UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS Fundada en 1551
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
E.A.P. DE ODONTOLOGÍA

Dosaje de calcio y fósforo en saliva estimulada en relación al cálculo supragingival, en personas sanas

TESIS para obtener el Título Profesional de: CIRUJANO DENTISTA

AUTOR
URSULA OFELIA RIVAS ALMONTE
ASESOR Mg. Blga. SOFIA ESPINOZA ESCAJADILLO

LIMA – PERÚ 2004

. . 1

AGRADECIMIENTOS . 3

RESUMEN . 5

SUMMARY . . 7

I. INTRODUCCIÓN . . 9

II. MARCO TEÓRICO . . 11

2.1. ANTECEDENTES . 11

2.2. BASES TEÓRICAS . . 12

A. SALIVA . . 12

B.CÁLCULO DENTAL . 24

2.3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA . 30

2.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA . 30

2.5 JUSTIFICACIÓN . . 31

2.6. LIMITACIONES . 31

2.7. OBJETIVOS . . 31

2.7.1 OBJETIVO GENERAL . . 31

2.7.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS . . 31

2.8. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN . . 32

2.9 CLASIFICACIÓN DE VARIABLES . 32

III. MATERIALES Y MÉTODOS . . 35

3.1 TIPO DE ESTUDIO . . 35

3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA . 35

3.2.1 Población: . 35

3.2.2 Muestra: . . 36

3.2.3 Criterios para la selección de la muestra: . 36

3.2.4 Unidad de muestreo . . 37

3.2.5. Unidad de análisis . . 37

3.3 MATERIALES . . 37

3.3.1 Instrumental para el examen clínico (Fig. 1) . 37

3.3.2 Material para la recolección de la muestra salival (Fig.1) . . 37

3.3.3 Equipos de laboratorio para el análisis químico (Figs. 2 y 3) . 38

3.3.4 Materiales de laboratorio para análisis de fósforo . 38

3.3.5 Materiales de laboratorio para análisis de calcio . 40

3.3.6 Material fotográfico . 40

3.3.7 Otros . 40

3.3.8 Infraestructura . 40

3.4 MÉTODO . 40

3.4.1 Procedimientos y Técnicas . 41

3.4.2 Procedimiento de recolección de datos . . 47

3.5 ANÁLISIS DE LOS DATOS . 47

IV. RESULTADOS . 49

4.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO . 49

4.2 ANÁLISIS INFERENCIAL . 50

V. DISCUSIÓN . . 57

CONCLUSIONES . . 59

RECOMENDACIONES . 61

BIBLIOGRAFÍA . 63

ANEXOS . 67

ANEXO Nº 1 . 67

ANEXO Nº 2 . 67

DEDICATORIA A mis padres por su amor, apoyo y sacrificio. A mis hermanas por su aliento en todo momento.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

AGRADECIMIENTOS

- A Dios y la Virgen María por ser mi compañía y guía.

- A mi asesora Mg. Blga. Sofía Espinoza Escajadillo, Jefe del Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Odontología de la UNMSM, por guiar los pasos de la presente investigación.

- Al Dr. Manuel Taboada Vega, profesor responsable del curso de Bioquímica de la Facultad de Odontología de la UNMSM, y a Blga. Elba Martínez Cadillo, profesora del curso de Bioquímica de la Facultad de Odontología de la UNMSM por su instrucción en el desarrollo de la investigación.

- Al Mg. Carlos Campodónico Reátegui, profesor del Departamento Académico de Estomatología Biosocial de la Facultad de Odontología de la UNMSM, por su colaboración en la parte metodológica y estadística de la presente investigación.

- A CD Jorge Villavicencio Gastelú, profesor del Departamento Académico de Estomatología Médico Quirúrgico, por sus aportes en la parte metodológica y estadística.

- A CD Marieta Petkova Gueorguieva, profesora responsable del Curso de Patología General y Estomatológica y a CD Lita Ortiz Fernández, profesora del Departamento Académico de Estomatología Biosocial, por sus observaciones sobre metodología de la investigación y estadística.

- Al Tte. Odon. Omar López Rabello, responsable del Consultorio Dental de Tropa del Hospital Militar Central, por su amistad y por brindar las facilidades para la toma de muestra.

- A mis amigos, pacientes y todas las personas que ayudaron también en la realización de la presente investigación.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue determinar la relación entre las concentraciones de calcio y fósforo en saliva estimulada con la presencia y ausencia de cálculo supragingival.

Se evaluaron muestras de saliva total estimulada de personas sanas, que acudieron al “Consultorio Dental de Tropa de la División de Estomatología del Hospital Militar Central”, Lima-Perú; 25 presentaban cálculo supragingival y 25 no lo presentaban, sus edades estuvieron entre los 17 y 21 años, incluidos hombres y mujeres. Se realizó un análisis espectrofotométrico a las muestras de saliva para determinar las concentraciones de calcio y fósforo.

Se observó que existió una diferencia significativa para el elemento fósforo (p=0,047) al comparar los 2 grupos de estudio, pero no se observó lo mismo en el caso del calcio (p=0,094). Las concentraciones de calcio y fósforo encontradas en el presente estudio fueron similares a las concentraciones mínimas encontradas en estudios de otros países.

Se demuestra así, que la participación del ión fósforo en la formación del cálculo supragingival es importante y que por lo tanto interviene en el estado de salud de la cavidad oral.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

SUMMARY

The objective of the present investigation was to determine the relation between the concentrations of calcium and phosphorus in saliva stimulated with the presence and absence of supragingival calculus.

Samples of stimulated total saliva of healthy people were evaluated, who went to the “Consultorio Dental de Tropa del Hospital Militar Central”, Lima-Perú; 25 presented supragingival calculus and 25 did not present it, their ages were between the 17 and 21 years, including men and women. A spectroscopy analysis to the saliva samples was made to determine the concentrations of calcium and phosphorus.

It was observed that a significant difference for the element existed phosphorus (p=0,047) when comparing the 2 training groups, but was not observed the same in the case of calcium (p=0,094). The concentrations of found calcium and phosphorus in the present study were similar to the found minimum concentrations in studies of other countries.

One demonstrates thus, that the participation of the ion phosphorus in the formation of the supragingival calculus is important and that therefore it takes part in the state of health of the oral cavity.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

I. INTRODUCCIÓN

El rol de la saliva en la formación de cálculo supragingival es ampliamente estudiado, la observación clínica, aparentemente, muestra que las propiedades de la saliva tienen una influencia predominante. Los componentes minerales del cálculo supragingival son derivados casi enteramente de la saliva.

El calcio y el fósforo son los dos iones salivales investigados más ampliamente con respecto a su intervención en la formación de cálculo supragingival. Aunque se considera que el principal rasgo de irritación del cálculo es su placa superficial más que su interior calcificado, el cálculo es un factor patógeno relevante en la enfermedad periodontal.

El objetivo de este trabajo de investigación fue determinar la relación existente entre las concentraciones de calcio y fósforo en saliva total estimulada y la presencia de cálculo supragingival, esto se realiza mediante análisis espectrofotométrico de las muestras salivales. Los resultados mostraron variaciones notorias en el caso del ion fósforo mas no para el calcio.

De esta manera las ciencias básicas, colaboran con el profesional odontólogo para un mejor entendimiento de los sucesos que se dan en la cavidad oral, por lo tanto adquieren gran importancia.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

II. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES

Montoya, Escobar, Zuluaga (Colombia 1992) [1], recogieron muestras de saliva estimulada en 32 pacientes, 16 de ellos formadores de cálculo dental supra y subgingival, se analizaron las concentraciones de calcio y fósforo de la saliva, mediante espectrofotometría. Los valores de la concentración para el grupo control variaron entre 34.63 y 55.53 ppm, mientras que para el fósforo variaron entre 206.99 y 417.83 ppm. El grupo experimental presentó cifras para el calcio entre 56.88 y 86.57 ppm y para el fósforo de 228.07 a 402.48 ppm. Observaron diferencias altamente significativas entre las personas formadoras y las personas no formadoras de cálculos con respecto al elemento calcio, mientras que para el fosfato la diferencia no es significativa.

Poff, Pearce, Larsen, Cutress (Nueva Zelanda 1996) [2] **,** buscaron una correlación entre el índice de la formación del cálculo supragingival y las concentraciones de calcio, fosfato, sodio, potasio y carbonato en saliva estimulada y no estimulada. Se midió el cálculo formado en las superficies linguales de los incisivos inferiores en 15 individuos. Las concentraciones de calcio en saliva total estimulada fueron de 0.524 mM y para el fósforo fue de 4.61 mM. Se encontró una relación entre el calcio y la formación del cálculo.

Galgut (Inglaterra 1997) [3] , valoró la presencia de cálculos en las superficies linguales de los dientes anteroinferiores en un grupo de 72 adultos jóvenes. Observó la tasa de recrecimiento de los cálculos tras la profilaxis profesional. Once de estos individuos demostraron un nuevo crecimiento de los cálculos sobre las superficies linguales inferiores de sus dientes a las 2 semanas de realizar la profilaxis profesional.

Larsen, Jensen, Madsen, Pearce (Nueva Zelanda 1998) [4] , evaluaron el riesgo de desarrollar caries dental y/o la formación de cálculo dental, mediante el análisis individual de la concentración de calcio y fosfato en saliva total estimulada. El calcio fue determinado por espectroscopía de absorción atómica y el fosfato por colorimetría. Los valores de calcio encontrados fueron de 1.1-4.2 mmol/l y los valores de fosfato fueron e 2.0-12.6 mmol/l. Se concluyó, que aunque la saliva se recolectó en varios días la concentración de calcio y fosfato en saliva mixta estimulada varió mucho en cada persona.

Acevedo, Hayes, Sintes (Estados Unidos 1999) [5] , investigaron las concentraciones de calcio, fósforo y fluoruro en placas dentarias y su relación con la susceptibilidad de caries dentarias y la formación de cálculos. Las placas fueron recolectadas de las regiones inferior y superior de los dientes anteriores y posteriores de cinco adultos después de pasar 24 horas sin cepillado y con 12 horas de ayuno. Los resultados demostraron que las placas de los dientes anteroinferiores sin caries contenían concentraciones mayores de calcio (16-50 mM x 25 mM) y fósforo (28-125 mM x 56 mM), y que en compensación, favorece la formación de cálculos.

Yévenes, Acosta, Apip, Reyes (Chile 2000) [6] , observaron el índice de caries (CPO-D) y parámetros salivales como la concentración de calcio y fosfato. Se realizaron muestras de saliva en personas de dos ciudades. Los valores obtenidos para los electrolitos salivales estudiados fueron contradictorios, puesto para el calcio se obtiene una correlación positiva para una ciudad y no para la otra. Por el contrario, se observan correlaciones inversas para ambas ciudades cuando se analiza el fosfato salival.

Larsen, Pearce (Nueva Zelanda 2003) [7] , obtuvieron muestras de saliva, en las cuales calcularon las concentraciones iónicas libres de calcio y fosfato, y los grados de sobresaturación con respecto a las apatitas, brushita, fosfato tricálcico, fosfato octacálcico, carbonato de calcio y fluoruro de calcio. Las concentraciones de calcio y fosfato obtenidas fueron de 1.11+0,21 y 3.72+0.73 mmol/l, respectivamente, concluyendo que estos valores se pueden utilizar para ilustrar condiciones químicas en saliva y placa.

2.2. BASES TEÓRICAS

A. SALIVA

A.1. ASPECTOS GENERALES

La saliva total o mixta es la combinación de las secreciones de las glándulas salivales mayores: parótida, submaxilar, sublingual, y el gran número de glándulas salivales menores esparcidas sobre la mucosa del paladar, carrillos y labios (10).La saliva obtenida de las glándulas individualmente es indicativo, primariamente, del estatus metabólico de aquellos órganos (17).

Más del 99% de la saliva es agua, además se ha estimado que el volumen total de la saliva producida en 24 horas es alrededor de 600 a 1200 mililitros (18).

El 90% de esta secreción es producida por las glándulas parótidas y las submaxilares, un 5% por las sublinguales y un 5-10% por las glándulas salivales menores. Del 80-90% de la producción diaria de saliva resulta de la estimulación, especialmente por los procesos gustatorios y masticatorios asociados con el acto de comer (18).

Las secreciones de las diferentes glándulas salivales varían sustancialmente en relación con la cantidad de diferentes proteínas y electrolitos que contienen (10).

A.2.FISIOLOGÍA DE LAS GLÁNDULAS SALIVALES

El parénquima de la glándula consta de una serie de conductos que finalizan en piezas secretorias terminales (18).

El conducto secretor terminal de la glándula salival se ramifica en una serie de conductos progresivamente más pequeños, los conductos estriados, que a su vez se ramifican en conductos intercalados más pequeños que se abren en fondo de saco ciego en las piezas secretorias terminales (18).

Las piezas terminales producen un líquido acinar, el cual a veces se llama secreción primaria. Este líquido consta de agua, iones, pequeñas moléculas y productos secretorios de las células de las piezas terminales. El líquido proviene del líquido intersticial, el cual a su vez se origina en la sangre de los capilares de modo similar a la formación de cualquier otro líquido intersticial. El líquido intersticial debe pasar entonces a través de las membranas basales que soportan la pieza secretoria terminal, y a través de la célula secretoria inicial, es un líquido isotónico que contiene proteínas caracterizado por un contenido electrolítico alto en sodio y bajo en potasio. El líquido es entonces modificado considerablemente por el sistema ductal a medida que pasa hacia la cavidad bucal (18).

Se considera que la estimulación betaadrenérgica (simpática) induce especialmente mecanismos de secreción de proteínas, mientras que la estimulación alfaadrenérgica y colinérgica (parasimpática) regula la liberación de agua y de electrolitos (18).

La secreción de la pieza terminal pasa primero a través de los conductos intercalares, los cuales recogen el líquido de otras piezas terminales que evacúan en el conducto estriado. Se piensa que las células del conducto estriado modifican las secreciones, de un líquido con contenido proteico isotónico cambia a la de un líquido hipotónico con bajas concentraciones de sodio y cloro. De esta manera, se vacía el sodio celular dentro del líquido tisular, estableciéndose un gradiente de concentración entre la célula y el líquido luminal, por lo tanto el sodio difunde dentro de las células desde el líquido luminal; al mismo tiempo, hay transporte activo de potasio en dirección opuesta.

Los iones bicarbonatos pueden ser segregados activamente. Dado que se piensa que las células del conducto estriado no absorben agua bajo condiciones normales de flujo, estos cambios iónicos dan por resultado la formación de una solución hipotónica (18).

Después de pasar por los conductos estriados, el líquido salival se segrega en la cavidad bucal, a través de los conductos excretores terminales. Los conductos excretores principales modifican la saliva final alterando la concentración de electrolitos y quizá también mediante la adición de un componente mucoide (18).

Las secreciones de las diferentes glándulas llegan a la boca por diferentes puntos, y su distribución y mezcla son reguladas por parámetros funcionales. En estas condiciones, el flujo de la parótida se encontrará principalmente en las superficies de los molares superiores e inferiores y en los premolares. Las secreciones de las glándulas submaxilar y sublingual, que entran en la boca a través de un conducto común, dominarán la fase del líquido en la parte más baja de la boca y sobre las superficies linguales en la mandíbula. El líquido que recubre la porción dura del paladar y la superficie mucosa de los labios será determinado por la secreción de las glándulas menores. Por el movimiento de la lengua, los labios y los músculos mímicos de la cara, se ejercerá una presión sobre la saliva, y las diferentes secreciones se esparcirán sobre áreas más grandes y se mezclarán (10).

A.3.FUNCIONES DE LA SALIVA

La saliva juega un rol importante en el monitoreo de la salud oral, regulando y manteniendo la integridad de los tejidos duros y blandos en boca (17). Cumple las siguientes funciones:

1) Acción mecánica

El flujo salival continuo realiza una limpieza de las superficies bucales expuestas (11). Su consistencia líquida aporta un lavado de tipo mecánico que arrastra de la boca bacterias no adherentes y residuos acelulares (18).

2) Acción lubricante

El contenido de glucoproteínas de la saliva, que le da su propiedad mucinosa, protege la mucosa del revestimiento formando una barrera contra estímulos nocivos, toxinas microbianas y traumatismos menores(18), como la fricción de la mucosa oral con los dientes y con alimentos duros o ásperos, comportándose como un factor humectante y de mantenimiento de las células que conforman el revestimiento bucal (8).

3) Efecto coagulante

La saliva contiene factores de coagulación que evitan que tras posibles erosiones o heridas, se produzca la penetración microbiana en la submucosa (11).

4) Acción amortiguadora

La saliva desempeña un papel central en el mantenimiento de las condiciones normales de los tejidos orales (10). Para esto, la saliva posee una acción tampón que protege la cavidad bucal de dos formas:

a) Muchas bacterias requieren condiciones específicas de pH para un crecimiento

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

máximo; la acción neutralizante de la saliva evita que las bacterias potencialmente patógenas colonicen la boca, negándoles condiciones ambientales óptimas para ello (18). La saliva contiene importantes sistemas antibacterianos asociados a las proteínas ligadas al calcio y a electrolitos con propiedades tampón (10).

b) Los microorganismos de la placa pueden producir ácido a partir de azúcar, los cuales si no son rápidamente taponados y lavados por la saliva, son capaces de desmineralizar el esmalte. Gran parte de la capacidad tampón de la saliva reside en sus iones fosfato y bicarbonato. La capacidad de la saliva para neutralizar los ácidos es muy importante, dado que la saliva y el pH de la placa son generalmente más bajos en los individuos que tienen caries activas(18).

Contando con una eficiente neutralización de la placa bacteriana (dieta baja en azúcares y buena higiene bucal), el esmalte saldrá beneficiado por la absorción (adhesión) de calcio y fosfato en su superficie (11).

5) Poder remineralizante

La saliva tiene este poder ya que está sobresaturada de calcio y fosfato (11). La alta concentración iónica de la saliva le otorga funciones protectoras, dado que asegura que el intercambio iónico con la superficie dentaria sea dirigido hacia los dientes, lo cual ayuda a la remineralización del esmalte (18).

6) Acción química

La saliva ejerce una influencia ecológica principal sobre los microorganismos que intentan colonizar los tejidos bucales. Además del efecto de barrera de su contenido mucoso, la saliva contiene un espectro de proteínas que tienen propiedades antibacterianas (18).

7) Acción inmunitaria

Los anticuerpos también están presentes en la saliva. La principal inmunoglobulina salival es la IgA, que posee la capacidad de aglutinar microorganismos. Esta capacidad, junto con la acción mecánica de la saliva, sirve para eliminar las agrupaciones de bacterias (18).

8) Acción gustativa

La saliva también juega un papel en el sentido del gusto el cual, aunque es capaz de proveer de muchas experiencias placenteras, tiene el papel principal de protección al permitir el reconocimiento de sustancias nocivas (18).

A.4.MECANISMOS DE SECRECIÓN SALIVAL

La saliva es rutinariamente categorizada como no estimulada y estimulada (17):

a) <u>Secreción no estimulada</u>

También conocida como saliva en reposo. Es la saliva que refleja la cantidad de flujo basal (17), es recogida sin estímulo exógeno aparente (15). El reporte de la FDI sobre saliva en 1992 indicó que la cantidad de flujo normal de saliva en reposo varía de 0,29 ml/min a 0,44 ml/min. El reporte también señala que la cantidad de flujo de descanso

tiende a ser más elevado en el hombre que en la mujer (36).

La tasa de secreción en reposo es a menudo difícil de medir. El grado de relajación no puede estimarse fácilmente, y el reposo es, por tanto, un concepto relativo. Siempre hay alguna estimulación que puede variar de un paciente a otro. Es difícil estandarizar las condiciones que calificarían estrictamente el término "saliva en reposo" (10). Cuando este valor es menor a 0,1 ml/min, se considera que tiene xerostomía (23).

Los receptores que desencadenan la secreción en reposo en los seres humanos se encuentran, al menos en parte, fuera de la cavidad oral. Se ha observado que el flujo de la secreción en reposo, normal y constante, de las glándulas parótidas, que es característico para cada individuo, se reduce, y virtualmente cesa, cuando el sujeto tiene los ojos tapados o se encuentra en una habitación completamente a oscuras. Aparentemente, la estimulación fotónica de los receptores retinianos proporciona, al menos, un estímulo reflejo de fondo a la secreción en reposo de la glándula parótida humana. En consecuencia, mientras nos hallamos despiertos y alertas, nuestras glándulas salivales están secretando a un régimen lento más o menos continuo. Este flujo en reposo ejerce una función principal en el mantenimiento de la salud oral y del epitelio bucofaríngeo, así como en la preservación del ambiente óptimo para el mantenimiento de la dentadura. La energía para la secreción en reposo es de origen endocelular y se deriva de los procesos metabólicos y cinéticos de la célula acinar (15).

b) <u>Secreción estimulada</u>

Los mecanismos de la secreción por acción refleja de la comida en los humanos quedan, por lo común, inicialmente activados cuando el alimento entra en la boca. Los receptores sensoriales que activan este reflejo son los del gusto: en la lengua y el paladar, así como los receptores mecánicos de los dientes y la musculatura mandibular, que son estimulados por la masticación(15). Podemos medir el flujo salival estimulado, que nos sirve para saber si existe respuesta glandular (23).

Existen diversos métodos para obtener saliva total estimulada, de acuerdo al tipo de estímulo: estimulación con cera parafina, con gota de fruta, con oxo, con arena, con bicarbonato de sodio, con ácido cítrico, con ligas de hule, con ácido acético, con pilocarpina (14). Para recolectar saliva estimulada mediante la estimulación con cera parafina, primero se invita al paciente a masticar un pedazo de parafina (0.5 g) durante 2 minutos y luego a escupir toda la saliva. Este procedimiento arrastrará restos de la boca y la secreción residual de la glándula. Cuando se miden las concentraciones de los componentes de la saliva, se requiere la estandarización de volúmenes acumulados. En una secreción estimulada, los primeros volúmenes liberados por las glándulas deben descartarse: la composición de la saliva estimulada debe valorarse en el volumen acumulado después (10). La tasa secretora de la saliva estimulada total está estimada entre 1,6-2,0 ml/min (36). Valores menores de 0,5 ml/min, indican xerostomía (23).

A.5. COMPOSICIÓN DE LA SALIVA

Las secreciones de las glándulas salivales difieren en composición y sus contribuciones en la mezcla de saliva varía según las condiciones (14).La composición salival varía considerablemente entre los individuos, e incluso en un mismo sujeto (11). La

composición de la saliva producida en cualquier glándula varía con el ritmo de flujo, que a su vez cambia según tipo, intensidad y duración del estímulo utilizado para obtener la muestra (14). Así pues la composición de la saliva estará relacionada con el flujo y su carácter glandular o mixto, pero además se verá influenciada por múltiples factores: alimentación, higiene bucal, enfermedades glandulares, deshidratación y otros (11).

COMPONENTES INORGÁNICOS

Los electrolitos primordiales de la saliva son el potasio, sodio, calcio, cloruro, bicarbonato y fosfato. Otros electrolitos presentes en bajas concentraciones, menos de 1 mM, incluyen fluoruro, sulfato, tiocianato, yoduro y magnesio (9). Los electrolitos inorgánicos de la saliva desempeñan un papel capital en un fenómeno biológico oral tan importante como la remineralización (Ca^{2+}, fosfatos, fluoruros), mecanismos de defensa del huésped (yodo, SCN^-, $OSCN^-$, Cl^-), activación enzimática (Cl^- y □-amilasa), mantenimiento de la estabilidad enzimática (Ca^{2+} y □-amilasa), y otras funciones. Las concentraciones de la mayoría de electrolitos en la saliva están sujetas a considerables alteraciones con el tipo de estímulo salival que les afecte (mecánicos, químicos, psicológicos) (10).

a) Calcio y fósforo

En la saliva el calcio y el fósforo están ligados a diferentes tipos de complejos solubles inorgánicos y orgánicos: los componentes inorgánicos son combinaciones de calcio-fosfato-bicarbonato, los complejos orgánicos implican las proteínas, los hidratos de carbono y algunos ácidos orgánicos (21).El calcio, también forma complejos con ácidos alifáticos, ácido cítrico, ácido úrico, etc.

La concentración de calcio en la saliva promueve la absorción de proteína(14). La formación de complejos proteínas-Ca generalmente sobrepasa la formación de otros complejos orgánicos ligados al Ca. Sin embargo, las principales formas de calcio salival se encuentran como iones de calcio, complejos de calcio inorgánicos y complejos de proteínas – calcio (10). El valor del pH salival tiene un efecto limitado sobre la relación de proteínas-Ca/ proteínas totales. Sin embargo, aún en valores bajos de pH de la saliva (p.ej., a pH 5.5), una considerable cantidad de Ca^{2+} está todavía ligada a proteínas o péptidos (9).

El fosfato de la saliva mixta está presente en varias formas que incluyen aproximadamente 10% como compuestos orgánicos (en su mayoría carbohidratos fosfolípidos, nucleótidos, como ATP y nucleoproteína). Se estableció que hasta 10% está presente como pirofosfato que, como inhibidor de la precipitación de fosfato de calcio podría ser un factor que influyera en la producción de sarro (14).

Por estas formas complejas de calcio, y complejos similares que contienen fosfatos, el producto iónico de iones calcio y fosfato normalmente no se rebasa a un pH fisiológico. En otras palabras, hay una aparente sobresaturación de apatita. Si todo el calcio y fosfato fuera calculado como hidroxiapatita, debería aparecer como si representara un estado de sobresaturación. Cuando el pH está más bajo que los niveles fisiológicos, parte del calcio y el fosfato de los complejos es liberada, y añadida a la mezcla iónica de calcio y fosfato. Consecuentemente, la apatita de la superficie del esmalte está protegida de ser disuelto por el aumento de concentraciones de iones de calcio y fosfato en la solución (10). Así el

calcio y el fosfato en la saliva forman un mecanismo defensivo natural importante contra la disolución de dientes (9).

Los experimentos con saliva y soluciones reguladoras saturadas con fosfato de calcio han confirmado que la sustancia de los dientes se disuelve en la saliva cuando el pH disminuye por debajo de cierto valor, que varía de una saliva a otra, pero que generalmente se encuentra entre 5.5 y 6.5.(14)

Algo del calcio también está presente como complejos con dióxido de carbono como puede demostrarse por la observación de que la eliminación de CO_2 de la saliva por burbujeo de aire a través de ella puede causar la precipitación de una tercera parte del calcio originalmente presente. Este es un efecto más marcado que el que podría atribuirse al solo hecho de que la eliminación de CO_2 causa una elevación en el pH y pone de manifiesto que el CO_2 tiene un papel especial en mantener los niveles de calcio en la saliva (14).

b) <u>Otros componentes inorgánicos</u>

La saliva contiene O_2, N_2, y CO_2 en solución. La mayor parte del CO_2 esta en forma de bicarbonato, carbonato y CO_2 disuelto. La rápida pérdida de CO_2 de la saliva recién secretada, y la elevación del pH, puede ser suficiente para hacer que el producto de solubilidad para la hidroxiapatita se exceda llevando a la precipitación de este compuesto, al igual que otras sales de calcio fosfato (fosfato dicálcico). Esto puede ser significativo para explicar por qué la formación de cálculos es mayor en la zona cercana a los orificios de los conductos parotídeos y submaxilares (9). El valor actual dependerá de las reservas de calcio y fosfato presentes como complejos. Cuando el pH sube de nuevo, están presentes concentraciones bastante altas de calcio y fosfato. Tan pronto como el pH aumenta, sin embargo, el calcio y el fosfato precipitarán sobre la superficie del diente. A un pH 5 precipitará principalmente como $Ca(H_2PO_4)$. Cuando el pH continúa subiendo, nuevas formas de fosfato cálcico precipitarán y darán lugar a otras fases sólidas que gradualmente contendrán más y más $CaHPO_4$(10).

El contenido de fluoruro en la saliva es de interés en conexión con el importante efecto que tiene en la reducción de la caries dental (14). El nivel de iones de fluoruro es muy bajo, en el orden de 0.01 – 0.03 ppm, que es ligeramente más bajo que en el plasma. Los niveles de ion fluoruro de la saliva total parecen ser el doble de los de la saliva en los conductos parotídeos y submaxilares, probablemente debido a una concentración aumentada de fluoruro en restos celulares, o por altos niveles de fluoruro en las secreciones de las glándulas menores. Los niveles de fluoruro en saliva dependen mucho de la velocidad del flujo salival y están determinados por la cantidad ingerida. La pequeña concentración de fluoruro en la saliva, promueve la formación de fluorapatita en la superficie del esmalte (9). Para la formación de fluoruro de calcio la fuente de calcio puede ser el esmalte mismo o de la saliva, o del fluido de la placa y el cálculo (21).

El ion fluoruro tiene una fuerte afinidad por Ca^{2+}. Consecuentemente todos los tejidos que contienen calcio (hueso, dentina, pulpa dental, cemento) en grandes cantidades, también contienen altos niveles de flúor (10).

<u>COMPONENTES ORGÁNICOS DE LA SALIVA</u>

Las secreciones de las diferentes glándulas contienen generalmente los mismos componentes orgánicos, aunque en diferentes proporciones. Esto significa que en las diferentes áreas de la boca serán expuestos diferentes ambientes orgánicos a los microorganismos y a la superficie del diente. La secreción glandular contiene gran cantidad de sustancias orgánicas diferentes. Contiene muy pequeñas cantidades de hidratos de carbono libres, concentraciones moderadamente bajas de proteínas y algunos lípidos(10), además del agua (21).

Existe una proteína salival rica en tirosina, llamada estaterina, que inhibe la formación de hidroxiapatita al ligarse con el calcio de la saliva. Impide también la precipitación de sales de fosfato de calcio, las que se encuentran en la saliva. Las ventajas fisiológicas de la presencia de la estaterina salival, son que la saliva puede ser sobresaturada con respecto a la hidroxiapatita, facilitando así la remineralización de las lesiones de caries tempranas. La inhibición es debida a la capacidad de la estaterina de bloquear el crecimiento del cristal de fosfato de calcio (9).

Otros componentes orgánicos que también se encuentran en la saliva son: úrea, creatinina, ácido úrico y amoniaco (14).

A.6.FACTORES QUE CONTROLAN LA COMPOSICION DE LA SALIVA

1) Efecto del ritmo de flujo sobre la composición

El ritmo de flujo y la duración del estímulo son factores importantes que influyen en la composición de la saliva. Las concentraciones de la mayoría de las constituyentes se elevan al aumentar el flujo, el fosfato y el magnesio disminuyen y el potasio es casi independiente de ello. El fosfato, como el magnesio y el potasio, disminuyen rápidamente después de la estimulación y después permanecen más o menos constantes. El calcio disminuye después de la estimulación y después aumenta gradualmente a mayores velocidades de flujo ($1 ml min^{-1}$) pero permanece bajo con velocidades de flujo más bajas (14).

Con la estimulación, el sodio y el bicarbonato aumentan (10), mientras que la concentración del fosfato tiende a caer a medida que aumenta la velocidad de flujo (9), y el potasio y el calcio permanecen virtualmente constantes (10).

El estudio más extenso sobre las concentraciones de calcio y fósforo en la saliva fue realizado por Becks y Wainwright (1934, 1937)[14]. Becks estimó el calcio de la saliva en reposo en más de 600 sujetos y encontró un valor promedio de 5.8 mg 100 ml^{-1}, que variaba de 2.2 a 11.3 mg %; Wainwright analizó la concentración de fosfato en las mismas muestras, resultando un promedio de 16.8 mg 100 ml^{-1} (promedio de 6.1 a 71.0 mg %) pero cifras más recientes, aunque dan valores promedio similares no muestran una variación tan amplia. Mason y Chisholm (1975), presentaron tablas bastante claras de los constituyentes de la saliva, en donde se señala que existen 6mg/100ml de calcio y 12mg/100ml de fosfato en saliva total estimulada (14).

Becks y Wainwright encontraron que el flujo no estimulado de saliva de los secretores lentos (menos de $20 ml hr^{-1}$) contenía concentraciones algo más altas de calcio y concentraciones bastante superiores de fosfato en comparación con los secretores

rápidos. Al calcular las cantidades totales (en oposición a las concentraciones) de calcio y fosfato secretadas por hora (o sea, miligramos por 100ml multiplicados por el número de miligramos secretados por hora) se encontró que los secretores lentos producían mucho menos calcio y fosfato que los miembros del otro grupo (14).

Con la saliva mixta estimulada, las concentraciones de calcio y fosfato en ambos grupos fueron menores que en la saliva no estimulada y las diferencias entre ambos grupos fueron más pequeñas cuando el flujo era estimulado. Naturalmente la cantidad secretada por hora aumentó en ambos grupos ya que el ritmo de flujo se incrementó considerablemente. El efecto de la estimulación sobre la reducción de calcio y fosfato en la saliva mixta es excepcionalmente, pero se ha establecido bien. La disminución en la concentración de calcio se debe a un incremento en la proporción de saliva parotídea, pero el cambio en la concentración de fosfato es una reducción real en la secreción de las glándulas (14).

El pH y las concentraciones de calcio y fosfato son más altas en la saliva submandibular no estimulada que en la saliva parotídea. Cuando hay estimulación, el pH se eleva en forma drástica, las concentraciones de calcio se elevan ligeramente y el nivel de fosfato decae pero la proporción como HPO^{2-}_{4} se incrementa de manera que el nivel de sobresaturación se eleva (15).

El pH de la saliva es extremadamente sensible a la velocidad de flujo, en especial bajo condiciones de reposo. Existe una amplia gama de pH de la saliva parotídea a diferentes ritmos de flujos (14).

También establece que la naturaleza del estímulo no tiene importancia. Si se aplican dos estímulos diferentes, ajustando su intensidad de manera que produzcan el mismo ritmo de flujo, entonces el pH será también el mismo (14).

2) <u>Ritmos circadianos</u>

Los estudios de Dawes (1972); Dawes y Ong (1973) y Ferguson et al. (1973, 1974) se planearon para resolver estos problemas. Para la mayoría de los constituyentes, el ritmo diario mostró una curva sinoidal con máximos y mínimos bien marcados, pero ciertas sustancias en salivas individuales (por ejemplo calcio y fosfato en saliva parotídea estimulada) sólo mostraron una cresta o un valle en una curva bastante constante (14).

Los resultados muestran diferencias en detalle entre la saliva estimulada y la no estimulada, y entre la parotídea y la submandibular. Los puntos principales que se observaron fueron que en la saliva entera no estimulada el ritmo de flujo llegó a un máximo alrededor de las 15:30hr con concentraciones rítmicas de sodio y cloruro, presentándose los máximos a las 05:00 hr, pero los otros constituyentes que se estudiaron (proteína, calcio, potasio, fósforo, úrea) no mostraron un ritmo significativo, mientras que en el único resultado obtenido con saliva estimulada, el ritmo de flujo fue máximo a las 3:00hr. Las salivas parotídeas estimuladas mostraron ritmos significativos en los siguientes constituyentes (con tiempos aproximados de máximos); sodio (05:00hr), cloruro (05:00hr), potasio (17:00hr), proteínas, bastante constantes pero con un mínimo agudo a las 06:00hr y pequeña variación en el calcio (19:30hr), sin ritmo para el fosfato o la úrea (14).

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

3) Contribuciones relativas de las diferentes glándulas

Las mediciones del ritmo de flujo de las diferentes glándulas muestran que la submandibular produce el mayor flujo, especialmente bajo condiciones de reposo. Cuando se estimula con ácido acético colocado sobre la lengua, la parótida dio una respuesta proporcionalmente más alta que la submandibular.

Gore (1938) quien trabajó sólo con un sujeto, él mismo, estableció, utilizando un segregador, que la saliva estimulada por cera provenía principalmente de la glándula parótida y causaba sólo un pequeño incremento en el flujo de las glándulas mixtas. El estímulo del alimento, por otra parte, causaba aproximadamente las mismas respuestas en ambos conjuntos de glándulas (14).

No parece haber otros datos sobre la influencia relativa del alimento, pero Shannon (1962) demostró que cuando se utilizan ligas de hule como estimulante experimental, la proporción de saliva parotídea (medida con una cánula) aumenta a medida que el número de bandas se incrementa (en forma comparable al aumento en el tamaño del bolo). Esto ocurrió porque la velocidad del flujo parotídeo aumentó en 46% a medida que el bolo aumentaba de tamaño (esto también se ha encontrado con trozos de cera de diferentes tamaños) pero la velocidad de secreción de las otras glándulas sólo aumentó en un promedio de aproximadamente 4%. Cuando se utilizó pilocarpina como estímulo, el ritmo de flujo de todas las glándulas aumentó, pero el ritmo de flujo de la parotídea se incrementó más que el de las otras glándulas de manera que otra vez se elevó el porcentaje de contribución de la parótida (14).

4) Efectos de la dieta en la composición de la saliva

También hay evidencia de que la dieta puede alterar el poder regulador de la saliva. Se encontró que la ingestión, durante 3 ó 4 semanas de dietas especialmente elevadas en proteínas o carbohidrato elevaba y disminuía, respectivamente, el efecto amortiguador de la saliva y se indicó que un consumo elevado de verduras (en especial espinaca) lo elevaba.

El problema de si un constituyente salival puede incrementarse aumentando el consumo dietético de dicho constituyente sólo se ha investigado en unas cuantas sustancias (14).

Los experimentos con animales han sugerido que los aumentos en el fosfato del plasma pueden estar seguidos por un incremento en el fosfato de la saliva pero que los cambios en el calcio del plasma, a menos que sean muy grandes, no modifican el nivel en la saliva (23). Algunos experimentos en el hombre también han sugerido que los aumentos en el fosfato dietético pueden elevar los niveles salivales y también de que, después del consumo de carbohidratos (que disminuye el fosfato en el plasma) la concentración de fosfato en la saliva disminuye. Estos puntos son importantes ya que el fosfato en la saliva puede afectar las concentraciones en la placa y así influir en el pH crítico al cual el diente se disuelve.

Este resultado difiere del de la mayoría de los investigadores quienes encontraron que la dieta no modifica la concentración de calcio salival. Se ha encontrado que la ingestión de carbohidratos disminuye temporalmente el fosfato salival, quizá porque,

durante el metabolismo de los carbohidratos la necesidad de fosfato de los tejidos provoca una disminución en el fosfato sanguíneo. La relativa independencia de la proporción de calcio en la saliva y en la dieta se explica probablemente por el nivel constante en que se mantiene el calcio sanguíneo (14).

5) Efecto de las hormonas

En el hombre la inyección de hormona adrenocorticotrófica y cortisona causa una disminución en el sodio salival, pero poco cambia en el potasio salival. No parecen haberse establecido ningunos otros efectos hormonales sobre la saliva en el hombre (14).

6) Factores que controlan el ritmo de flujo

Schneyer afirma que probablemente en reposo no hay verdadera secreción y Kerr (1960) encontró que la secreción en reposo cesaba después de una inyección de atropina, lo que sugiere fuertemente que para ello son esenciales los impulsos de los nervios parasimpáticos. La deshidratación reduce el ritmo de flujo en reposo. Los sujetos sin práctica con frecuencia experimentan dificultad en recolectar saliva en reposo porque el flujo es tan lento que más o menos inconscientemente aplican estímulo para aumentar la secreción. Por esta razón y porque el volumen que puede recolectarse con rapidez es muy pequeño, la mayor parte del trabajo sobre saliva humana en relación con las condiciones dentales se ha llevado a cabo en saliva secretada en respuesta a la masticación de cera parafina o ligas de hule. Se sabe que la cera absorbe algunos constituyentes orgánicos de la saliva, un punto que no parece haber sido probado con ligas de hule, pero este producto con frecuencia contiene más espuma que el que se obtiene con cera. Las ligas de hule son más fáciles de usar porque usando una, dos o más ligas puede alterarse fácilmente la intensidad de la estimulación. Becks (1939) y Wainwright (1939) estudiaron el ritmo de flujo de la saliva estimulada con cera y encontraron que el intervalo de variación era más pequeño en las muestras estimuladas (46-249 ml hr^{-1}), lo que significa que la estimulación tiende a disminuir al mínimo las diferencias en las velocidades de flujo entre distintas personas, lo mismo que el contenido de calcio. Aunque la mayoría de los sujetos que eran productores lentos de saliva también tenían un flujo promedio menor de saliva estimulada(14).

7) Reflejos no condicionados

La presencia de alimento en la boca es un poderoso estímulo para la salivación y los experimentos muestran que este efecto está formado por tres componentes. El gusto forma un grupo de estímulos y los diferentes gustos varían en su efectividad como estímulos. La estimulación mecánica de la mucosa oral tiene alguna función, pero a menos que el alimento sea muy grueso, su acción es pequeña. Los movimientos de masticación que normalmente sigue a la ingestión de alimentos también proporcionan un estímulo a la glándula parótida.

La salivación se inhibe durante el ejercicio muscular y durante la aplicación de estímulos sensoriales a la piel. El trabajo mental y la emoción influyen en el ritmo de secreción, pero en algunos sujetos aumenta, mientras que en otros disminuye. Los actos de deglutir y bostezar van seguidas por un incremento transitorio en los ritmos de flujo de la parótida y después casi siempre por una pausa compensatoria. Probablemente estos cambios se producen como resultado de la presión mecánica que altera el espacio

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

muerto de la glándula, más que el verdadero ritmo de secreción.

Con frecuencia, en el embarazo se presenta salivación excesiva (ptialismo o “hipersalivación del embarazo”) (14).

La producción salival disminuye durante el sueño, también como resultado de enfermedades que afectan la función de las glándulas salivales (p.e. síndrome de Sjögren), como efecto secundario al ayuno, como un resultado de la radioterapia en la cabeza y el cuello o con el empleo de determinados medicamentos (25).

Los siguientes medicamentos producen hiposalivación:

- Analgésicos
- Antiarrítmicos
- Relajantes musculares
- Anticonvulsivos
- Antidepresivos
- Antihistamínicos
- Antihipertensivos
- Diuréticos
- Narcóticos
- Sedantes
- Tranquilizantes
- Inhibidores de la captación de serotonina (25), (26)

Las enfermedades de las glándulas salivales usualmente traen apareados cambios en la velocidad de secreción salival y en su composición. Estos cambios tienen un efecto secundario, dado que afectan la formación de placas y cálculos, que a su vez tienen una implicancia directa en la iniciación de la caries y de la enfermedad periodontal (18).

8) <u>Cambios que ocurren durante la incubación de la saliva</u>

Si la saliva se incuba durante 24 horas, su pH aumenta a más de 8.0 debido a la producción de amoníaco. Se desarrolla un fuerte olor putrefacto. Estos cambios son supuestamente similares a los que ocurren pocas horas después de un alimento, o durante el sueño, que produce halitosis.

El pH empieza a disminuir aproximadamente en una hora y llega a 5.0 en tres horas en la mayoría de las salivas, pero generalmente estos cambios son mucho más lentos en saliva de sujetos exentos de caries.

El ácido se produce por descomposición bacteriana del carbohidrato en ácido láctico o en otros ácidos. La producción de amoníaco y los cambios de putrefacción se suprimen. Estos cambios se asemejan a los que se producen en la placa después de una comida con carbohidratos, excepto que en la saliva son mucho más lentos porque las bacterias están mucho menos concentradas. En 6 a 8 horas de incubación el pH llega a 4.0 aproximadamente, después de lo cual la producción de ácido se detiene; a diferencia

de la placa, la saliva incubada con carbohidratos no muestra tendencia a una elevación final en pH a menos que la concentración de carbohidratos sea muy baja (menos de 0.5%)(14).

B.CÁLCULO DENTAL

El cálculo es en esencia la placa mineralizada cubierta en su superficie externa por placa vital, fuertemente y no mineralizada. Puede también presentar una cubierta de materia alba poco fija, bacterias sueltas y células epiteliales descamadas (30).

El período requerido para la formación de cálculo es muy variable, desde días a varias semanas (11). El locus de calcificación es la placa bacteriana. La Academia Americana de Periodoncia lo define: “Cálculos (C. Subgingival, C. Supragingival, depósito calcáreo, C. Serumal, C. Salivar, tártaro): un depósito duro mineralizado adherido a los dientes” (12).

Estos depósitos calcificados desempeñan un papel fundamental en el mantenimiento y la acentuación de la enfermedad periodontal, manteniendo la placa en íntimo contacto con el tejido gingival y creando áreas donde la remoción de la placa es imposible. Cuando existe cálculo, los tejidos gingivales están inflamados; cuando está presente en lesiones subgingivales profundas, la capacidad de reparación y de readherencia es virtualmente imposible. Por lo tanto el clínico debe ser extremadamente competente en su capacidad para eliminar el cálculo y el cemento necrótico al cual se adhiere (13).

B.1. TIPOS DE CÁLCULOS

Según la localización los cálculos pueden ser supra o subgingival.

a) <u>Cálculo supragingival</u>

Se refiere al cálculo coronal (13), en relación con el margen gingival libre de la encía (12). Es normalmente de color blanco o blanco amarillento, de consistencia dura arcillosa y fácilmente separable de la superficie dentaria (13). Con frecuencia se presenta recurrencia en su formación, especialmente en el área lingual. La coloración se modifica por el tabaco y la ingestión de bebidas y alimentos (café, té, vino); en efecto, los cálculos se observan de coloración carmelitosa, negra o verdosa en algunas ocasiones. Los cálculos supragingivales pueden estar localizados en un solo diente, en un grupo de dientes o en todos los dientes presentes en la boca (12).

Los puntos en los que la formación de cálculos se produce con mayor frecuencia son los que se enfrentan a las salidas de las glándulas salivales submandibulares y parótidas en la cavidad oral. Por lo tanto, los cálculos se localizan con mayor frecuencia sobre las superficies linguales de los incisivos inferiores y caninos y en las superficies vestibulares de los molares superiores(11).

b) <u>Cálculo subgingival</u>

Son depósitos calcificados que se forman en las superficies radiculares por debajo del margen gingival y que se extienden hasta el interior de la bolsa periodontal (30).

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

Clínicamente su detección se logra al observar por transparencia una coloración negruzca en la pared gingival, por la introducción de un elemento romo como la sonda o de un elemento agudo como el explorador o una cureta. El sentido del tacto orienta al clínico en la presencia de los cálculos subgingivales. También es posible evidenciarlos en algunas ocasiones al separar la pared blanda del surco o del saco periodontal con aire (12).

Normalmente es denso y duro, de color marrón oscuro o negro verdoso, de consistencia pizarrosa y firmemente adherido a la superficie dentaria (13).

Como en el caso del cálculo supragingival, el subgingival se compone esencialmente de placa mineralizada cubierta en su superficie externa por placa no mineralizada, bacterias con adhesión laxa, células huésped derivadas del recubrimiento surcal y exudado inflamatorio (30).

El cálculo supragingival y subgingival aparecen habitualmente juntos pero uno puede estar presente sin el otro (13).

La saliva es la única fuente de formación de cálculo supragingival, el medio ambiente en que se desarrolla el cálculo subgingival es diferente. Anteriormente se llamaba “serumales” a los cálculos subgingivales, pues se pensaba que tenían origen en el suero sanguíneo. Actualmente se acepta que los supragingivales tienen su fuente en las sales minerales de la saliva y que el fluido gingival suministra el contenido mineral del cálculo subgingival (12).

Cuando los tejidos gingivales retroceden, el cálculo subgingival se hace expuesto y se clasifica como supragingival. Por tanto, el cálculo supragingival puede componerse tanto de los tipos supragingival como subgingival (13).

Los cálculos supra y subgingivales se presentan en la juventud temprana y van aumentando con la edad. Los subgingivales no son comunes en niños. Los supragingivales son más frecuentes y es posible encontrarlos a edades tempranas (9-15 años) en una proporción de 37-70%. En grupos poblacionales entre 16-21 años, la cifra se eleva a 44-88% y en individuos que pasan de los 40 años, el porcentaje de cálculos varía entre 86-100%. El de los subgingivales es ligeramente inferior al de los supragingivales, pero parece estar entre 47-100% después de los 40 años de edad (12).

B.2. COMPOSICIÓN DE LOS CÁLCULOS

a) <u>Componentes inorgánicos</u>

Los cálculos supragingivales contienen 70-90% de componente inorgánico. El componente inorgánico está representado por 75.9% de fosfato de calcio $Ca_3(PO_4)_2$; 3.1% de carbonato de calcio ($CaCO_3$); y rastros de fosfato de magnesio $Mg_3(PO_4)_2$ y otros metales. En general, se ha encontrado que los componentes inorgánicos mencionados anteriormente se encuentran en las siguientes proporciones: calcio 39%, fósforo 19%, dióxido de carbono 1.9% y magnesio 0.8%. Además, se encuentran trazas de sodio, zinc, estroncio, bromo, hierro, manganeso, tungsteno, oro, aluminio, silicona y fluoruro. Las dos terceras partes del componente inorgánico están representadas por cristales de hidroxiapatita (12).

Al menos dos tercios del componente inorgánico es de estructura cristalina. Las cuatro formas cristalinas principales y sus porcentajes son: hidroxiapatita, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, aproximadamente 58%; whitloquita de magnesio, $Ca_9(PO_4)_6XPO_7(x=Mg_{11}F_{11})$ y fosfato octacálcico, $Ca_4H(PO_4)_3.2H_2O$, aproximadamente 21%; y brushita, aproximadamente 9%. Por lo general aparecen dos formas cristalinas o más en una misma muestra de cálculo; las más comunes son la hidroxiapatita y el fosfato octacálcico (97% de todos los cálculos supragingivales) y su cantidad es mayor. La brushita es más común en la región anteroinferior y la whitlockita magnésica en áreas posteriores. La incidencia de las cuatro formas cristalinas varía con la edad del depósito (13).

La hidroxiapatita se encuentra en depósitos de calcio de 6 meses de maduración a más. Por otro lado, en depósitos inmaduros de más de 3 meses, los cristales de brushita tienden a ser los más abundantes (31).

Whitlockita: Es una forma cristalina rara, pero es un constituyente frecuente de los cálculos dentales y se encuentra en las lesiones de caries. Se forma en sistemas acuosos y mantiene estrecha relación con una de las formas que adquiere a altas temperaturas el fosfato tricálcico anhidro, pero difiere en que contiene pequeñas cantidades de Mg^{2+} (y algunas veces Mn^{2+} o Fe^{2+}) como parte de la red cristalina (21).

Brushita: Se presenta como constituyente de los cálculos dentales, se forma si la temperatura se mantiene por debajo de los 30ºC. Es inestable en contacto con el agua, dando una solución acídica. Siempre que halle algún medio para eliminar los iones hidrógeno (por ejemplo, por reemplazamiento continuo del agua), al final esta sal se hidroliza a hidroxiapatita, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. Esta reacción se acelera si se utiliza agua hirviendo (21).

Fosfato Octacálcico: Es, en varios sentidos, una unión entre los fosfatos ácidos monetita, brushita, la sal básica y la hidroxiapatita; al igual que la brushita y la hidroxiapatita, éste se presenta como uno de los constituyentes de los cálculos dentales. La estructura del fosfato octacálcico se relaciona con la de la hidroxiapatita (21). La gran cantidad de fosfatos cálcicos encontrados en los cálculos refleja las condiciones químicas altamente variables en la mineralización de la placa, comparada con las condiciones en la formación de las bien reguladas celdillas del tejido duro que tiene lugar en el hueso, dentina y esmalte (10).

b) <u>Componentes orgánicos</u>

Están constituidos por una mezcla de proteínas – polisacáridos, células epiteliales de descamación, leucocitos y varios tipos de microorganismos(12), del 1.9 al 9.1% del contenido orgánico son carbohidratos, siendo galactosa, glucosa, ramnosa, manosa, ácido glucorónido, galactosamina y, a veces, arabinosa, ácido galactourónico y glucosamina, todos los cuales están en las glucoproteínas salivales, excepto la arabinosa y la ramnosa. Las proteínas derivadas de la saliva constituyen el 5.9 al 8.2% e incluyen la mayoría de los aminoácidos. Los lípidos representan un 0.2% del contenido orgánico, en forma de grasas neutras, ácidos grasos libres, colesterol, ésteres de colesterol y fosfolípidos.

En el caso del cálculo subgingival la composición es similar a la del supragingival,

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

con algunas diferencias. Tiene el mismo contenido en hidroxiapatita, más whitlockita y magnesio, y menos brushita y fosfato octacálcico. La relación de calcio y fosfato es más alta en el subgingival y el contenido de sodio aumenta en la profundidad de las bolsas periodontales. Las proteínas salivales que hay en el cálculo supragingival no se encuentran en el subgingival. El cálculo dental, el cálculo de conductos salivales y los tejidos dentales calcificados, tienen una composición inorgánica similar (9).

B.3. MECANISMOS DE FORMACIÓN DE LOS CÁLCULOS

El cálculo es la placa dental adherida mineralizada. La placa blanda se endurece por la precipitación de sales minerales, lo cual comienza generalmente entre el primero y el decimocuarto días de formación de la placa(13); pero se han registrado informes de calcificación en tan sólo 4 a 8 horas. Las placas en proceso de calcificación pueden mineralizarse 50% en 2 días y 60 a 90% en 12 días. No todas las placas se calcifican necesariamente (37).

Los mecanismos de mineralización parecen ser similares para el cálculo supragingival y el subgingival, aunque los dos dependen de sus respectivos fluidos orales como de su origen de sales minerales (31).

Los formadores rápidos de cálculos, tienen mayor cantidad de calcio, 3 veces más fósforo y menos potasio que los no formadores, sugiriendo que la presencia de fósforo es más crítica que la de calcio en la mineralización de la placa bacteriana (12).

La calcificación comprende la unión de los iones calcio al complejo carbohidrato-proteína de la matriz orgánica y la precipitación en forma de sales cristalinas de fosfato de calcio. Los cristales se forman inicialmente en la matriz intercelular y específicamente sobre las superficies bacterianas, posteriormente los cristales inorgánicos se precipitan en el interior mismo de la bacteria. El proceso de calcificación de los cálculos se inicia en la superficie interna de la placa bacteriana supragingival y en la zona de adherencia de la placa bacteriana subgingival en la interfase inmediatamente adyacente al diente, en locus separados de calcificación que van creciendo y confluyendo entre sí para formar masas de cálculos. La formación de los cálculos se efectúa en capas, algunas veces separadas por la presencia de una cutícula que queda incorporada en el interior del cálculo a medida que éste progresa en su formación.

La velocidad de formación de los cálculos varía de persona a persona, en dientes diferentes y en períodos diferentes en el mismo individuo. Con base en estas observaciones, los pacientes se han clasificado como fuertes formadores de cálculos, moderados, ligeros y no formadores. La formación de cálculos se hace en forma progresiva y se alcanza un máximo a los 2-6 meses(12).

B.4. TEORÍAS EN RELACIÓN CON LA MINERALIZACION DE LOS CÁLCULOS

Se han postulado diversas teorías para explicar la mineralización, las cuales se fundan en dos conceptos principales. De acuerdo con el primer criterio, la precipitación de sales minerales se debe a un aumento en el grado de saturación de los iones calcio y fósforo in situ (12):

1) El aumento en el pH de la saliva ocasiona la precipitación de sales de fosfato cálcico al descender el gradiente de precipitación. El pH puede elevarse por pérdida del dióxido de carbono y por formación de amoniaco por la placa bacteriana, o por degradación proteica durante el tiempo de estancamiento (12).

El hecho de que la saturación de la saliva pueda depender de la formación de complejos con otros constituyentes tales como el CO_2 sugiere que los cambios en la concentración de estas sustancias pueden llevar a la precipitación de fosfato de calcio.

2) Las proteínas coloidales en la saliva se unen a los iones calcio y fosfato y mantienen una solución supersaturada con respecto a las sales de fosfato cálcico. Con el estancamiento de la saliva los coloides se sedimentan; el estado de supersaturación no se mantiene por más tiempo, lo cual conduce a la precipitación de sales de fosfato cálcico.

3) La fosfatasa liberada de la placa dental, de las células epiteliales descamadas o de las bacterias se cree que juega un papel importante en la precipitación del fosfato cálcico al hidrolizar los fosfatos orgánicos en la saliva, aumentando por tanto la concentración de los iones fosfatos libres. Otra enzima una esterasa presente en cocos, organismos filamentosos, leucocitos, macrófagos y células epiteliales de descamación de la placa bacteriana puede iniciar la calcificación al hidrolizar los ésteres grasos en ácidos grasos libres. Los ácidos grasos forman jabones con el calcio y el magnesio que más tarde son convertidos en sales de fosfato cálcico menos solubles (13).

Concepto epitáctico

El otro concepto habla de la presencia de semillas que inducen focos de calcificación. Este concepto se ha denominado epitáctico; se piensa que aún cuando los agentes que formarían o constituirían la semilla para la formación de la placa bacteriana no se conocen exactamente, podrían estar contenidos en los elementos orgánicos de la matriz intercelular, especialmente los complejos carbohidratos-proteínas, los cuales tendrían efecto quelante sobre los iones calcio de la saliva y constituirían los núcleos de precipitación de las sales minerales. También se ha propuesto la teoría de que los microorganismos tendrían la misma acción de semilla para iniciar alrededor de las bacterias, tanto Gram-positivas como Gram-negativas, la calcificación de la placa.

La mineralización de la placa bacteriana también puede iniciarse intercelularmente. La formación de cálculo continúa hasta que se calcifican las bacterias y la matriz orgánica. Algunos piensan que la bacteria de la placa bacteriana puede participar en la mineralización de los cálculos al formar fosfatasas, al cambiar el pH de la placa bacteriana o al inducir la mineralización; pero, en general, el concepto que prima es que la bacteria tiene un papel pasivo en la formación del cálculo y que simplemente se mineraliza durante el proceso de calcificación de los demás componentes de la placa bacteriana. Un hallazgo en el que se encontró formación de cálculos en animales libres de gérmenes sustenta este concepto (13).

Variación Individual

Es posible diferenciar de manera clínica, durante varios meses, a los individuos que son propensos a la formación de cálculo supragingival de los que forman poco o no lo

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

forman. La placa de las personas propensas a formar cálculos presentan concentraciones considerablemente más elevadas de calcio y fósforo después de varios días de efectuada la profilaxis, comparadas con las de las personas que casi no lo presentan (30), (32).

Estudios indican que la saliva de individuos formadores de cálculos duros contiene significativamente altas concentraciones de úrea, proteínas totales, calcio y fosfato que la saliva de individuos que forman cálculos ligeros (31), (32).

El medio salival es el fundamento más probable para las marcadas diferencias en la propensión a formar cálculos, aunque también pueden contribuir las diferencias en la flora bacteriana, así como los factores dietéticos(30).

Se observó que la dieta con alto contenido de calcio y fosfato parece no afectar los depósitos de cálculos en ratas. La dieta con alto contenido de grasas y la dieta con alto contenido de carbohidratos tienen similar efecto en la formación de cálculos en ratas. También se encontró que el consumo de grandes cantidades de agua resulta en una disminución de la formación de cálculo. Esto se explica ya que el producto altamente fluido por el incremento de volumen de la solución tiene sales minerales más diluidas, lo que probablemente disminuye la precipitación (31).

Es también aceptado que una dieta alta en proteínas resulta en un incremento de la producción de cálculo. Al consumir proteínas se eleva los niveles de úrea en la saliva y como los niveles de úrea de la sangre están asociados directamente con otros fluidos corporales, resulta, entonces, un incremento de los niveles de úrea en la saliva (31).

Los individuos que forman pocos cálculos presentan cifras más altas de pirofosfato parotídeo (inhibidor de la calcificación) que los que forman mucho(30).

Ciertos microorganismos orales juegan un rol importante en la destrucción de inhibidores de la mineralización. El pirofosfato puede ser hidrolizado por la enzima pirofosfatasa, el cual es producido por el Estreptococos mutans. Otros inhibidores de la precipitación mineral son las proteínas ricas en prolina, constituyentes de la saliva (31).

Puede disponerse en el mercado de enjuagues bucales con supuestas propiedades anticálculo. Debe tomarse en cuenta que los enjuagues que contienen clorhexidina, aunque son agentes antiplaca efectivos, pueden causar un incremento en los depósitos de cálculo supragingival. A menudo se ha dicho que un buen cepillado puede reducir el ritmo de depósito de cálculo. Mediante un procedimiento cuantitativo de medición se demostró que el cepillado dental habitual puede reducir la formación de cálculo en 50% en las superficies linguales de los dientes anteroinferiores (30).

Mediciones Clínicas

En las investigaciones epidemiológicas se han empleado dos índices para cuantificar los depósitos de tártaro: el componente de cálculo del Índice de Higiene Bucal de Greene y Vermillión y el componente de cálculo del Índice de Enfermedad Periodontal de Ramfjord. Los dos índices se aplican a dientes seleccionados y gradúan la cantidad de depósito de cero a tres. Se han desarrollado diferentes índices para medir los efectos de los productos anticálculo. Entre éstos se encuentra el Índice de Superficie de Cálculo (CSI) de Ennever y col, y el Índice de Cálculo Lineal Marginal de Muhlemann y Villa, los cuales se aplican más en estudios a corto plazo con menos de ocho semanas de

duración; y el Índice Volpe-Manhold de Volpe y col, el cual se utiliza ampliamente en estudios de tres a seis meses, pero que también puede emplearse para pruebas más prolongadas (30).

ÍNDICE DE SUPERFICIE DE CÁLCULO (CSI)

El Índice de Superficie de Cálculo ha sido diseñado para hacer estudios a corto plazo (menos de seis semanas) con el propósito de experimentar agentes inhibitorios de la formación de cálculos (12). Se analizan los 4 incisivos del maxilar inferior buscando presencia o ausencia de cálculos supragingivales. La existencia de los cálculos se determina por medio del examen visual o el examen táctil, utilizando espejo bucal y explorador. Cada incisivo se subdivide en cuatro unidades de medición, así: labial, que se considera como una sola unidad y lingual, que se divide longitudinalmente en tres subsecciones, tercio disto-lingual, tercio lingual y tercio meso-lingual. Se da un valor de 1 a la presencia de cálculos y 0 a la ausencia. El número total de superficies en donde se haya encontrado el cálculo, se considera la medida del paciente; la máxima medición posible es 4x4=16. De hecho, se trata de una medida de prevalencia más que de intensidad (30).

2.3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existen teorías acerca de los mecanismos mediante los cuales la placa se mineraliza para formar cálculo, una de ellas se refiere a la precipitación de los minerales que surge de una elevación local en el grado de saturación de los iones calcio y fósforo. Por tal motivo, es necesario analizar dos de los más abundantes constituyentes del cálculo dental: calcio y fósforo, que pueden ser precipitados por la saliva estimulada durante el proceso normal de maduración de la placa dental supragingival, constituyéndose así en un parámetro para reconocer a una persona como formadora o no formadora de cálculo dental supragingival.

Ciertos factores como la frecuencia de cepillado y el uso de enjuagatorios podrían impedir el depósito de cálculo dental en la superficie de los dientes. La dieta proteica podría intervenir en una mayor o menor concentración de calcio y fósforo en el fluido salival. Así mismo, algunas enfermedades y ciertos medicamentos producen hiposalivación lo que podría alterar las concentraciones de calcio y fósforo.

El presente trabajo de investigación trató de determinar si existen variaciones de las concentraciones de calcio y fósforo entre las personas que presentan cálculo supragingival y las que no lo presentan.

2.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuál es la relación entre la concentración de calcio y fósforo en saliva estimulada, y la

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

presencia o ausencia de cálculo supragingival, en personas sanas?

2.5 JUSTIFICACIÓN

El odontólogo observa con mucha frecuencia depósitos de cálculo en la superficie de los dientes, los cuales dificultan la remoción de la placa y producen irritación de los tejidos gingivales, siendo común encontrarlos desde pacientes jóvenes hasta los de avanzada edad.

Por lo tanto, se hace necesario establecer la intervención de factores que participen en la formación de cálculo supragingival, como la precipitación de calcio y fósforo de la saliva en la superficie de los dientes.

2.6. LIMITACIONES

El presente trabajo de investigación requiere de pruebas de laboratorio, específicamente el análisis de calcio, el cual tiene un costo elevado, limitando de esta manera el tamaño de la muestra.

2.7. OBJETIVOS

2.7.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la relación entre la concentración de calcio y fósforo en saliva estimulada, y la presencia o ausencia de cálculo supragingival, en personas sanas.

2.7.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la concentración de calcio en saliva estimulada en personas sanas con cálculo supragingival.

2. Determinar la concentración de calcio en saliva estimulada en personas sanas sin cálculo supragingival.

3. Determinar la concentración de fósforo en saliva estimulada en personas sanas con cálculo supragingival.

4. Determinar la concentración de fósforo en saliva estimulada en personas sanas sin cálculo supragingival.

5. Comparar las concentraciones de calcio y fósforo en saliva estimulada en personas sanas con cálculo supragingival con las concentraciones de calcio y fósforo en saliva estimulada de personas sanas sin cálculo supragingival.

2.8. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

HIPÓTESIS NULA

Ho: No existen variaciones de las concentraciones de calcio y fósforo en saliva estimulada entre personas sanas que presentan cálculo supragingival y las que no lo presentan.

HIPÓTESIS ALTERNA

H1: Existen variaciones de las concentraciones de calcio y fósforo en saliva estimulada entre personas sanas que presentan cálculo supragingival y las que no lo presentan.

2.9 CLASIFICACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE INDEPENDIENTE:

- Concentración de calcio y fósforo en saliva total estimulada

VARIABLE DEPENDIENTE:

- Presencia de cálculo supragingival

VARIABLES DE CONTROL:

- Higiene oral, dieta proteica, edad: se tuvo un control de estas variables debido a que las personas del estudio cepillaban sus dientes entre 2 ó 3 veces al día, sus dietas proteicas eran similares y la edad se encontró en un corto rango (17-21 años).

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

Variables	Naturaleza	Clasificación	
		Indicador	Escala
V. Independiente Concentración de calcio y fósforo en saliva total estimulada	cuantitativa	Medida en mg/100 ml	proporción
V. Dependiente Presencia de cálculo supragingival	cuantitativa	Índice de Cálculo de Superficie de Ennever y col (0-16)	intervalo
	cualitativa	0 sin cálculo	ordinal
		1-4 bajo	
		5-10 moderado	
		11-16 alto	

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDIO

El presente estudio fue de tipo observacional analítico de tipo casos y controles, y transversal, ya que relacionó en un momento dado las concentraciones de calcio y fósforo en saliva estimulada de dos grupos de estudio: personas sanas que presentaron cálculo supragingival (casos), con las concentraciones de calcio y fósforo en saliva estimulada de personas sanas que no presentaron cálculo supragingival (controles).

3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

3.2.1 Población:

La población lo constituyeron las personas de 17-21 años, que acudieron al Consultorio Dental de Tropa de la División de Estomatología del Hospital Militar Central, provenientes de los cuarteles de Lima, durante los meses Junio y Julio en el año 2004. A esta clínica

acude un aproximado de 100 personas de estas edades en 2 meses.

3.2.2 Muestra:

El tipo de muestreo fue aleatorio simple. Al aplicar la fórmula para una población finita con variables cuantitativas se obtuvo:

$$n = \frac{N z^2 s^2}{(N-1)e^2 + z^2 s^2}$$

N (número total de la población) = 100

z (nivel de confianza) = 1.96

e (riesgo aceptado) = 0.05

s (desviación estándar según investigaciones previas) = 0.24

La estimación del número de individuos utilizando la fórmula anterior fue la siguiente:

$$n = \frac{100(1.96)^2(0.24)^2}{(99)(0.05)^2 + (1.96)^2(0.24)^2}$$

$$n = 47.20$$

Por lo tanto el número de personas que se necesitaron fue de 50. Esta muestra se subdividió en 25 personas para el grupo de casos que presentaron cálculo supragingival y 25 personas para el grupo control que no presentaron cálculo supragingival.

Las personas tuvieron conocimiento de la realización del presente trabajo de investigación y dieron su consentimiento verbal para la toma de las muestras.

3.2.3 Criterios para la selección de la muestra:

Se seleccionaron a los pacientes de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión.

Criterios de inclusión:

- Personas hombres y mujeres de 17-21 años de edad.
- Personas con piezas dentales anteroinferiores completas.
- Personas que cepillan sus dientes 2 ó 3 veces al día.

Criterios de exclusión:

- Personas menores de 17 años y mayores de 21 años.
- Personas que consumen medicamentos.
- Personas que padezcan de alguna enfermedad sistémica.
- Personas que padezcan alguna enfermedad en las glándulas salivales o en los

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

tejidos blandos de la cavidad oral.

- Personas que usan enjuagatorios bucales.

3.2.4 Unidad de muestreo

Se tomó como unidad muestral a la persona sana de entre 17-21 años de edad con cálculo supragingival y a la persona sana de entre 17-21 años de edad sin cálculo supragingival.

3.2.5. Unidad de análisis

Estuvo constituida por la muestra de saliva total estimulada recolectada de personas sanas de entre 17-21 años de edad que presentaban cálculo supragingival y de personas sanas de entre 17-21 años de edad que no presentaban cálculo supragingival.

3.3 MATERIALES

3.3.1 Instrumental para el examen clínico (Fig. 1)

- guantes de examen descartables.
- mascarillas descartables.
- campos operatorios descartables.
- espejos bucales planos
- exploradores biactivos
- algodón
- recipiente portadesechos

3.3.2 Material para la recolección de la muestra salival (Fig.1)

- 50 recipientes estériles de 100 ml marca Samplix.
- 20 láminas de cera parafina rosada “nacional”.
- gasa estéril.
- cámara refrigerante.

Figura 1: Instrumental para el examen clínico: Guantes de examen descartable, mascarilla descartable, campo operatorio descartable, espejo bucal, explorador, pinza, cera parafina rosada, recipiente estéril para la muestra salival

3.3.3 Equipos de laboratorio para el análisis químico (Figs. 2 y 3)

- Espectrofotómetro de Absorción Atómica Shimadzu para la determinación de calcio.
- Espectrofotómetro digital Spectronic 21 para la determinación de fósforo.
- Baño de agua a 37ºC.

3.3.4 Materiales de laboratorio para análisis de fósforo

- 20 tubos de ensayo Pirex de 8 ml con tapa rosca.
- 30 tubos de ensayo de 8 ml
- solución de molibdato de sodio 230 mmol/l en ácido clorhídrico 1 mol/l.
- ácido ascórbico desecado
- solución de arsenito de sodio 120 mmol/l en citrato de sodio 50 mmol/l con agentes tensioactivos.
- solución Standard (solución estabilizada de fosfatos que equivale a 4 mg/dl de fósforo inorgánico).
- agua destilada
- frasco lavador
- papel Parafilm
- rejillas para tubos de ensayo

- 3 pipetas volumétricas
- 1 micropipeta
- calculadora
- reloj

Figura 2: Espectrofotómetro de absorción atómica Shimadzu para la determinación de calcio

Figura 3: Espectrofotómetro UV digital Spectronic 21 con las muestras de saliva para la determinación de fósforo

3.3.5 Materiales de laboratorio para análisis de calcio

- ácido nítrico concentrado
- ácido nítrico 2%
- cloruro de lantano (agente acomplejante)
- soluciones estándares de calcio de 1000, 50, 4,2 mg/l
- agua desionizada
- acetileno
- agua destilada
- pipetas volumétricas de 10, 5, 3, 2, 1 ml
- fiolas de 100 ml
- frasco lavador
- balones de aire
- tubos de ensayo
- papel Parafilm

3.3.6 Material fotográfico

- cámara digital FUJIFILM-FINEPIX S6027

3.3.7 Otros

- papel higiénico
- papel toalla
- papel craft

3.3.8 Infraestructura

- Consultorio Dental de Tropa de la División de Estomatología del Hospital Militar Central.
- Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Laboratorio de la Unidad de Servicios de Análisis Químicos de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

3.4 MÉTODO

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

3.4.1 Procedimientos y Técnicas

3.4.1.a Diseño y programación del estudio

A. Diseño del grupo de estudio y del grupo control

Los exámenes clínicos y la toma de muestra salival fueron tomados por la investigadora y supervisados por la asesora de estudio.

Las personas del grupo de estudio (25) fueron subdivididas en 3 subgrupos según la cantidad de cálculo supragingival en los dientes seleccionados: bajo (9 personas), moderado (8 personas), alto (8 personas).

Las personas del grupo control (25) y del grupo de estudio fueron seleccionadas según los criterios de inclusión y exclusión.

B. Número total de muestras salivales

Se recolectaron y analizaron muestras de saliva de 50 personas.

3.4.1.b Examen clínico y recolección de muestra salival

A. Examen Clínico (Figs. 4 y 5)

Se realizó a las 50 personas del estudio y se determinó la existencia de cálculo supragingival por medio del Índice de Cálculo de Superficie de Ennever y col., en el cual se examinan los 4 incisivos inferiores.

Cada incisivo se subdividió en cuatro unidades de medición: labial, que se considera como una sola unidad, y lingual, que se divide longitudinalmente en tres subsecciones, tercio disto-lingual, tercio lingual y tercio meso-lingual. Se dio valor de 0 a la ausencia y de 1 a la presencia de cálculo supragingival. El número total de superficies, se consideró la medida del individuo.

B. Recolección de la muestra salival (Figs. 6 y 7)

1. Las muestras salivales fueron recolectadas entre las 9-12 pm, y las personas no debieron haber comido 1-2 horas antes de la recolección.

2. El individuo se enjuagó la boca con agua y escupió toda la saliva remanente.

3. Se estimuló la secreción de saliva total mediante la masticación de cera parafina rosada “nacional” (con las siguientes dimensiones: 3x3 cm y 1mm de grosor), por 1 minuto, la primera secreción de saliva se descartó y se recolectó el volumen acumulado después. Se realizó este mismo procedimiento de 2 a 3 veces hasta obtener 5 ml de saliva.

Figura 4: Medición clínica del cálculo supragingival según el Índice de Cálculo de Superficie de Ennever y col.: en la cara labial de los incisivos inferiores la medida es cero

Figura 5: En la cara lingual de los incisivos inferiores la medida es 11, la medida total de la persona es 11

Figura 6: Recolección de la muestra de saliva total estimulada

Figura 7: Las muestras de saliva fueron congeladas a una temperatura de 20ºC aprox., hasta el momento de su análisis

4. Del recipiente se vació 1 ml de saliva al tubo de ensayo (de tapa rosca), ambos se cerraron herméticamente y se rotularon con el nombre del individuo, fecha de recolección y número de examen. Los 4 ml de saliva del recipiente se destinaron para el análisis de calcio y el 1 ml de saliva del tubo de ensayo, para el análisis de fósforo. Las muestras fueron congeladas a una Tº de -20ºC aprox., hasta el momento de su análisis.

3.4.1.c Análisis químico espectrofotométrico de las muestras salivales

1. Las muestras de saliva total estimulada contenidas en los recipientes y en los tubos fueron descongeladas al medio ambiente.

2. Para el análisis de calcio se empleó un método interno de la Unidad de Servicios de Análisis Químicos de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la UNMSM. Los pasos fueron los siguientes:

- Digestión de la muestra (4ml de saliva) en ácido nítrico concentrado hasta casi sequedad.
- Se le dio el medio adecuado (2% de ácido nítrico)
- Se agregó cloruro de lontano para eliminar las interferencias de fósforo y se enrazó con agua desionizada hasta 25 ml.
- Se leyó en el espectrofotómetro de absorción atómica a 422.7nm.
- Los cálculos se hicieron mediante la siguiente fórmula:

ppm calcio = lectura X factor de dilución

1 ppm = 1 mg/1000ml

3. Para el análisis de fósforo se empleó el “Método colorimétrico para la determinación de fósforo inorgánico en suero y otros líquidos” de Wiener Laboratorios, Argentina 2000. Los pasos fueron los siguientes: (Figs. 8 a 13)

- Se marcaron 2 tubos de ensayo con D (Desconocido), y 1 tubo de ensayo con B (Blanco) y S (Standard).
- Se colocó 20 ul de la muestra de saliva en cada uno de los tubos D (D1 y D2).

- Se colocó 20 ul de la solución standard en el tubo S. Esta es una solución estabilizada de fosfatos que equivale a 4 mg/dl de fósforo inorgánico.
- Luego, se agregó a cada uno de los 4 tubos (D1, D2, B, S) 1 ml de una solución compuesta de molibdato de sodio (230 mmol/l) en citrato de sodio (1mol/l). Se mezcló el contenido de los tubos por agitación suave. Es así como el fosfato de los tubos D1, D2 y S reaccionan en medio ácido con el molibdato y forman el fosfomolibdato. Esta solución produjo turbiedad la cual se produce por precipitación proteica. Se procedió con el siguiente paso antes de transcurrir 2 minutos.
- Luego, se agregó 1 ml de ácido ascórbico (>5,6 mmol) en cada uno de los 4 tubos. Se mezcló el contenido de los tubos por agitación suave. En este momento el fosfomolibdato es reducido por el ácido ascórbico a azul de molibdeno. Se procedió con el siguiente paso antes de transcurrir 2 minutos.
- Posteriormente, se agregó a cada uno de los 4 tubos, 1.5 ml de una solución compuesta por arsenito de sodio (120 mmol/l) en citrato de sodio (50 mmol/l) con agentes tensioactivos. Esta solución fue colocada previamente en baño de agua a 37ºC unos minutos hasta encontrarse transparente. Se mezcló el contenido de los tubos por inversión usando papel Parafilm. Este medio arsenito/citrato desarrolla el color de la reacción final y los agentes tensioactivos provocan su redisolución total, obteniéndose una solución perfectamente límpida.
- Se colocaron los tubos en baño de agua a 37ºC por 10 minutos.
- Se leyeron las absorbancia en espectrofotometría UV a 620 nm, llevando el aparato a cero con el Blanco.
- Se promediaron las absorbancia D1 y D2 y se calculó los resultados con la siguiente fórmula:

$$Pi\ (mg/dl) = \frac{D}{S} \times 4\ mg/dl$$

Pi = fósforo inorgánico

D = Absorbancia del desconocido

S = Absorbancia del standard

Figura 8: Para la determinación de fósforo se empleó 20 ul de la muestra de saliva

Figura 9: Adición de los reactivos a la muestra de saliva, para la determinación de fósforo

Figura 10: En la determinación de fósforo se observa el color de la reacción final

Figura 11: Se colocan los tubos con la reacción final en baño de agua a 37ºC por 10 minutos

Figura 12: Preparación para la lectura de la absorbancia en el espectrofotómetro, para la determinación de fósforo

Figura 13: Se leyeron las absorbancias en el espectrofotómetro UV a 620 nm

3.4.2 Procedimiento de recolección de datos

3.4.2.a Métodos e instrumentos utilizados en la recolección y presentación de datos

Para la recolección de los datos se empleó la observación y codificación de la concentración de calcio y fósforo en saliva total estimulada de personas sanas que presentaron y no presentaron cálculo supragingival.

El instrumento lo constituyó la Ficha de Recolección de Datos en la cual se anotaron los datos personales de las personas y las concentraciones de calcio y fósforo encontradas después del análisis químico a las muestras de saliva.

Para el procesamiento de los datos se utilizaron cuadros y gráficos para presentar los resultados obtenidos.

3.5 ANÁLISIS DE LOS DATOS

Para interpretar los resultados del presente estudio de acuerdo a los objetivos e hipótesis, se compararon los resultados obtenidos del grupo que presentaba cálculo y los que no lo presentaban utilizando el método de análisis estadístico.

Los análisis se realizaron con el Software SPSS v 12 (Statistical Package for Social Sciences). Se empleó un análisis descriptivo para obtener los promedios, desviaciones estándar y errores estándar de las variables continuas. Se aplicó la prueba T-students entre el grupo que no presentaba cálculo y el grupo que sí presentaba. Según la Prueba de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov la distribución fue normal y de varianzas iguales, entonces se aplicó la prueba de ANOVA entre el grupo que no presentaba cálculo supragingival y los tres subgrupos que presentaban cálculo supragingival (bajo, moderado y alto).

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

IV. RESULTADOS

4.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO

- La muestra de estudio estuvo conformada por 50 personas de 17-21 años de edad, de las cuales las personas de 20 y 21 años representaron más del 50% de la muestra. (Cuadro 1)
- En cuanto al sexo de las personas del estudio, 34 correspondían al sexo masculino y 16 al sexo femenino. (Cuadro 2)
- Se muestran los Índices de Cálculo de Superficie encontrados en las personas del estudio vs. las concentraciones de calcio y fósforo en sus salivas totales estimuladas (Gráficos 1 y 2). El mayor índice de cálculo encontrado en las personas del estudio fue de 13. Las concentraciones de calcio se observan en un intervalo de 1,29 - 5,51 mg/100 ml y las concentraciones de fósforo en un intervalo de 4,63 – 14,26 mg/100 ml.
- Al grupo de casos que presentó cálculo supragingival se le subdividió en 3 subgrupos según el Índice de Cálculo de Superficie en: bajo, moderado y alto. Los gráficos 3 y 4 muestran las medias de las concentraciones de calcio y fósforo según el Índice de Cálculo de Superficie en cada subgrupo. Los valores de las concentraciones de fósforo presentaron una tendencia ascendente para el grupo que no presentó cálculo

supragingival y para los subgrupos “bajo” y “moderado”, mientras que descendió levemente en el subgrupo que presentó un alto índice de cálculo. Para las concentraciones de calcio se observó que en el grupo que no presentó cálculo con el subgrupo “bajo” hubo una tendencia ascendente, luego en el subgrupo “moderado” descendió y volvió a ascender para el subgrupo que presentó un alto índice de cálculo. Se observó valores extremos que escaparon de la normalidad en el caso del fósforo (en el grupo que no presentaba cálculo supragingival, las concentraciones extremas fueron de: 14,26 mg/100 ml y 14,19 mg/100 ml, y en el subgrupo que tuvo un alto índice de cálculo, la concentración extrema fue de 14 mg/100 ml).

4.2 ANÁLISIS INFERENCIAL

4.2.1 Comparación de las concentraciones de calcio y fósforo según la presencia de cálculo supragingival.

Se empleó el análisis de T-Students, se observó que existió diferencia significativa entre los grupos que presentaban cálculo y el que no lo presentaba con respecto al elemento fósforo (p=0,047), mas no para el elemento calcio (p=0,094). Se acepta la H1 para el caso de fósforo y para el calcio se acepta Ho. (Cuadro 3)

4.2.1 Comparación de las concentraciones de calcio y fósforo entre cada subgrupo de estudio, según el Índice de Cálculo de Superficie, y el grupo control.

Se aplicó la prueba de Kolmogorov – Smirnov a los 3 subgrupos de estudio y al grupo control, que indicó que la distribución de contraste era normal. Por lo tanto se aplicó la Prueba de ANOVA.

Tanto para las concentraciones de calcio y fósforo no se observaron diferencias significativas al relacionar los subgrupos de estudio y el grupo control (Cuadros 4 y 5). La presencia de valores extremos que escapan de la normalidad fueron eliminados y se aplicó nuevamente la Prueba de ANOVA. Se consiguió una diferencia significativa para la concentración de fósforo entre los subgrupos de estudio y el grupo control (p=0,033), pero no hubo diferencias significativas para el calcio (p=0,304) (Cuadros 6 y 7).

Cuadro 1: Distribución de personas del estudio según edad. Hospital Militar Central. Junio-Julio 2004. Lima-Perú

Edad	Frecuencia	Porcentaje
17	4	8.0
18	10	20.0
19	9	18.0
20	13	26.0
21	14	28.0
Total	50	100.00

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

Cuadro 2: Distribución de personas del estudio según sexo. Hospital Militar Central. Junio-Julio 2004. Lima-Perú

Sexo	Frecuencia	Porcentaje
Masculino	34	68.0
Femenino	16	32.0
Total	50	100.00

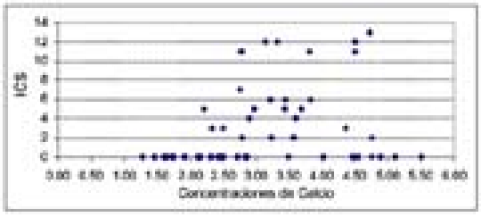


Gráfico 1 Indice de cálculo de superficie segun concentraciones de calcio. Hospital Militar Central. Junio-Julio, 2004.Lima - Perú

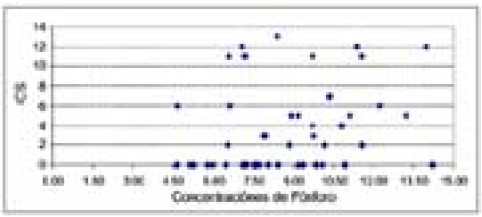


Gráfico 2 Indice de cálculo de superficie según concentraciones de fosforo. Hospital Militar Central. Junio-Julio,2004. Lima-Perú

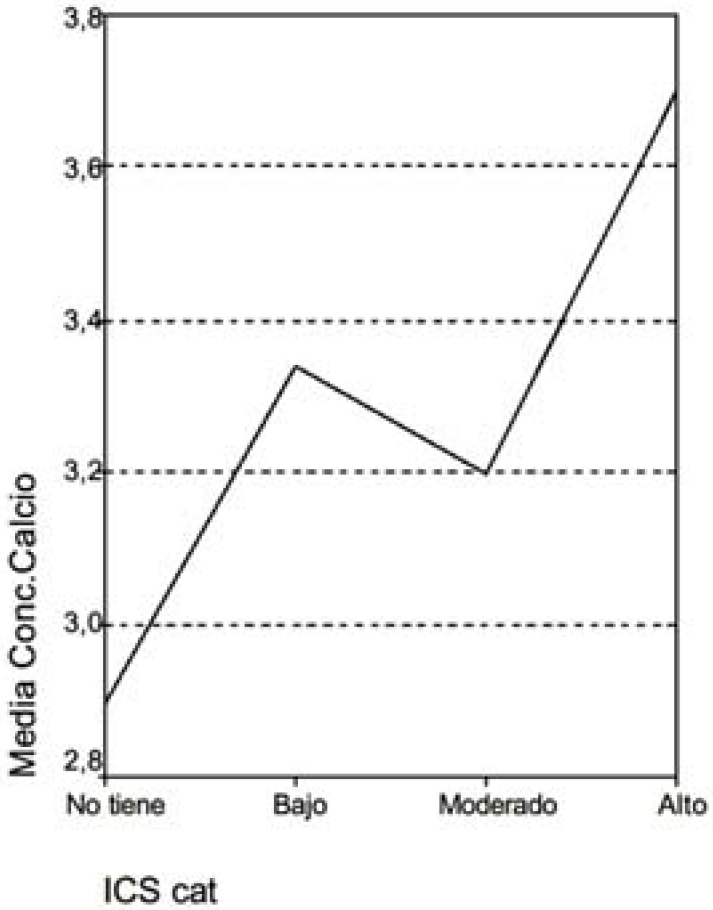


Gráfico 3. Concentraciones de calcio en saliva estimulada según los sub-grupos de índice de Cálculo de Superficie

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

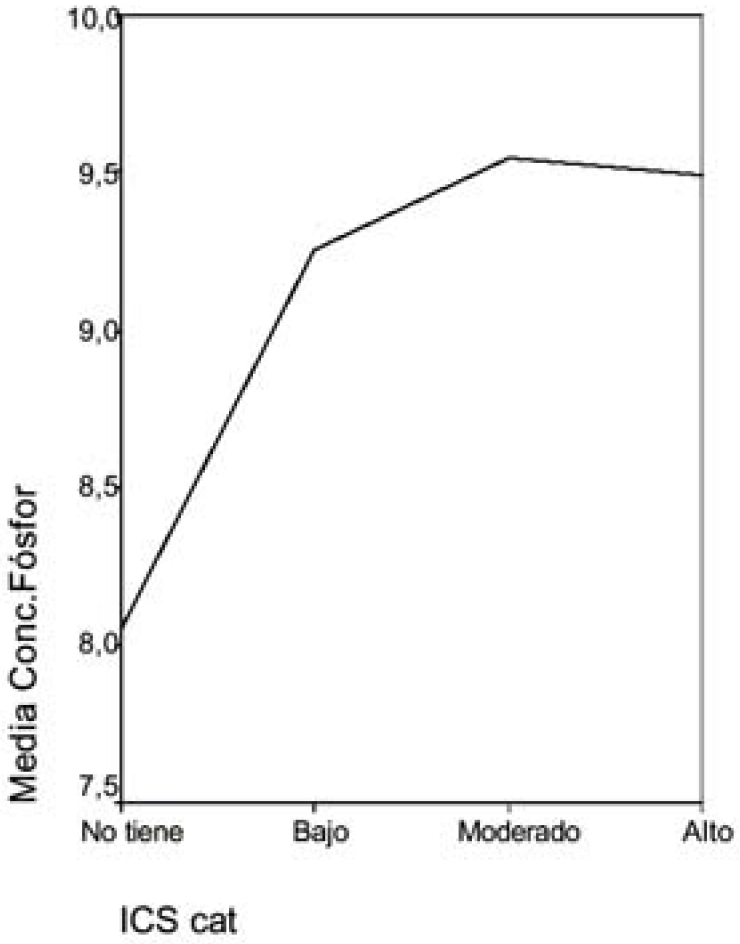


Gráfico 4. Concentraciones de fósforo en saliva estimulada según los sub-grupos de Índice de Cálculo de Superficie

		N	Media	Desviación Típica	Error Típico de la Media
Concentración de calcio*	Sin cálculo supragingival	11	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	Con cálculo supragingival	23	[illegible]	[illegible]	[illegible]
Concentración de fósforo **	Sin cálculo supragingival	11	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	Con cálculo supragingival	23	[illegible]	[illegible]	[illegible]

Cuadro 3: Concentración de calcio y fósforo según los grupos de estudio. Hospital Militar Central. Junio-Julio 2004. Lima-Perú

*t = -1,716

p = 0,094

se acepta H_0

** t = -2,040

p = 0,047

se acepta H_1

Cuadro 4: Concentración de calcio entre cada subgrupo de estudio y el grupo control. Hospital Militar Central. Junio-Julio 2004. Lima-Perú

	Índice de Cálculo de Superficie	N	Media	Desviación Típica
Concentración de calcio	Sin cálculo	25	2,8948	1,30834
	Bajo	9	3,3411	0,82224
	Moderado	8	3,1975	0,52998
	Alto	8	3,7000	0,80495
	Total	50	3,1524	1,08220

ANOVA F = 1,272

gle = 3

gld = 46

p = 0,295 (p > 0,05) se acepta H_0

Cuadro 5: Concentración de fósforo entre cada subgrupo de estudio y el grupo control. Hospital Militar Central. Junio-Julio 2004. Lima-Perú

	Índice de Cálculo de Superficie	N	Media	Desviación Típica
Concentración de fósforo	Sin cálculo Bajo Moderado Alto	25 9 8 8	8,0556 9,2411 9,5438 10,4275	2,44795 1,50145 1,34571 2,64594
	Total	50	8,7398	2,44693

ANOVA F = 1,356

gle = 3

gld = 46

p = 0,268 (p > 0,05) se acepta H_0

Cuadro 6: Concentración de calcio entre cada subgrupo de estudio y el grupo control (sin valores extremos). Hospital Militar Central. Junio-Julio 2004. Lima-Perú

	Índice de Cálculo de Superficie	N	Media	Desviación Típica
Concentración de calcio	Sin cálculo	23	2,8091	1,29565
	Bajo	9	3,3411	0,82224
	Moderado	8	3,1975	0,52998
	Alto	7	3,5843	0,79433
	Total	47	3,0926	1,06604

ANOVA F = 1,247

gle = 3

gld = 43

p = 0,304 (p > 0,05) se acepta H_0

Cuadro 7: Concentración de fósforo entre cada subgrupo de estudio y el grupo control (sin valores extremos). Hospital Militar Central. Junio-Julio 2004. Lima-Perú

	Índice de Cálculo de Superficie	N	Media	Desviación Típica
Concentración de fósforo	Sin cálculo	23	7,5191	1,66494
	Bajo	9	9,2511	1,58615
	Moderado	8	9,5450	2,84571
	Alto	7	8,8543	2,07519
	Total	47	8,3945	2,08480

ANOVA F = 3,179

gle = 3

gld = 43

p = 0,033 (p < 0,05) se acepta H1

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

V. DISCUSIÓN

Los resultados demostraron que existen diferencias significativas con respecto a la concentración de fósforo en saliva total estimulada (p=0,047) entre las personas que presentaban y las que no presentaban cálculo supragingival, mientras que para el calcio no hubo diferencia estadística significativa (p=0,094). En sus hallazgos, Montoya (1), encontró una relación inversa, la diferencia significativa la encontró en el calcio mas no en el fósforo, pero que ambas concentraciones se relacionaban con la formación de cálculo dental en una persona. Los resultados de la presente investigación coinciden con lo señalado por Barrios (12) quien afirmó que la presencia de fósforo es más crítica que la de calcio en la mineralización de la placa bacteriana. Otro hallazgo fue el de Poff (2), que halló una asociación significativa entre la concentración de calcio y la saliva total, sin embargo observó una leve correlación con los demás componentes inorgánicos y la formación de cálculo. Larsen y Pearce (7), manifestaron que las concentraciones iónicas libres de calcio y fósforo pueden ser usados para ilustrar condiciones químicas en saliva. De acuerdo con los resultados obtenidos se puede confirmar la hipótesis que el fósforo es un elemento que presenta altas concentraciones en la saliva total estimulada de personas que presentan cálculo supragingival, esto significa que el fósforo cuando presenta concentraciones elevadas en saliva total estimulada precipita con mayor facilidad y puede formar el cálculo dental en la superficie de las coronas de los dientes.

En el presente estudio se determinó las concentraciones de calcio y fósforo en saliva total estimulada en cada persona. Las concentraciones de calcio y fósforo en el grupo de personas que no presentaron cálculo supragingival fueron de 2.89 mg/100 ml y 8.06 mg/100 ml, respectivamente; y las concentraciones de calcio y fósforo en el grupo de

personas que presentaron cálculo supragingival fueron de 3.41 mg/100 ml y 9.42 mg/100 ml. Se observa que en el presente estudio las concentraciones de calcio y fósforo son similares a las cantidades mínimas encontradas por los anteriores investigadores, por ejemplo Larsen y Jensen (4) encontraron concentraciones de calcio y fosfato en saliva mixta estimulada que variaron entre 4.40-16.80 mg/100 ml y 6.19-39.02 mg/100 ml, respectivamente, que no varió mucho en el estudio que hicieran Larsen y Pearce (7) después de cinco años en el que encontraron 4.44 mg/100 ml para el calcio y 11.52 mg/100 ml para el fosfato. Estas últimas cifras son similares a lo encontrado por Mason y Chisholm (12) en 1975, en cuyas muestras de saliva mixta estimulada se encontraron concentraciones de 6 mg/100 ml para el calcio y 12 mg/100 ml para el fosfato.

En sus investigaciones Galgut (3) llegó a la conclusión que el nuevo crecimiento de cálculos supragingivales no se relaciona directamente con el estado de higiene oral sino con otros factores, que pueden incluir edad, raza, sexo, factores de la dieta, concentraciones minerales locales, estado médico, uso de medicamentos y presencia de placa bacteriana específica. Para la presente investigación se controló algunos de estos criterios y se decidió que las personas del estudio sean pacientes jóvenes entre 17-21 años de edad, entre hombres y mujeres sanos, la cantidad de proteínas consumidas en la dieta era similar y su frecuencia de cepillado debió ser de 2 ó 3 veces al día. Por lo tanto, de esta manera se trató de controlar estas variables. Larsen y Jensen (4) también observaron que aunque recolectaron muestras a la misma hora del día, la concentración de calcio y fosfato en saliva total no estimulada variaron considerablemente y no encontraron patrones consistentes. En el presente estudio se tomó las muestras de saliva entre las 9 am-12 pm, y la persona no debió haber ingerido alimentos 1-2 horas antes de la recolección de la muestra, así se trató de descartar factores que puedan influir en la concentración de calcio y fósforo en saliva total estimulada.

Otro hallazgo importante fue el de Acevedo (5) que observó que la ocurrencia de caries era menor en las áreas con mayores niveles de calcio y fósforo, mientras que la formación de cálculos aumentaba concomitantemente. Al igual que este análisis, en esta investigación se considera que el fósforo como defensor natural de la disolución de los dientes juega un papel esencial, pero a su vez su aumento de concentración en la saliva produce la precipitación de sus sales minerales formando el cálculo dental.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

CONCLUSIONES

1. El calcio y el fósforo son compuestos inorgánicos que se encuentran en la saliva total estimulada.

2. Se observa mayores concentraciones de fósforo en la saliva total estimulada de personas con cálculo supragingival en comparación con las personas que no tienen cálculo supraginginval. Por lo que se concluye que la concentración de fósforo en la saliva total estimulada es característica que se relaciona con la formación de cálculo dental supragingival en una persona.

3. No se encontró una diferencia significativa para el elemento calcio en la saliva estimulada, al comparar las personas que no tenían cálculo supraginginval con las personas que sí lo presentaban.

4. Las concentraciones de calcio y fósforo en saliva total estimulada fueron similares a las cantidades mínimas halladas en estudios de otros países.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

RECOMENDACIONES

1. Realizar próximas investigaciones para observar el efecto que puede producir la medicación y las diferentes cantidades de proteínas en la dieta, en la concentración de calcio y fósforo en la saliva.

2. Investigar otros compuestos inorgánicos y orgánicos de la saliva.

3. Tener en cuenta que los compuestos inorgánicos y orgánicos que se encuentran en la saliva participan en el estado de la cavidad oral, y que por lo tanto se debe tomar a las ciencias básicas como inicio de todo acto clínico.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

BIBLIOGRAFÍA

Montoya, Escobar, Zuluaga. Concentraciones de calcio y fósforo en la saliva humana estimulada de personas con cálculo supra y subgingival. Revista CES Odontología Vol. 5, Nº 2. Colombia 1992. págs. 177-181.

Poff, Pearce, Larsen, Cutress. Human Supragingival in vivo calculus formation in relation to saturation of saliva with respect to calcium phosphates. Archives of Oral Biology Vol. 42 Nº 2 1997. Nueva Zelanda. págs. 93-99.

Galgut P. N. Formación de cálculos supragingivales en un grupo de adultos jóvenes. Quintessence (edición especial) Vol. 10, Nº 9. Inglaterra 1997. págs. 565-568.

Larsen, Jensen, Madsen, Pearce. Individual variations of pH, buffer capacity, and concentrations of calcium and phosphate in unstimulated whole saliva. Archives of Oral Biology 44, 1999. Nueva Zelanda. págs. 111-117.

Acevedo Ana M., Hayes Michael Z., Sintes Jorge L. Composición Mineral de la placa dentaria humana – un estudio piloto. Revista Fola Oral Año V Nº 16 Jul/Oct. Estados Unidos 1999. págs. 110-115.

Yévenes, Acosta, Apip, Reyes. Estudio de parámetros salivares en una localidad aislada de Chile, Puerto Williams. Avances en Odontoestomatología. Vol 16, Nº 10, Dic. 2000. Chile. pags. 571-576.

Larsen, Pearce. Saturation of human saliva with respect to calcium salts. Archives of Oral Biology 48, 2002. Nueva Zelanda. 317-322.

Gonzáles, Lafuente. Ansiedad, concentraciones de Na^+ y K^+ Salivar y Bruxismo en deportistas. Estudio preliminar. Avances en Odontoestomatología. Vol. 16 Nº 17, Sept. 2000. España. pags. 413-421.

Hernández L. Germán A. La saliva y su significado como regulador de la salud bucal. Revista Colombiana de Odonto Estomatología Vol. 2, Nº 3 y 4. Enero-Abril, Colombia 1995. págs. 5-7.

Nikiforuk Gordon. Caries Dental. Aspectos Básicos y Clínicos. Editorial Mundi S.A.I.C. y F. 1986, págs. 237-260.

Thylstrup Anders, Fejerskow Ole. Caries. Editorial Doyma 1986, págs. 15-30.

Liébana Ureña J. Microbiología oral. Editorial Mc Graw-Hill 1995, pags. 409-445.

Barrios G. Odontología, su fundamento biológico. Tomos I y II. Grass – Iatros Ediciones. Colombia 1991. págs. 245-776.

Carranza F.A. Periodontología Clínica de Glickman 7ma Edición. Nueva editorial Interamericana. México, D.F. 1993. págs. 413-427.

Jenkins G. Neil. Fisiología y Bioquímica Bucal. Editorial Limusa. México. 1983. págs. 301-431.

Menaker Lewis, D.M.D. Bases Biológicas de la caries dental. Salvat Editores, S.A. 1986, págs. 67-156.

Sreebny Leo M. Saliva in health and disease: an appraisal and update. International Dental Journal Vol.50, Nº 3. 2000. Estados Unidos. págs. 140-181.

Ten Cate A. R. Histología Oral. Desarrollo, estructura y función 2º Edición. Editorial Médica Panamericana 1986, págs. 368-399.

Bullón Fernández Pedro. Nuevos conceptos sobre el proceso de secreción salival. Secreción de productos orgánicos. Actualidad Estomatológica Española. Año XLV, Nº 349, Sep. 1985. España. págs. 29-32.

Herrera, Acevedo, Escalona, Soto-Luna, Lalaguna. Variación de la viscosidad en un sustituto salival en base a mucina por cambios en el pH y la concentración de proteínas. Acta Odontológica Venezolana Vol. 34, Nº 3, 1996. Venezuela. págs. 15-17.

Williams, R.A.D., Elliott J.C. Bioquímica dental básica y aplicada. Editorial El Manual Moderno, 1982, págs. 249-326.

Fortanete Adriana. Saliva en Adultos Mayores. Odonto Postgrado Vol. 3 Nº 3 Julio 1996, págs. 17-19.

Bowman Bárbara, Russell Robert. Conocimientos actuales sobre nutrición. 8va. Edición, OPS e Instituto Internacional de Ciencias de la Vida 2003, págs. 297-316.

Mahan Kathlun, Escott-Stump Sylvia. Nutrición y Dietoterapia de Krause. Editorial Mc Graw – Hill Interamericana 2001. págs. 532-537.

Gudiño Fernández Sylvia. El riesgo, de caries y el papel de la saliva en la terapia odontológica. Estética y Operatoria Dental, 2002. Costa Rica. págs. 9 y 10.

Arzu Ozkavaf, Hamit Aras, Cenk Basil Huri. Relationship between the quantity of gingival crevicular fluid and clinical periodontal status. Journal of Oral Science Vol. 42, Nº 4, 2000. Turkey. pags.231-238.

Faria R., Belén A., Bascones A. Nuevos métodos de diagnóstico en Periodoncia. Métodos Bioquímicos. Avances en Periodoncia e Implantología Oral Vol. 13 Nº 1 Abril 2001. España. págs. 29-37.

Larsen M.J., Richards A. The Influence of Saliva on the formation of calcium fluoride – like material on human dental enamel. Caries Research Vol. 35, 2001. Nueva Zelanda. págs. 57-60.

Bulut Sule, Develioglu Hakan. Interleukin. 1 beta levels in gingival crevicular fluid in type 2 diabetes mellitus and adult periodontitis. Journal of Oral Science. Vol. 43, Nº 3, 2001. Turkey. pags. 171-177.

Genco Robert J., Goldman Henry M. Periodoncia. Interamericana Mc. Graw México 1993, pags. 141-153.

Lieverse Angela R. Diet and the Aetiology of Dental Calculus International Journal of Osteoarchaeology 9, 1999. Canadá. pags. 219-232.

Mandel I. D., Gaffar A. Calculus revisitual: a review Journal Clinical Periodontology 13: 249, 1986. pags. 25-28.

Willard H., Merritt L., Dean J., Settle F. Métodos Instrumentales de Análisis. Grupo Editorial Iberoamérica, 1991. págs. 179-187.

Skoog D., Leary J. Análisis Instrumental, 4ta Edición, Mc Graw Hill, 1994. pág. 173-199.

Day, R.A. Química Analítica Cuantitativa. Prentice – Halla Hispanoamericana S.A. 5ta Edición 1989. México. págs. 230-243.

Sreebny Leo M. Saliva: Its role in health and disease. International Dental Journal 42, 1992 pags. 287-304.

Jan Lindhe. Periodontología Clínica. Editorial Médica Panamericana. 2da edición. 1992, págs. 89-116.

Grant, Stern, Everett. Periodoncia en la tradición de Orban y Gottlieb. Editorial Mundi. 5ta edición 1983. Argentina. págs. 130-184.

Phillips Ralph. La Ciencia de los Materiales Dentales de Skinner. Nueva Editorial Interamericana. 8va edición. México 1987.

Villavicencio Núñez, Marino. Avances en Bioquímica Médica. Series Ciencias Concytec, 2000.

Tablas Peruanas de Composición de Alimentos. Ministerio de Salud. 7ma Edición. Perú 1996.

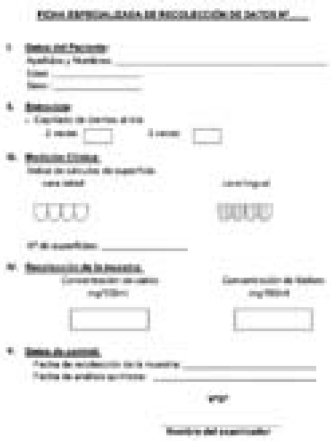
Ramón Torrell, José. Métodos de investigación en Odontología. Masson SA., España 2000.

F.H. de Canales, E.L: de Alvarado, E.B. Pineda. Metodología de la Investigación. Manual para el Desarrollo del personal de salud. Editorial Limusa. 1992.

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

ANEXOS

ANEXO Nº 1



ANEXO Nº 2

Índices de cálculo y las concentraciones de calcio y fósforo en saliva total estimulada en las personas del estudio HMC. Junio-Julio. Lima-Perú

TABLA 1

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"

Índice de Cálculo de Superficie	Concentración de calcio	Concentración de fósforo
0	2.84	8.39
0	4.55	7.63
0	2.72	8.45
0	1.6	5.99
0	4.47	9.86
0	4.03	9.39
0	5.12	5.13
0	1.74	7.27
0	5.51	10.94
0	1.29	5.82
0	3.5	6.47
0	2.87	14.26
0	1.65	7.18
0	4.89	14.19
0	1.75	7.11
0	4.76	10.11
0	1.47	5.27
0	1.93	8.07
0	2.43	4.63
0	1.67	7.71
0	2.5	7.26
0	2.12	5.81
0	2.32	7.74
0	2.48	9.19
0	2.16	7.52
2	2.8	6.56
2	3.23	8.87
2	4.77	10.16
2	3.57	11.58
3	2.34	7.87
3	2.5	7.95
3	4.36	9.75
4	2.9	10.81
4	3.6	9.71
5	2.21	13.22
5	3.69	9.18
5	3.43	8.94
5	2.98	11.1
6	3.83	4.66
6	3.45	12.26
6	3.22	6.65
7	2.77	10.35

Índice de Cálculo de Superficie	Concentración de calcio	Concentración de fósforo
11	3.82	11.58
11	4.5	6.61
11	2.79	9.74
11	2.77	7.18
12	4.51	14
12	3.33	7.08
12	3.14	11.39
13	4.74	8.4

"Programa Cybertesis PERÚ - Derechos son del Autor"