de las proteínas, pero producido por las bacterias. Por lo anterior, se recomienda la utilización de un surfactante de tipo iónico a fin de disminuir dicho efecto y obtener mejores resultados.

Otro factor importante que no se ha mencionado, es la cantidad de flujo salival; ya que la concentración de los diferentes componentes salivales es proporcional a éste, y de acuerdo al primer reporte sobre el flujo salival en saliva total de la población mexicana, realizado por Banderas y cols. (37), el flujo salival y la concentración de proteínas en ésta población es ligeramente menor al reportado en países desarrollados, por lo que se considera que las concentraciones iónicas posiblemente sean ligeramente menores.

Se debe recalcar a la vez que otras variables como tipo de estímulo y la técnica empleada para la colección salival son factores determinantes en la composición de la saliva. (35)

En general, los resultados que se obtuvieron, no solo en cuanto a la cuantificación electrolítica sino a la sensibilidad del equipo, son satisfactorios para ciertos iones salivales, logrando con éxito el primer estudio sobre cuantificación electrolítica salival con métodos analíticos como la polarografía en población mexicana, lo cual jamás ha sido reportado.

CONCLUSIONES

1. De acuerdo a los resultados obtenidos y habiendo alcanzado el objetivo planteado al principio, la técnica polarográfica ha demostrado ser una metodología alternativa bien desarrollada, con una alta sensibilidad para Cloro y Calcio.

2. La cuantificación del Sodio y Potasio, no fue tan accesible, debido a las dificultades que se presentaron entre ellos por contar con potenciales muy similares. A pesar de ésto y siendo imposible determinar el margen de error debido a que no existen reportes de valores electrolíticos en saliva en la población mexicana, se considera que éste no es mayor, no sólo por la sensibilidad que presenta el equipo sino porque es una sólo metodología, lo contrario a otras técnicas que han sido utilizadas en Sialoquímica, las cuales emplean electrodos específicos, haciéndolas más complicadas y ampliando el margen de error.

3. Cabe mencionar que la implementación del uso de la técnica polarográfica en el área de Sialoquímica es completamente original, ya que no hay publicación alguna sobre el particular, por lo que el presente estudio podría dar la pauta a diversas investigaciones no sólo en el área de Sialoquímica sino también en otras áreas odontológicas.

BIBLIOGRAFÍA.

BIBLIOGRAFÍA

1. González M. y cols.: Saliva y cavidad bucal, parte I: Glándulas salivales, mecanismos fisiológicos de la secreción salival. *Práctica Odontológica*. 1994, 15 (6) 7-15.
2. Cohen B., Kramer I.: *Fundamentos científicos en Odontología*. Ed. Salvat. Barcelona, España; 1981: 597-629.
3. Seifert G., Miehke A., Haubrich J., Chilla R.: *Diseases of the Salivary Glands*. 3rd Ed. New York, NY: Thieme Inc; 1986: 1-62.
4. Guyton A.C.: *Tratado de Fisiología Médica*. Ed. Interamericana 7a. Edición. España 1988: 30-37.
5. Quiroz F.: *Anatomía Humana*. T.III. Ed. Porrúa. México, D.F; 1990: 96-105.
6. Bradway S., Levine M.: *Salivary glands and saliva*. *Encyclopedie of human biology*. Vol. 6, Academic press Inc. New York, Buffalo; 1991: 689-700.
7. Garret J.R., Emmelin N.: *Activities of salivary myoepithelial cells.: A review*. *Med Biol*. 57 (1979) 1.
8. Caselitz J., Löning Th., Seifert G.: *An aproach to stain actin in parotid glands cells in paraffin embedded material. Staining by human anti-actin antibodies using the indirect unlabelled immunoperoxidase technique*. *Virchows Arch A Path Hist*, 387 (1980) 301.
9. Banderas J.A. y González M.: *Saliva y cavidad bucal: Parte II. Proteínas salivales: funciones biológicas en el mantenimiento de la homeostasis bucal*. *Práctica Odontológica*, 1994; 15 (6): 13-20.
10. Jenkins G. N.: *Fisiología y bioquímica bucal*. Ed. Limusa. México, D.F; 1983: 301-77.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

11. Edgar W.M.: Saliva: its secretion, composition and functions. *Br. Dent J.* 1992; 172: 305-12.
12. Ganong W.: *Fisiología médica*. Ed. El Manual Moderno. México, D.F. 1988: 431-15.
13. Manson D., Chisholm D: *Salivary glands in health and disease*. Saunders, London (1975).
14. Munzel M.: Die biochemie der menschlichen Speicheldrüsen sekrete. *Arch Oto Rhino-Laring*, 213 (1976) 209.
15. Dawes C., Wood C.: The contribution of oral minor mucous gland secretions to the volumen of whole saliva in man. *Arch Oral Biol*, 18 (1973a) 337.
16. Petersen J.: Xerostomia. *Scand J Rneumathology*. 1986 suppl 61: 185-189.
17. Ferguson D.B., Fort A., Elliot A.L., Potts A.J.: Circadian variations in human resting submandibular saliva flow rate and composition. *Arch Oral Biol*, 19 (1974) 47.
18. Hall Douglas: Protective and maintenance functions of human saliva. *Quintessence Int*, 1993; (24) 11: 813-16.
19. Mandel I.D.: *Sialochemistry in deseases and clinical situations affecting salivary glands*. School of Dental and Oral surgery, Columbia University. New York, New York 1980: 632-27.
20. National Institute of Dental Research: *Saliva: a promising diagnostic and monitoring tool*. *JADA*, vol 125, July 1994.
21. Aguirre A., Testa-Weintraub L.A., Banderas J.A. Haraszthy G.G., Reddy S. and Levine M.: *Sialochemistry: A diagnostic tool*. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 1993; 4(3/4):343-350.
22. Haeckel R.: The application of saliva in laboratory medicine. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem*, 1989; 27:221-252.

23. Kirschbaum C. and Hellhammer D.: Second European symposium on Hormone and Drug Assessment in Saliva. Perspectives for basic research and clinical practice. J. Clin Chem. Clin. Biochem, 1990; 28:649-666.
24. Tabak L., Levine I., Mandel and Ellison A.: Role of salivary mucins in the protection of the oral cavity. J. Oral Pathol, 1982; 11:1-17.
25. Slave M. M.: Laboratorio de bioquímica. Ed. Interamericana. Madrid, España 1994: 109-127.
26. Martin D.W., Mayes P.A., Rodwell V.W.: Bioquímica de Harper. Ed. El Manual Moderno. México D.F., 1986: 689.
27. Skoog D. A., West D. M.: Fundamentos de química analítica. Ed. Reverté S.A. España, 1988: 560-605.
28. Kapoor R. C., Aggarwal B. S.: Principles of Polarography. John Wiley & Sunss Inc. U.S.A 1991: 1-159.
29. Huertas V.A.: Polarografía. Ed. Alhambra S.A., 1971: 30-192.
30. Costa J. M.: Fundamentos de electródica cinética electroquímica y sus aplicaciones. Ed. Alhambra. España, 1981: 184-88.
31. Skoog D.: Análisis instrumental. Ed. Mc Graw-Hill. México, D. F., 1989: 633-49.
32. Portillo M. R.: Introducción a la teoría y práctica de la polarografía. Publicado por el Instituto "Alonso Barba de Química". Madrid, España 1945: 12-73.
33. Charlot G. et al.: Las reacciones electroquímicas. Ed. Troraya Masson S.A. Barcelona, 1979.

34. Kalvoda R.: Electroanalytical methods in chemical and environmental analysis. Plenum publishing and SNTL. Checoslovaquia, 1987: 30-57.
35. Tenouvo J.O.: Human saliva. Vol. I. CRC Press 1989.
36. Edgar W.M., O'Mullane D.M.: Saliva and Oral Health. British Dental Association. London, 1995: 1-8.
37. Banderas J.A., González M., Nava J., Millan E.G., Sánchez M.P.: Gravimetric Analysis of salivary flow rate and its correlation with DMFT and CPITN in young population from the Estate of Mexico. [Abstract SS2: Contemporary Developments in Saliva Research & Experimental Workshop. Toluca, Estado de México Mayo 13-18, 1996.