

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**Departamento de Estomatología IV (Profilaxis, Odontopediatría y
Ortodoncia)**



TESIS DOCTORAL

**Alteraciones en el contenido mineral dentario: ensayo en modelo
experimental de rata**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Estefanía Moreno Sinovas

Directores

Paloma Planells del Pozo
Elena M^a Planells del Pozo
José Ignacio Salmerón

Madrid, 2016

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

Departamento de Profilaxis, Odontopediatría y Ortodoncia



ALTERACIONES EN EL CONTENIDO MINERAL DENTARIO:

ENSAYO EN MODELO EXPERIMENTAL EN RATA.

TESIS DOCTORAL

Estefanía Moreno Sinovas

2015

Índice:

Resumen Español.....	Pág. 5
Resumen Inglés.....	Pág. 8
Introducción.....	Pág. 12
Magnesio (Mg).....	Pág. 14
Calcio (Ca).....	Pág. 25
Fósforo (P).....	Pág. 31
Hierro (Fe).....	Pág. 34
Zinc (Zn).....	Pág. 39
Cobre (Cu).....	Pág. 46
Manganeso (Mn).....	Pág. 50
Minerales en la Dentición.....	Pág. 53
Impacto Epidemiológico del déficit en Mg.....	Pág. 85
Justificación.....	Pág. 90
Hipótesis.....	Pág. 92
Objetivos.....	Pág. 94

Material y Métodos.....Pág. 96

Modelo Experimental propuesto.....Pág. 97

Muestra.....Pág. 99

Método.....Pág. 99

Técnicas Analíticas.....Pág. 101

Análisis Estadístico.....Pág. 103

Resultados.....Pág. 104

Datos de Sangre y Plasma.....Pág. 107

Contenido en Mg.....Pág. 111

Contenido en Ca.....Pág. 113

Contenido en P.....Pág. 116

Contenido en Fe.....Pág. 118

Contenido en Cu.....Pág. 119

Contenido en Zn.....Pág. 122

Contenido en Mn.....Pág. 125

Discusión.....Pág. 127

Conclusiones.....Pág. 147

Bibliografía.....Pág. 150

Abreviaturas.....Pág. 169

Alteraciones en el contenido mineral dentario:

Ensayo en modelo experimental en rata.

Estefanía Moreno Sinovas.

Directores: Dra. Paloma Planells del Pozo, Dra. Elena María Planells del Pozo,

Dr. José Ignacio Salmerón Escobar.

Introducción:

Diversos estudios han puesto de manifiesto la repercusión que la deficiencia en magnesio (Mg) provoca en la biodisponibilidad de otros elementos como el calcio (Ca), fósforo (P), hierro (Fe), zinc (Zn), cobre (Cu) y manganeso (Mn).

Estudios epidemiológicos, muestran que la ingesta de Mg en países industrializados, está por debajo del 30 por ciento de las Cantidades Diarias Recomendadas. El bajo consumo de estos minerales se relaciona con osteoporosis, fracturas óseas y alteraciones cardiovasculares. Estos problemas a nivel de la cavidad oral podrían dar lugar a disminución de hueso en la cresta alveolar y pérdida de altura, pérdida dentaria, acompañado de una estimulación pro-inflamatoria de las citokinas.

A pesar que el contenido en Mg en el tejido dentario es muy pequeño, hay que tener presente la relación que los niveles de Mg guardan con el resto de minerales.

Objetivos:

Nuestro objetivo principal fue demostrar la necesidad del Mg, como mineral esencial del organismo, para el equilibrio en el metabolismo del Ca, P, Fe, Zn, Mn y Cu; y en especial para la integridad del diente.

Material y Métodos.

La muestra de estudio está constituida por 80 ratas Wistar macho seleccionadas al azar de entre diez camadas producidas en la misma fecha. El modelo es un diseño experimental aleatorizado, factorial equilibrado y de efectos fijos.

Las ratas, consumieron una dieta comercial estándar. Uno de los grupos consumió esta dieta sin modificaciones, al otro grupo se le suplementó el aporte de Mg ambos grupos llevaron una alimentación *pair-fed*. Tras 3, 5, 7 y 10 semanas se sacrificaron 10 ratas por grupo para cada uno de los periodos.

Se extrajeron los incisivos superiores e inferiores. Los resultados se compararon con los obtenidos de las ratas control del mismo periodo. El contenido mineral, se determinó mediante espectrofotometría de absorción atómica salvo el P inorgánico, que se precisó con el método colorimétrico de Fiske-Subbarow.

Para la comparación de los resultados se realizó un análisis de la varianza ANOVA de dos factores.

Resultados:

Los animales sometidos a una dieta Mg-D mostraron una hipercalcemia e hipofosfatemia sanguíneas significativas debido al aumento en la liberación del primero y al incremento en la excreción del segundo junto con la formación de cristales insolubles en riñón.

Los niveles de Mg en el diente de rata deficiente son menores a los de los controles con la consiguiente alteración de los tejidos dentarios.

La falta de Mg en la rata durante 70 días, provoca una concentración significativamente mayor de calcio en los incisivos analizados, en relación con ratas control.

En cuanto a los niveles dentarios de P se han observado niveles significativamente menores en los animales sometidos a la dieta modificada.

La concentración de Fe, Zn y Mn, en el tejido dentario, resultó significativamente mayor en las ratas sometidas a la dieta deficiente en relación a las ratas C.

La cantidad total de Cu recogida en los dientes de la muestra deficiente, fue significativamente mayor a la obtenida en los animales que siguieron la dieta control.

Conclusiones.

La deficiencia de Mg puede ocasionar alteraciones en el metabolismo de otros minerales, siendo de especial importancia en los tejidos duros como el diente. Por lo tanto, el Mg puede considerarse, según los resultados obtenidos en nuestro estudio, un excelente biomarcador del estatus mineral teniendo en cuenta las diferencias estadísticamente significativas encontradas entre ratas alimentadas con una dieta deficiente en Mg y ratas alimentadas con dieta control.

Dental Mineral Effects of Magnesium Deficiency in Rats.

Estefanía Moreno Sinovas.

Directors: Dr. Paloma Planells del Pozo, Dr. Elena María Planells del Pozo, Dr. Jose Ignacio Salmerón Escobar.

Introduction:

Several studies have shown the impact that a deficiency in magnesium (Mg) causes in the bioavailability of other elements such as calcium (Ca), phosphorus (P), iron (Fe), zinc (Zn), copper (Cu) and manganese (Mn).

Epidemiological studies have shown the mean dietary intake of magnesium to be below recommended levels (350 and 330 mg/day for adult men and women). Low intake of these minerals is related to osteoporosis, bone fractures and cardiovascular disorders. These problems in the oral cavity could lead to decreased bone in the alveolar ridge and height loss, tooth loss, accompanied by a pro-inflammatory cytokine stimulation.

Although the Mg content in the tooth is very small, keep in mind the relationship Mg levels stored with other minerals.

Objetives:

Our main objective was to study dental mineralization of rats fed on a magnesium-deficient diet by analyzing iron, copper, zinc and manganese as biomarkers of mineral status comparing with control.

Specific Objectives:

1. Establish a model Mg-deficient rat for basic experimentation.
2. To study the alterations that can lead to Mg deficiency in the rat dental organ.
3. Analyze and compare the levels of Mg, Ca, P, Fe, Zn, Mn and Cu in the tooth Mg-deficient rat in relation to control rats (C).

Material and Methods.

A longitudinal and prospective study of 72 male Wistar rats was carried out. The model was a randomized, balanced and fixed-factorial experimental design effects.

The rats consumed a standard commercial diet. One group consumed this diet without modification while the other group was supplemented in Mg. Both groups were pair-fed. After 3, 5, 7 and 10 weeks 10 rats per group were sacrificed for each of the periods.

The upper and lower incisors were extracted. The results were compared with those obtained from control rats in the same period. The mineral content of wet mineralized samples were determined by flame atomic absorption spectrometry, phosphorus was analyzed in same samples by colorimetric Fiske Subbarow method.

For comparison of results Analysis of Variance was performed on two factors.

Results:

Within days of starting the deficient diet appeared classic signs of Mg deficiency. Animals showed a characteristic redness of the outer ear and tail because of increased peripheral vasodilatation, along with skin lesions due to the weakness of

tissues. Later appeared increasing signs of hyperexcitability culminating in generalized seizures. All these manifestations increased with time of exposure to the modified diet.

Dental mineral status was determined after 3, 5, 7 and 10 weeks. Changes in the content of Mg, Ca, P, Fe, Cu, Zn were studied in both groups of rats, control (C) and Mg deficient (Mg-D), comparing each other.

All control rats survive at the end of each of the periods. But in the third, fifth and tenth week, a Mg-deficient specimen was lost while in the seventh week, two were lost, due to neurological disorders that Mg deficit produced in them.

As a result of these changes, several deaths occurred in the Mg-D group: one on the third, fifth and tenth week and two in the seventh week. The reason for the decline in mortality to tenth week is because the rats that survive, partially adapted to this deficit.

Mg-D rats showed changes in their behavior such as irritability, nervousness and convulsions, which caused deaths among the study subjects. Recently Mg deficit has been associated with chronic fatigue and sleep disturbances in humans, fact also observed in our experimental animals.

The animals subjected to a Mg-D diet showed a significant blood hypercalcemia and hypophosphatemia due to increased release of the first and the increase in the excretion of the second with the formation of insoluble crystals in the kidney.

The animals in the Mg-D diet showed a significant blood hypercalcemia and hypophosphatemia due to an increased in the release of the first and an increase in the excretion of the second with the formation of insoluble crystals in the kidney.

Mg levels in tooth-deficient rats were lower than those of controls with consequent alteration of the dental tissues.

The lack of Mg in the Mg-D group for 70 days, caused a significantly higher concentration of calcium in the incisors analyzed relative to control rats.

Dental P levels were observed to be significantly lower in those animals subjected to the modified diet.

Concentrations of Fe, Zn and Mn in the dental tissue, were significantly increased in rats Mg-D compared to C.

The total amount of Cu contained in the teeth of Mg-D was significantly higher than that obtained in animals following dietary control.

Conclusions:

Magnesium deficiency may cause changes in the metabolism of other minerals, being especially important in hard tissue such as tooth. Therefore, Mg may be considered, according to the results obtained in our study, an excellent biomarker of mineral status given the statistically significant differences found in rats fed a Mg deficient diet and rats fed with a control one.

Introducción.

Introducción.

Los minerales de la dieta son componentes químicos inorgánicos necesarios para el mantenimiento de los tejidos de los seres vivos, así como su estructura y función. Constituyen aproximadamente el 4 ó 5% del peso total del ser humano^{1,2}.

Se han descrito 20 minerales esenciales para el hombre. Según la cantidad en que se encuentren se clasifican en dos grupos:

- Macrominerales: calcio (Ca), fósforo (P), magnesio (Mg), sodio (Na), potasio (K), cloro (Cl), azufre (S).
- Microminerales: oligoelementos presentes en pequeñas cantidades: hierro (Fe), cinc (Zn), yodo (I), selenio (Se), flúor (F), manganeso (Mn), cobre (Cu), molibdeno (Mo), cromo (Cr).

Los minerales son elementos inorgánicos que siempre mantienen su estructura química. Su biodisponibilidad es variable y va a depender de numerosos factores.

Los minerales no están encargados de suministrar energía al organismo sino que tienen funciones reguladoras además de estructurales. Son constituyentes del tejido óseo y dentario (calcio, fósforo y magnesio), controlan la composición de los líquidos extracelulares (sodio, cloro), intracelulares (potasio, magnesio y fósforo) y forman parte de enzimas y otras proteínas que intervienen en el metabolismo^{1,2,3}.

Diversos estudios^{1,2,3} han puesto de manifiesto la repercusión que la deficiencia en magnesio (Mg) provoca en la biodisponibilidad de otros elementos (calcio, fósforo, zinc, cobre, manganeso,...).

A continuación los minerales que son objeto de la presente tesis.

Magnesio.

Muchos elementos minerales están considerados como vitales a la hora de prevenir la enfermedad, mantener un buen estado de salud y, de este modo, conducirnos hacia la longevidad.

Durante la década de los 60 y 70 el concepto de “esencialidad” se reservaba a aquellos elementos que se encontraban en pequeñas cantidades en los alimentos consumidos diariamente, de tal manera que eran totalmente incapaces de provocar la muerte o interrumpir los ciclos vitales de los sujetos⁴.

En 1993 Harper definió un nutriente como esencial si este es ordinariamente dispensable pero se vuelve indispensable bajo ciertas condiciones patológicas⁵. Otras definiciones, más próximas a las que hemos considerado en este trabajo, se basan en la necesidad de la incorporación de ciertos elementos dentro de la alimentación diaria para el mantenimiento de un estado de salud en personas, edades, estados o condiciones patológicas comunes.

Para que un mineral se considere esencial para los organismos vivos, ha de encajar en cuatro categorías⁴:

1. Una dieta carente en dicho elemento, en modelos de experimentación animal, provoca un cambio en una o varias funciones biológicas, estructura corporal o en la composición de los tejidos que es prevenible o reversible tomando unas cantidades adecuadas del nutriente correspondiente.
2. El elemento, en concentraciones fisiológicas, es necesario para acciones bioquímicas in vivo.
3. El mineral es un componente biológicamente importante de moléculas indispensables en tejidos u organismos vivos.
4. El elemento tiene un papel esencial en las funciones de pequeñas formas de vida.

Un elemento se considera que tiene un papel fuerte en el mantenimiento de la salud de un organismo si cumple estos cuatro requisitos, mientras que su presencia sería débil si sólo se puede encajar en una ó dos de las categorías descritas⁴.

En nuestro trabajo hemos realizado el análisis de varios micro y macrominerales presentes en la naturaleza. Para ello hemos sometido a un grupo de animales de estudio a una dieta deficiente en uno de ellos, el Mg, comparando los resultados obtenidos con controles. Este metal se considera un elemento esencial con cabida en los cuatro apartados mencionados.

La relación entre el Mg y la salud se describió hace ya más de 400 años, mucho antes de que fuera identificado como un elemento⁶.

El Mg es el cuarto mineral más abundante en el cuerpo humano, por detrás del Ca, K, y Na. Aproximadamente el 40% del Mg presente en el organismo es extracelular,

encontrándose casi el 60% restante en huesos y dientes y menos de 1% en la circulación.

Bioquímicamente se le considera un regulador crónico y fisiológicamente se le ha llegado a nombrar como el “electrolito olvidado”. Una cantidad adecuada de Mg es necesaria para la función de cientos de quinasas, entendiéndose como tales enzimas Mg-dependientes que catalizan la transferencia del grupo fosfato a la molécula receptora, como ocurre, por ejemplo, en la fosforilación^{6,7}.

Además, se considera absolutamente indispensable en bioenergética, como regulador del metabolismo de proteínas, carbohidratos, lípidos así como de la transferencia, almacenaje y uso de energía en los organismos en general^{6,7}.

Contenido en el Ser Humano:

En 1926 Jehan LeRoy subrayó el carácter esencial del Mg, posteriormente, a comienzos de los años 30, Mac Collum y Greenberg demostraron sus propiedades fisiológicas mostrando, en la rata y en el perro, las consecuencias de una dieta deficiente en este mineral^{1,2,4}.

El Mg es uno de los iones intracelulares más abundante, tanto en plantas como en animales. Es el segundo ión metálico divalente más común en los océanos y el tercero en la tierra^{1,2,4}. En el organismo es el cuarto catión más abundante y el segundo en concentración intracelular^{1,4}.

El Mg se encuentra ampliamente distribuido en el organismo, estimándose una cantidad total de 20 a 28 gr. El 60-65% del total, se encuentra en el hueso, de un 6 a 7%

en otras células y un 1% en el líquido extracelular. Por otro lado, el Mg se puede encontrar libre (55%), formando compuestos (13%) o unido a proteínas (32%)^{1,8}.

En lo que al tejido óseo y dentario se refiere, la mayor cantidad de Mg se encuentra combinado con el Ca y P en los cristales de apatita. Alfrey y col (1974) demostraron que el *pool* de Mg óseo de la superficie es rápidamente utilizado para reemplazar otros déficits del tejido durante su deficiencia^{1,8}.

Cantidades Recomendadas:

Una persona, con una dieta baja en Mg y una exposición limitada a la luz solar, requerirá de 250 mg de Mg, mientras que aquellos con amplia exposición al sol y con una dieta rica en vitamina B₆, magnesio, abundante ingesta de agua y baja en grasas saturadas, necesitarán 50 mg por día⁸.

La ingesta diaria en individuos sanos en EE.UU. y Oeste de Europa se ha estimado entre 15 y 40 meq. (180-480 mg). En España la ingesta media de Mg se encuentra alrededor de los 280 mg/día, siendo los cereales y derivados los que contribuyen en un mayor porcentaje^{1,8}.

El balance positivo se mantiene con aproximadamente 200 mg de Mg/día y ya que la media de peso del individuo adulto y su gasto energético son de 65 kg y 2000 kcal. respectivamente. Por tanto, la necesidad de Mg sería de 3,1 mg/kg ó 10 mg/100 kcal^{1,2}.

En cuanto a la población infantil se refiere, las cantidades recomendadas en EE.UU. son de 40-60 mg/día para niños recién nacidos, llegando hasta los 170 mg/día en menores de 10 años^{1,8}.

En adolescentes y adultos jóvenes, así como en mujeres fuera del período de gestación y lactancia, se recomiendan de 270-400 mg/Kg o lo que es lo mismo, 14-15 mg/100 Kcal. Durante el tiempo de embarazo y lactancia, las cantidades son de 320 mg y 350 mg respectivamente^{1,8}.

Los resultados obtenidos en España indican que la ingesta actual media de Mg oscila entre 83-87% de las RDA dadas para la población española¹.

Edad	Ingesta Referencia Inferior	Requerimiento Medio	Ingesta Referencia	RDA(1989) Mg	Ingesta Adecuada (1997)	OMS Ingesta Referencia	Europa Rango Aceptable
0-3 meses	30	40	55	40			
4-6 meses	40	50	60	40			
7-9 meses	45	60	75	60			
10-12 meses	45	60	80	60			
1-3 años	50	65	85	80			
4-6 años	70	90	120	120			
7-10 años	115	150	200	170			
Varones							
11-14 años	180	230	280	270			
15-18 años	190	250	280	400	410		
+19 años	190	250	300	350	400	200-300	150-500
Mujeres							
11-14 años	180	230	280	280	360		
15-18 años	190	250	300	300	310		
19-50 años	190	250	300	280		200-300	150-500
+50 años	150	200	270	280			
Gestación	Sin Incremento	Sin Incremento	Sin Incremento	320			
Lactancia			+550	355			

Tabla I. Cantidades recomendadas de Mg¹.

Recientemente, se ha observado que mujeres de edad avanzada que consumen menos de 187mg/Mg/día tienen una densidad ósea menor que aquellas mujeres de la misma edad con una dieta adecuada en este mineral⁹⁻¹¹.

Funciones del Magnesio:

El Mg interviene prácticamente en todas las etapas del metabolismo, ya que es capaz de fijarse a polianiones y formar complejos con polifosfatos como el ATP o ADP. Además, el Mg activa enzimas que garantizan la utilización de la glucosa, la alfa descarboxilación de los ácidos grasos, la ejecución normal del ciclo del ácido cítrico y la fosforilación de la cadena respiratoria.

Otras funciones del Mg son como elemento en la regulación del equilibrio ácido-base, ya que interviene en la secreción de diversas glándulas, en el crecimiento, regeneración tisular, en los procesos de anafilaxia y posee acción antiinflamatoria y antiinfecciosa^{1,2,4,6}.

Absorción.

Estudios metabólicos, han demostrado que la cantidad de Mg que se absorbe en el intestino varía entre hombres y mujeres, siendo para los primeros del 21% y para las segundas del 27% por término medio¹.

La vitamina D parece que puede incrementar la absorción del ión, mientras que el calcio, fosfatos, citratos, ácidos grasos, ácido fítico y sales biliares disminuyen la misma^{1,2,4,6}.

Una vez que es absorbido, el ión, es transportado a los tejidos acumulándose en su mayor parte en el tejido óseo donde entrará a formar parte de los cristales de hidroxapatita.

El 20-30% del Mg que constituye la estructura cristalina, es intercambiable y susceptible de los niveles séricos, el resto, en cambio, se encuentra íntimamente incorporado y no es intercambiable^{1,4}.

El Mg muscular, es el de mas fácil movilización, pudiendo dar un índice real de la cantidad del catión en el organismo¹.

Del 95 al 97% del Mg filtrado, es reabsorbido y tan sólo un 3 ó 5% es excretado. Entre las substancias que modifican estos valores, destacar la parathormona (PTH) y calcitonina, que aumentan la reabsorción tubular del Mg, mientras que la hormona antidiurética, la hormona de crecimiento, hormonas suprarrenales, andrógenos y estrógenos , la disminuyen^{1,4,6}.

Señalar que la vida media del Mg en el organismo se ha estimado entre 41 y 181 días. Estos valores son consistentes con observaciones clínicas que muestran que se necesitan tres meses para normalizar en un 20% una disminución en los niveles de Mg¹.

Alteraciones en los Niveles de Magnesio:

Cabe destacar, que en contraste con el calcio; que precisa bien PTH, bien vitamina D para su absorción; el Mg requiere de las dos.

La vitamina D se va a obtener a través de la dieta y de la exposición solar sobre todo. Se ha observado que personas con limitación a la exposición ultravioleta y sin acceso a alimentos ricos en vitamina D, pueden sufrir deficiencias en los niveles de Mg.

Sumado a esto, una pequeña cantidad de Mg es indispensable para la liberación de PTH, si no hay unos niveles mínimos de Mg, esta no se libera, alterándose de esa manera la cantidad de Mg en el organismo¹².

Son alimentos ricos en Mg, la levadura de cerveza, el chocolate en polvo, los frutos secos, legumbres, cereales, frutas, verduras y hortalizas^{1,4}.

Un estudio, realizado por la universidad de Granada, en 1999, demostró que la incorporación de un 3% de cacao en polvo (Cola Cao[®]), en ratas con una dieta deficiente en Mg, evitaba en un 50% la disminución del magnesio en el plasma, manteniendo, además, las concentraciones de calcio y fósforo próximas a los niveles de los animales control¹³.

Sin embargo, hay que tener en cuenta que existen factores que pueden afectar a la biodisponibilidad del Mg^{1,4,6,7}:

- Altas cantidades de calcio y fósforo y bajo aporte de selenio.
- La cantidad de proteína en la dieta puede crear balances positivos o negativos ya que cuanto mayor sea la cantidad de proteína ingerida mayor será la necesidad de Mg por el aumento que se produce en el metabolismo celular.
- El exceso de vitamina C da lugar a un descenso en la concentración tisular de Mg.
- La deficiencia de vitamina E induce una deficiencia de Mg.
- Dietas ricas en grasa saturadas afectan a la asimilación del Mg.

- Condiciones patológicas que aumentan la eliminación del Mg: diarreas o vómitos prolongados, fistulas biliares, pancreatitis crónica, necrosis tubular, cetoacidosis diabética, alteraciones endocrinas (hiperparatiroidismo, hipertiroidismo),...
- Aporte hídrico insuficiente. Un fenómeno muy común. Tiene el mismo efecto que una alta ingesta de sodio, el Mg se elimina en grandes cantidades para mantener la salinidad de la orina.

En niños, la depleción de Mg ocurre a partir de una ingesta inadecuada por varias razones, que en combinación con una mala absorción, vómitos persistentes y/o diarrea e infección. Se ha asociado a menudo con una malnutrición proteico-energética^{1,7}.

Sin embargo, aunque la mayor parte de las deficiencias en Mg son adquiridas, la concentración en sangre de este mineral se ha demostrado que tiene un componente hereditario, con una transmisión de aproximadamente un 30% entre descendientes de una misma familia. Se ha observado que algunos desórdenes raros monogénicos se caracterizan por alteraciones en la homeóstasis del Mg, cabe citar el Síndrome de Gitelman, Síndrome de Bartter y varios síndromes hipomagnasémicos⁷.

Los síntomas de la deficiencia experimental del Mg son^{1,6,7}:

- Hipomagnesemia, hipocalcemia e hipofosfatemia.
- Fasciculaciones musculares, tremor y espasmos musculares.
- Cambios en la personalidad (irritabilidad y nerviosismo).
- Anorexia.

- Nauseas y vómitos.
- Convulsiones.
- Fatiga crónica y alteraciones del sueño.
- Cambios en la permeabilidad de la membrana celular. La carencia del catión puede provocar:
 - a) Una mayor formación en los túbulos renales de oxalato y fosfato cálcico, que debido a su menor solubilidad, podría precipitar dando lugar a la aparición de cálculos^{1,6}.
 - b) Alteraciones en el sistema cardiovascular. Experimentalmente se ha comprobado que la deficiencia en Mg puede alterar los lípidos plasmáticos²⁷ (posiblemente debido al aumento de colesterol libre y triglicéridos) producir espasmos y arritmias cardíacas^{1,6}. Algunos autores^{1,7} relacionan esta situación con la hipertensión (al incrementar la resistencia vascular) y con un incremento de la agregación plaquetaria.
- Alteraciones en el sistema cardiovascular.

En relación con otros minerales, el Mg afecta en los procesos de osteoporosis aumentando los niveles de calcio en sangre y de osteoclastos⁹⁻¹¹, por lo que se podría decir que la deficiencia en Mg conduce a la calcificación, como estudios han demostrado en ratas. Estos fenómenos estarían acompañados por una pérdida de fosfatos¹⁰.

Rude y col (2006) demostraron que dietas con contenido inferior al 10% de las cantidades recomendadas de Mg produce pérdidas óseas en la rata. Es cierto que este déficit es raro en humanos pero demuestra que los extremos en cuanto al contenido en Mg de la dieta, puede poner en serio riesgo de osteoporosis al hombre⁹.

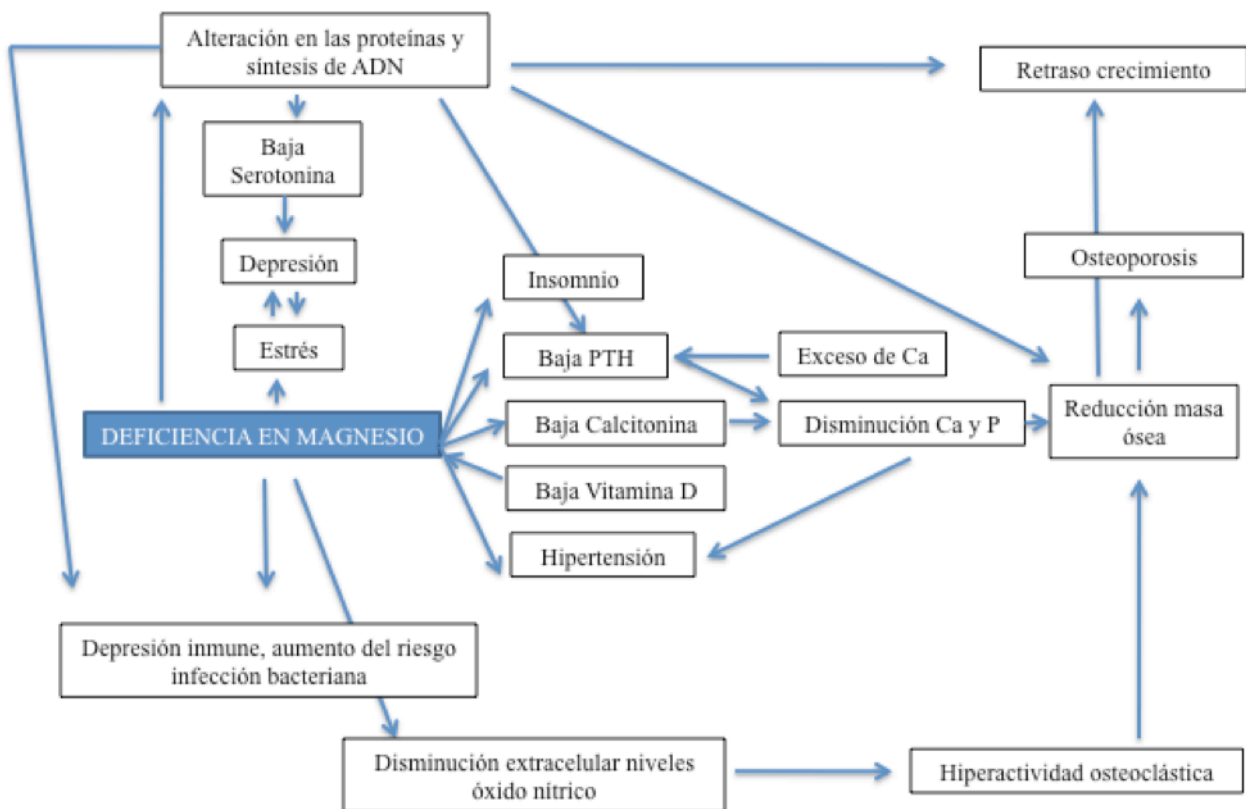


Tabla II. Efectos de la deficiencia de Mg sobre el Ca y P⁸.

Además, el contenido óseo de Mg disminuye en largos períodos de déficit, alterando la calidad del hueso y la resistencia de este a las fracturas^{1,9-11}.

No hay que olvidar que el Mg también afectara a la estructura cristalina del hueso, unos niveles inadecuados de este mineral darían como resultado cristales defectuosos alterando las características fisiológicas de los tejidos duros¹¹.

Estudios epidemiológicos han demostrado que existe una correlación positiva entre el contenido en Mg de la dieta y la densidad de hueso y/o un aumento en la tasa de pérdida ósea en alimentaciones deficientes en este mineral, reforzando, de este modo, la afirmación de que el déficit en Mg es un factor de riesgo para la osteoporosis⁹⁻¹¹.

Otras deficiencias nutricionales como carencias en Ca y potasio (K) pueden influir la pérdida de masa ósea y probablemente, según Rude y col, coexisten con la deficiencia en Mg⁹⁻¹¹.

Las mujeres con osteoporosis postmenopáusica tiene una disminución significativa en marcadores nutricionales, dando a entender de este modo, que la osteoposis esta directamente relacionada con deficiencias alimentarias⁹⁻¹¹.

En la cavidad oral, señalar la aparición de estudios como el de Meisel y col¹⁴ (2005) que relacionan la deficiencia en Mg con la enfermedad periodontal. Habría dos posibles explicaciones a este hecho: por un lado, en la inflamación periodontal, los neutrófilos son activados invadiendo los tejidos periodontales, perpetuando de ese modo la respuesta inflamatoria y la destrucción característica de la enfermedad.

El Mg, como ya hemos comentado, tiene una gran relación con el sistema inmunitario ya que actúa como mediador en la respuesta inmune.

Meisel y col determinaron que la activación de los neutrófilos es un efecto temprano de la hipomagnesemia mientras que la deficiencia en Ca tiene un efecto protector en los procesos inflamatorios¹⁴.

La segunda explicación a la relación Mg-enfermedad periodontal sería, según Meisel y col, debida a que en pacientes diabéticos la excreción renal de Mg se encuentra aumentada lo que conduciría a un déficit en este mineral¹⁴.

Calcio.

Contenido en el Ser Humano:

El calcio (Ca), es el mineral más abundante en el organismo. El contenido medio es de 1 kg en el caso de la mujer y 1,2 kg en el caso del hombre. La mayor parte de este mineral, la vamos a encontrar como componente clave en el hueso y dientes (99%), mientras que el resto forma parte del líquido extracelular, intracelular y como constituyente de diversos tejidos^{1,4,7}.

El calcio óseo lo vamos a encontrar de dos formas^{1,7}:

- Ca intercambiable: constituye cristales amorfos de fosfato monocálcico poco fijados al hueso y muy pequeños, fácilmente intercambiables. Ante una subida en los niveles de Ca se producirá una deposición fácil y lo contrario ante un déficit transitorio, movilizándose desde el hueso a la sangre. Representa un 1% aproximadamente del calcio óseo total.
- Ca en depósito: menos intercambiable. Se encuentra en forma de hidroxapatita combinado con sodio, magnesio, carbonatos y citratos.

Durante el primer trimestre de gestación el depósito de Ca es escaso, aumentando a partir de este momento de forma gradual hasta los 20-30 gr que encontramos al final de la gestación¹.

Para que el crecimiento y calcificación ósea se lleve a cabo de forma adecuada en la infancia, se requieren retenciones medias de Ca de 150 mg/día, alcanzándose en la adolescencia valores de hasta 500 mg/día¹.

En la edad adulta existe un equilibrio depósito/reabsorción que es de 180 gr de Ca aproximadamente, lo que permite que no haya cambios netos en la masa ósea¹.

Sin embargo, este equilibrio se altera a partir de la cuarta o quinta década de la vida, ya que la reabsorción ósea predomina sobre la aposición. Como consecuencia de este fenómeno hay una pérdida de masa ósea, variable en función del sexo (mayor en la mujer) pero totalmente independiente de los hábitos alimenticios e ingesta¹.

Cantidades Recomendadas

Edad	Ingesta Referencia Inferior	Requerimiento Medio	Ingesta Referencia	RDA(1989) Ca	Ingesta Adecuada (1997)	OMS Ingesta Referencia	Europa Rango Aceptable
0-6 meses	240	400	525	400	210	500	
6-12 meses	240	400	525	600	270	600	400
1-3 años	200	275	350	800	500	400	400
4-6 años	270	350	450	800	800	450	450
7-10 años	325	425	550	800	800	500	550
Varones							
11-14 años	450	750	1000	1200	1300	600-700	1000
15-18 años	450	750	1000	1200	1300	500-600	1000
19-24 años	400	525	700	1200	1000	400-500	700
25-50 años	400	525	700	800	1000	400-500	700
+50 años	400	525	700	800	1200	400-500	700
Mujeres							
11-14 años	480	625	800	1200	1300	600-700	800
15-18 años	480	625	800	1200	1300	500-600	800
19-24 años	400	525	700	1200	1000	400-500	700
25-50 años	400	525	700	800	1000	400-500	700
+50 años	400	525	700	800	1200	400-500	700
Gestación	Sin Incremento	Sin Incremento	Sin Incremento	1200	1000	1000-1200	Sin Incremento
Lactancia			+550	1200	1000	1000-1200	+500

Tabla III. Cantidades recomendadas de Ca¹.

Funciones del Calcio:

Además de su papel estructural en la arquitectura esquelética, el Ca interviene como mensajero intracelular en procesos como la excitabilidad nerviosa, la contracción muscular, movimientos y adhesión celular, secreciones glandulares y procesos de división celular^{1,15}.

Su transporte activo en el organismo, es crucial para la producción normal del esmalte dentario en el momento de desarrollo, llevándose a cabo a través de una proteína llamada calbindina¹⁶.

El esmalte es el tejido más calcificado de todos los que constituyen el ser humano. Se forma en dos fases (secreción y maduración) para lo que necesita que los transportadores movilicen bajas o altas cantidades de Ca respectivamente. Este hecho fue ampliamente estudiado por Turnbull y col¹⁶ (2004).

La mineralización del diente se produce antes de la erupción dentaria, en el interior de los huesos maxilares. Durante este proceso, el Ca pasa de la circulación sistémica a través de los ameloblastos para después depositarse en la matriz de esmalte, dónde será incorporado en forma de cristal¹⁶.

Absorción:

De los 0,5-1 gr de Ca que se ingieren al día, se absorben aproximadamente del 25-70% en función de factores dietéticos y hormonales. Entre los hormonales, destacar: la vitamina D₃ y PTH incrementan su absorción, mientras que los corticoides a altas dosis la inhiben. Mientras que dentro de los dietéticos se ha sugerido que el fosfato y

ciertos iones (sodio, potasio, estroncio y magnesio) disminuyen su absorción intestinal^{1,17}.

Durante el crecimiento la absorción alcanza valores del 75% descendiendo en edad adulta al 30-60%¹.

Alteraciones en los Niveles de Calcio:

Es raro encontrar casos de deficiencia de este mineral debido a la gran reserva que representa el hueso. No obstante, ante una deficiencia alimentaria de Ca se van a originar problemas relacionados con la desmineralización ósea.

Las causas más importantes por las que se produce este hecho son: escaso aporte de vitamina D, insuficiente ingesta alimentaria de calcio, excreción aumentada, relación Ca/P muy baja en la dieta y factores que estimulan la secreción de PTH^{1,15-17}.

En cuanto a la primera causa, la alteración en el aporte de la vitamina D, estudios la asocian con defectos en el esmalte en formación en los últimos tres meses de embarazo. Para Cockburn y col¹⁸ (1980), las gestantes con déficit en vitamina D, alumbran niños con mayor predisposición a hipocalcemia y alteraciones en el esmalte de la dentición primaria.

Los factores ligados a la desmineralización ósea progresiva son: la alteración de la relación estrógenos/andrógenos, menor actividad física y una dieta deficiente^{1,18}.

Entre un 10-20% de las mujeres adolescentes, consumen menos de 500mg de Ca al día. Estudios han demostrado que las mujeres puberales se adaptan parcialmente a las

bajas ingesta de Ca en la dieta, lo que las colocaría dentro de un grupo de alto riesgo en edades futuras¹⁹.

Fósforo.

Contenido en el Ser Humano:

Es el segundo elemento más abundante del cuerpo humano. Representa el 1% (500-700 g) del peso corporal. El fósforo (P), junto con el Ca, forma los cristales de hidroxiapatita constituyendo de este modo, la fracción mineral de los huesos, siendo este el que va a funcionar como reservorio del organismo^{1,20}.

La concentración plasmática de P, es más elevada en la infancia, disminuye posteriormente con el crecimiento, para después estabilizarse en edad adulta a partir de los 25 años^{1,17}.

Cantidades Recomendadas

Edad	Ingesta Referencia Inferior	Requerimiento Medio	Ingesta Referencia	RDA(1989) P	OMS Ingesta Referencia	Europa Rango Aceptable
0-3 meses	30	40	50	25	16	50
4-6 meses	30	40	50	25	24	50
7-12 meses	30	40	50	35	32	50
1-3 años	35	50	70	50	50	100
4-6 años	50	75	100	75	50	130
7-10 años	75	110	150	100	102	150
Varones						
11-14 años	100	150	200	150	170	180
+15 años	100	150	200	200	200	200
Mujeres						
11-14 años	100	150	200	150	170	180
+15 años	100	150	200	180	170	200
Gestación			+100	400	370-470	400
Lactancia			+60	280	270	350

Tabla IV. Cantidades recomendadas de P¹.

Funciones del Fósforo:

Es un componente esencial en la mineralización ósea, de las membranas de los fosfolípidos, de nucleótidos proveedores de energía y es un elemento estructural del ADN y ARN^{1,21,22}.

Esta relacionado con el metabolismo energético, ya que forma parte de la molécula de adenosintrifosfato o ATP, la cual es la principal fuente de energía en procesos metabólicos así como en la contracción muscular. También forma parte de segundos mensajeros hormonales y de fosfoproteínas^{1,21,22}.

Absorción

La absorción de fosfatos en el organismo esta influenciada por el Ca. En condiciones normales, se absorbe en el intestino el 70% del fosfato ingerido, sin embargo, incrementos en la concentración de calcio con una relación Ca: P mayor a 3 puede producir un descenso en la absorción del segundo^{1,4}.

De este modo, una proporción Ca/P en la dieta consumida, es importante para la movilización y la mineralización del hueso^{1,21,22}.

La homeostasis de este mineral, igual que ocurría en el Ca, esta modulada por la vitamina D, por ello, una restricción a nivel del P mejoraría la utilización del Ca¹.

Alteración en los Niveles de Fósforo:

Debido a la alta disponibilidad del P en la dieta (carnes, pescados, bebidas refrescantes, ...) es difícil una deficiencia alimentaria. La hipofosfatemia se observa en el 3% de los pacientes hospitalizados, llegando a cifras del 28% en pacientes críticos o con enfermedades infecciosas^{1,4}.

Yeh y col (1986) observaron que la administración crónica de cafeína provocaba un balance negativo de sodio (Na), potasio (K) y fósforo en ratas de experimentación mientras que los niveles de Ca y Mg no sufrían modificaciones significativas^{23,24}.

Por otro lado, la hiperfosfatemia es un síntoma característico en el hipoparatiroidismo, produciéndose depósitos en los tejidos blandos de sales de calcio y fosfato¹.

Hierro.

El Hierro (Fe), es uno de los nutrientes más investigados y mejor conocidos. Su deficiencia es la más común y particularmente prevalente en países en desarrollo, a pesar de que puede ser prevenida en gran medida^{1,25}.

Contenido en el Ser Humano:

El Fe es el elemento traza u oligoelemento, más abundante en los organismos vivos. El contenido corporal total es aproximadamente de 3,8g en el hombre y 2,3g en la mujer^{1,25,26}.

El Fe presente en el organismo se puede agrupar en dos categorías: aquel que interviene de forma hemínica y no hemínica, en funciones enzimáticas y metabólicas, y el Fe asociado a transporte y reservas^{1,25,27}.

- Fe hemínico o Fe hemo: Se trata de aquel que participa en la estructura del grupo hemo o Fe unido a porfirina, este último se encuentra formando parte de la hemoglobina, mioglobina y diversas enzimas, como citocromos. Este tipo de Fe sólo se encuentra en alimentos de origen animal, constituyendo el 40% del Fe total.

Hay que tener en cuenta que la hemoglobina contiene más del 65% del Fe corporal. Esta formada por cuatro cadenas de hemoglobina, cada una asociada a un grupo hemo que contiene un átomo de Fe^{1,25,27}.

- Fe no hemo: Este tipo de Fe se encuentra asociado a un grupo importante de enzimas relacionadas con el metabolismo oxidativo. Destacar: las metaloflavo

proteínas, aconitasa, enzimas del ciclo de los ácidos tricarboxílicos, fosfoenolpiruvato carboxikinasa y ribonucleico reductasa (enzima indispensable para la síntesis de ADN).

Esta forma de Fe se encuentra en alimentos de origen animal, suponiendo un 60% del total^{1,26}.

Cantidades Recomendadas:

Las cantidades recomendadas de este mineral, oscilan según las distintas recomendaciones desde un mínimo de 8mg/día en el caso de los hombres y 18mg/día en el caso de las mujeres¹.

Edad	Ingesta Referencia Inferior	Requerimiento Medio	Ingesta Referencia	RDA(1989)	OMS (1961)	Europa Rango Aceptable
0-3 meses	0,9	1,3	1,7	6		
4-6 meses	2,3	3,3	4,3	6	8,5	
7-12 meses	4,2	6,0	7,8	10	8,5	6
1-3 años	3,7	5,3	6,9	10	5,0	4
4-6 años	3,3	4,7	6,1	10	5,5	4
7-10 años	4,7	6,7	8,7	10	9,5	6
Varones						
11-14 años	6,1	8,7	11,3	12	15,0	10
15-18 años	6,1	8,7	11,3	12	9,0	13
10-+50 años	4,7	6,7	8,7	10	9,0	9
Mujeres						
11-14 años	8,0	11,4	14,8	15	16,0	18-22
10-50 años	8,0	11,4	14,8	15	12,5	17-21
+50 años	4,7	6,7	8,7	10	9,5	8
Gestación	Sin Incremento	Sin Incremento	Sin Incremento	30	Sin Incremento	Sin Incremento
Lactancia	Sin Incremento	Sin Incremento	Sin Incremento	15	10,5	10

Tabla V . Cantidades recomendadas de Fe¹.

Dentro de los alimentos con alto contenido en Fe, destacar las carnes, entre ellas el hígado y productos derivados de esta víscera.

Por otro lado, las legumbres, frutos secos y verduras foliáceas son así mismo ricas en Fe aunque su absorción es menor ya que se encuentran en forma no hemo^{1,28}.

Funciones del Fe:

Las principales funciones del Fe son^{1,28}:

- ✓ Transportar oxígeno
- ✓ Participar en los procesos redox de las reacciones de transferencia de electrones en la cadena respiratoria, facilitando, de este modo, la fosforilación oxidativa que permite convertir el ADP en ATP.

Absorción:

En cuanto a biodisponibilidad, el Fe es uno de los minerales con mayor rango de oscilación ya que encontramos cantidades desde el 1% al 50%, a pesar de estos datos, en dietas occidentales se podrían considerar unos niveles medios de absorción de un 10 a un 15%¹.

El Fe único entre los nutrientes inorgánicos ya que su control primario de la homeóstasis del organismo reside en la absorción y no en la excreción como ocurre con el resto de los minerales³.

Para que este mineral sea absorbido, su forma alimentaria ha de haber sufrido un proceso de reducción del estado férrico al ferroso, requiriendo para ello de la actuación de la pepsina y del ácido clorhídrico gástrico, para separarlo de sus uniones¹.

En el caso de Fe hemo este proceso no se produce ya que esta en estado ferroso.

Alteración en los Niveles de Hierro:

En cuanto al defecto en las cantidades de Fe, su carencia, sin anemia puede producir cuadros como¹:

- Reducción de la capacidad física para realizar esfuerzos.
- Reducción de la capacidad intelectual.
- Incremento del riesgo de prematuridad en la gestación.
- Disminución de las defensas frente a agentes infecciosos.

La deficiencia en Fe se produce cuando las reservas de este mineral se agotan, la anemia es el resultado de unos niveles de hemoglobina en sangre por debajo de lo normal en un individuo. Este cuadro es más frecuente en niños, adolescentes, mujeres fértiles, embarazadas y de edad avanzada^{3,29}.

Por otro lado, el exceso de Fe en el organismo humano no produce cuadros conocidos debido a una ingesta alimentaria excesiva. Sin embargo, sí se han descrito casos de intoxicación por tomas ingentes de Fe medicinal¹.

En situaciones de déficit en Mg, se produce un aumento de los niveles de Fe en diferentes tejidos. Esto puede ser debido, a mecanismos que impliquen una mayor

fragilidad y destrucción de los eritrocitos. Anemias hemolíticas se han observado en algunas de las deficiencias experimentales en Mg²⁵.

Interacciones intestinales Fe-Mg junto con la activación de la eritropoyesis como resultado de la hemólisis favorece la absorción intestinal de Fe. Un aumento en la absorción de Fe puede dar lugar a una saturación del mismo en el organismo. Un aumento en la absorción de Mg se ha encontrado en ratas sometidas a una dieta con carencias en Fe. Por tanto, cabe esperar la relación contraria entre estos dos minerales, es decir, una ingesta deficiente en Mg puede provocar un aumento de la absorción intestinal de Fe²⁵.

Enfermedades como la arteriosclerosis, desórdenes neurodegenerativos e incluso cáncer pueden estar ligados a situaciones crónicas de toxicidad de Fe. Esta premisa se basa en la habilidad del Fe de generar especies reactivas oxigenadas y/o estimular la peroxidación lipídica, modificar proteínas y causar daños a los ácidos nucleicos. Estas reacciones se han categorizado como “estrés oxidativo”²⁵.

Zinc.

El Zinc (Zn), desde el año 1960, se considera un mineral esencial en la nutrición humana, al observarse que el hipogonadismo se debía a carencias severas, en otras causas, de este mineral^{1,30}.

Además, se ha demostrado que es un mineral esencial para un crecimiento y desarrollo normal así como para un correcto mantenimiento de los huesos³¹.

Contenido en el Ser Humano:

La cantidad total de Zn que encontramos en el individuo adulto varía entre 1,5 y 2,5 g, debido a varios factores¹:

- La concentración en los tejidos blandos, es estable e independiente de los niveles ingeridos, sin embargo, en otros tejidos como son el hueso, sangre y cabello, su concentración es un fiel reflejo de la ingesta.
- El hueso y tejido muscular suponen un 90% del total de Zn en el organismo.
- Las concentraciones más altas se encuentran en la piel, uñas, pelo, retina y tejidos gonadales masculinos.
- La sangre total contiene diez veces, aproximadamente, más Zn que el plasma debido a que forma parte de la enzima eritrocitaria anhidrasa carbónica.

Cantidades Recomendadas:

En el caso de hombres y mujeres adultos, las ingestas diarias recomendadas son de 11mg y 8mg respectivamente.

Se ha observado una disminución en la ingesta de Zn con la edad. Esto es debido a una disminución en la ingesta de carne, reflejándose a nivel orgánico en una bajada de la concentración de Zn en plasma de sujetos en edad avanzada^{32,33}.

En la siguiente tabla se pueden observar las cantidades recomendadas dentro de cada grupo de edad¹.

Edad	Ingesta Referencia Inferior	Requerimiento Medio	Ingesta Referencia	RDA(1989)	OMS (1996)	Europa Rango Aceptable
0-3 meses	2,6	3,3	4,0	5,0	5,3	
4-6 meses	2,6	3,3	4,0	5,0	3,1	
7-12 meses	3,0	3,8	5,0	5,0	5,6	4,0
1-3 años	3,0	3,8	5,0	10,0	5,5	4,0
4-6 años	4,0	5,0	6,5	10,0	6,5	6,0
7-10 años	4,0	5,4	7,0	10,0	7,5	7,0
Varones						
11-14 años	5,3	7,0	9,0	15,0	12,1	9,0
15-18 años	5,5	7,3	9,5	15,0	13,1	9,0
+19 años	5,5	7,3	9,5	15,0	9,4	9,5
Mujeres						
11-14 años	5,3	7,0	9,0	12,0	10,3	9,0
19-50 años	4,0	5,5	7,0	12,0	10,2	7,0
+50 años	4,0	5,5	7,0	12,0	6,5	7,0
Gestación	Sin Incremento	Sin Incremento	Sin Incremento	15,0	7,3-13,3	Sin Incremento
Lactancia						
0-4 meses			+6,0	19,0	14,0	+5,0
+4 meses			+2,5	16,0	14,0	+5,0

Tabla VI. Cantidades recomendadas de Zn¹.

Funciones del Zn:

El Zn es uno de los minerales más importantes del organismo ya que es un componente esencial en algunas de las 300 enzimas involucradas en diversas rutas metabólicas³³.

Entre las funciones más importantes, destacamos³³⁻³⁶:

- Actividad reguladora de enzimas del metabolismo intermedio.
- Funciones de la membrana celular: el Zn puede afectar a la unión de proteínas a las membranas, dando lugar a una redistribución celular del ión con incremento de la actividad de la proteincinasa C.

Así mismo es fundamental para la estabilización de las membranas ya que una vez hincada la formación de peróxidos ya que se requiere, junto al cobre, para que la enzima superóxido dismutasa elimine los aniones superóxido. Además, una deficiencia en Zn aumentaría el contenido de Fe ferroso.

- Expresión génica: las concentraciones nucleares de Zn reflejan la ingesta dietética.

El Zn es esencial en el ADN Y ARN así como la síntesis proteica. Estas funciones influyen de manera significativa tanto en la proliferación como en la maduración neuronal³⁰.

- Influencia en el sistema inmune: al actuar sobre los niveles plasmáticos de glucocorticoides puede afectar de forma severa al sistema inmunológico.

Subrayar que se ha demostrado que juega un papel fundamental tanto fisiológico como patofisiológico en la regulación del metabolismo óseo. Esto es debido a que el Zn es un componente de la fosfatasa alcalina, una disfunción de esta enzima lo que podría explicar la relación entre las enfermedades de los huesos y la deficiencia en Zn³¹.

Por ahora no se conoce el mecanismo por el que el mineral que nos ocupa es capaz de estimular la formación ósea así como su mineralización, aunque se ha sugerido que podría favorecer la síntesis de proteínas en los tejidos duros de las ratas recién nacidas³¹.

Absorción:

El Zn de la ingesta se encuentra combinado con proteínas y ácidos nucleicos. Se absorbe aproximadamente de un 20-30% según el tipo de dieta, disminuyendo este porcentaje con la edad¹.

Dentro del organismo, el intestino es el principal órgano regulador para el mantenimiento de un equilibrio adecuado.

Así mismo, dentro del intestino, diversos factores pueden afectar a la cantidad de Zn que se absorba¹:

1. Factores dentro del propio organismo: las prostaglandinas pueden modificar la absorción del catión. Se ha observado, que dentro de ellas, la PGE2 la incrementa, mientras que la PGF2, por el contrario, la disminuiría.

2. Factores alimentarios: el Zn proveniente de vegetales es menos disponible debido al ácido fítico con el que forma complejos insolubles. Además, el Ca y otros iones incrementan los efectos adversos del ácido fítico.

Otros minerales, como el Fe inorgánico a dosis farmacológicas también altera la absorción de Zn. Se ha observado retrasos en el crecimiento en pacientes pediátricos con ingestas de suplementos de Fe y no suplementados con Zn³¹⁻³⁴.

Por lo tanto, la interacción entre distintos minerales puede ser uno de los factores que más influya en la disponibilidad del Zn.

Además, el Zn no se almacena en el organismo, sino que el exceso es eliminado del cuerpo vía fecal, a través de la secreción pancreática, biliar, mucosal y células mucosales descamadas¹.

La homeóstasis del Zn esta regulada por la absorción-excreción en respuesta a las cantidades ingeridas. En dietas con bajos niveles de Zn, el mantenimiento de la homeóstasis se produciría por un aumento en la absorción del mineral así como una reducción de la eliminación urinaria y endógena fecal. En casos de dosis elevadas de Zn, se realizaría el balance contrario¹.

Alteración en los Niveles de Zn:

La deficiencia de este catión da lugar principalmente a³⁰⁻³⁶:

- Anorexia.
- Reducción del crecimiento.
- Alteraciones en la maduración sexual.

- Deficiencias del sistema inmune.
- Lesiones cutáneas y pérdida del cabello.
- Diarrea.
- Cicatrización lenta.
- Alteraciones sensoriales como pérdida del gusto, alteraciones olfativas, ceguera nocturna.

En personas afectadas por quemaduras extensas, alteraciones renales o sujetos sometidos a nutrición parenteral o hemodiálisis es frecuente observar déficits en este mineral.

Un efecto interesante de la deficiencia en Zn es el hecho de que produce una mayor susceptibilidad a las caries dentales. Este efecto sería tanto a nivel preeruptivo como posteruptivo. Brown y col. Demostraron que en casos de una ingesta continuada insuficiente en Zn (<1 ppm de Zn) producida durante la lactancia, provocaba en los descendientes un aumento en la susceptibilidad a la caries dental. Es decir, el contenido en Zn en la leche materna y en la sangre disminuye drásticamente lo que da lugar a una disminución significativa del contenido en Zn del esmalte y dentina produciendo una fragilidad de los tejidos que sería aprovechada por las bacterias cariógenas^{35,36}.

En cuanto al caso contrario, el Zn es el menos tóxico de todos los oligoelementos de la naturaleza. Su principal efecto tóxico está provocado por la interacción de Zn-Cu dando como resultado una anemia por deficiencia de Cu^{31,38,39}.

La mucosa intestinal es el lugar de competición entre estos dos minerales . Una disminución de Zn en la dieta permite una gran absorción de Cu^{33,40}.

Los niveles de Ca, Mn, sodio (Na) y potasio (K), en algunas regiones del cerebro, también pueden verse alteradas por el status en Zn de un sujeto^{41,42}.

Una deficiencia marginal de Zn induce una captación celular anormal de Mg y Ca ya que se produciría un defecto en la función de la membrana. Un aumento en la retención celular de Mg y una alteración de utilización del Ca son, aparentemente, indicadores de una deficiencia marginal de Zn^{41,43-45}.

También se han encontrados intoxicaciones debidas al consumo de alimentos preparados en recipientes galvanizados por la cesión del metal a través de los mismos¹.

Cobre.

El cobre (Cu), es uno de los metales de transición más abundante de la naturaleza. Participa en gran número de funciones catalíticas lo que hace que sea totalmente indispensable^{1,46}.

Contenido en el Ser Humano:

En el adulto medio, el contenido total de Cu oscila entre 50-120mg. De esa cantidad, el hígado contiene un 13% y el cerebro un 9% mientras que el tejido muscular supone el 40% del total. El hígado y el bazo son los almacenes principales del Cu dentro del organismo¹.

Cantidades Recomendadas:

El Cu se encuentra en más altas concentraciones, en la porción germinal de las semillas de los cereales integrales. Como fuentes secundarias destacar: los frutos secos, leguminosas, hígado crustáceos y moluscos¹.

El consume medio de Cu diario oscila entre 1,2-1,7mg, lo que supone 900mg/día para adultos de ambos sexos¹.

Edad	Reino Unido Ingesta Referencia	RDA (1989)	OMS (1996)	Europa Ingesta Referencia
0-3 meses	0,3	0,4-0,6	0,33-0,5	
4-6 meses	0,3	0,4-0,6	0,37-0,62	
7-12 meses	0,3	0,6-0,7	0,6	0,3
1-3 años	0,4	0,7-1,0	0,56	0,4
4-6 años	0,6	1,0-1,5	0,57	0,6
7-10 años	0,7	1,0-2,0	0,75	0,7
Varones				
11-14 años	0,8	1,5-2,5	1,0	0,8
15-18 años	1,0	1,5-3,0	1,33	1,0
+19 años	1,2	1,5-3,3	1,15	1,1
Mujeres				
11-14 años	0,8	1,5-2,5	1,0	0,8
15-18 años	1,0	1,5-3,0	1,15	1,0
+19 años	1,2	1,5-3,0	1,15	1,1
Gestación	Sin Incremento	Sin Incremento	Sin Incremento	Sin Incremento
Lactancia	+0,3	Sin Incremento	1,25	+0,3

Tabla VII. Cantidades recomendadas de Cu¹.

Funciones del Cu:

El Cu forma parte de las enzimas oxigenasas, responsables de mediar reacciones en las que el oxígeno molecular o especies similares (radicales superóxido) son producidos, formándose agua o peróxido de hidrógeno como resultado del proceso¹.

Entre las enzimas dependientes del Cu¹:

- Citocromo C oxidasa. Cataliza la reacción última en la fosforilación oxidativa.
- Tirosinasa: indispensable en la formación de melanina.
- Lisiloxidasas: para enlaces cruzados colágeno elastina.

- Ferroxidasa I y II indispensables en la formación de óxido férrico a partir de óxido ferroso, permitiendo de este modo su unión a la transferrina la cual transporta el Fe a los distintos órganos.
- Dopamina-beta-hidroxilasa.
- Por último, forma parte del grupo de enzimas que participan en la mielinización.

Pero sin lugar a dudas, la función más importante para nosotros, es que los iones Cu (Cu^{2+}) se ha demostrado tienen un gran poder cariostático en roedores. Sumado a este potencial, en humanos, reducen la formación de placa bacteriana y neutralizan la habilidad de ésta para producir ácidos tras una exposición prolongada a compuestos azucarados⁴⁶.

El mecanismo de acción por el que los iones Cu^{2+} actúan en las superficies dentarias sería a través tanto de la inhibición del metabolismo bacteriano como del crecimiento bacteriano en esas zonas. Se ha especulado sobre la posibilidad de que este mecanismo de acción suponga la formación de un tipo de capa insoluble de fosfato de cobre sobre la superficie del diente⁴⁶.

Absorción:

La absorción del Cu se lleva a cabo en el duodeno y no varía con la edad y el sexo. En cambio, sí se ha demostrado que altos niveles de Zn pueden inhibir la absorción intestinal de Cu, sin embargo, no parece que tenga efectos el caso contrario¹.

Del mismo modo, la absorción y la excreción del Cu se encuentra reducida en situaciones de alta ingesta de Fe¹.

Una vez absorbido, se une a la albúmina principalmente y a la transcuprina para poder llegar al hígado y formar parte de la ceruloplasmina así como de otras proteínas enzimáticas¹.

El Cu de las secreciones salivales, gástricas e intestinales es reabsorbido en mayor proporción. Menos del 3% del ión se pierde por vía urinaria¹.

Alteraciones en los Niveles de Cu:

La deficiencia en Cu se asocia con dietas pobres en el catión o por la administración de nutrición parenteral¹.

Se ha descrito que la ingesta de una relación Cu/Zn baja se encuentra asociada con una mayor incidencia de cáncer de estómago.

Por vía oral, este mineral no supone una gran toxicidad, si bien sus efectos estarían producidos por las interacciones que se producirían tanto a nivel de la absorción como de la distribución del Fe y Zn. Un exceso de Cu daría lugar a cuadros hemolíticos, acompañados de lesiones en el hígado y cerebro¹.

Manganeso.

Es uno de los minerales esenciales para los organismos vivos. Actualmente se cree que el Manganeso (Mn) puede ser un factor que contribuya al desarrollo de enfermedades en el ser humano^{1,47,48}.

Contenido en el Ser Humano:

En ser humano contiene 10-20mg de Mn, encontrándose la mayor concentración en el hígado.

El almacén pasivo de Mn se encuentra en el tejido óseo ya que el organismo no puede utilizarlo con fines metabólicos y sólo se libera como resultado del metabolismo normal del propio hueso o como producto de la reabsorción ósea¹.

Cantidades Recomendadas:

Este catión se encuentra en gran cantidad en los frutos secos, granos de cereales y leguminosas. El contenido de las frutas y verduras depende de la composición del sustrato. En contraposición, las carnes, leche y pescados tienen niveles muy bajos de Mn¹.

El *Nutrition Working Group of ILSI Europe* considera que no existen datos válidos que justifiquen unas cantidades determinadas de Mn. No obstante aportan un rango de 1-15mg/día como cantidades recomendadas del catión¹.

Funciones del Mn:

El Mn, se encuentra relacionado con enzimas involucradas en la síntesis de glicoproteínas y mucopolisacáridos que intervienen en la formación de la matriz orgánica del cartílago, así como de protrombina y heparina¹.

El Mn, además, puede actuar como metal divalente no específico para diversas enzimas, pudiendo ser sustituido por el ión divalente del Mg y así la piruvato carboxilasa puede utilizar con igual eficacia ambos iones^{1,45,50}.

Absorción:

El mecanismo de absorción es muy complejo y aún hoy poco conocido. Se especula con que el Fe y Mn participan de mecanismos comunes de absorción. Altos niveles de Mn pueden provocar anemia ferropénica, así como niveles altos de Fe pueden reducir la absorción del primero¹.

Estudios han demostrado que el contenido de Mn en tejidos del sistema nervioso central y órganos viscerales, es mayor en ratas que consumen una dieta deficiente en Mg. En el extremo contrario, la suplementación de Mg en el agua o alimentos reduce la absorción en ratas del Mn administrado por vía oral^{45,50}.

Así mismo, se ha demostrado la existencia de una interacción antagónica con el cobalto (Co), Ca, P y fósforo.

En el caso del Ca y P, un exceso en la dieta de estos dos minerales, provoca una drástica disminución de la utilización del Mn en pollos. Estos datos sugieren que tanto

el Ca como el P tienen efectos antagónicos sobre el Mn, produciendo una disminución de la absorción del mismo en caso de exceso de los otros dos minerales^{49,52}.

El Fe de la dieta también tiene efectos sobre la disponibilidad del Mn. La absorción del Mn está negativamente asociada con la concentración de ferritina sérica en mujeres jóvenes sanas. En casos de baja concentración de ferritina en sangre, la absorción de Mn aumenta de forma significativa. Esta interacción, se cree ocurre, por un mismo mecanismo de absorción del Mn y el Fe, por lo que factores que influyen en la absorción de Fe (tipo de dieta grasa, grasas saturadas) puede que indirectamente afecten a la absorción de Mn (en una palabra, grasas de la dieta)^{51,53,54}.

Alteraciones en los niveles de Mn:

La falta del catión durante el crecimiento embrionario da lugar a un pobre desarrollo de los otolitos, gránulos de carbonato cálcico del laberinto responsables de la percepción de movimientos y desplazamientos de la cabeza y cuerpo¹.

La deficiencia en Mn parece estar implicada en alteraciones en la mineralización del hueso¹.

Los minerales en la Dentición.

El esmalte esta compuesto por un 96% de mineral inorgánico y un 4% de sustancias orgánicas y agua. Como ya se ha mencionado, el esmalte humano se organiza en cristales de hidroxiapatita, los cuales contienen trazas de elementos inorgánicos como el Mg^{55,56}.

Composición dentaria:

El desarrollo de los tejidos duros del diente es un proceso dinámico altamente regulado que culmina con la formación de estructuras mineralizadas complejas, optimizadas para llevar a cabo funciones específicas⁵⁷.

Los elementos son componentes básicos en todos los tejidos de los organismos. Algunos de ellos, juegan un papel indispensable en el correcto funcionamiento de tejidos y órganos⁵⁸.

Dentro de los organismos vivos, los tejidos blandos se caracterizan por un intercambio dinámico de elementos. Los tejidos duros, que forman huesos y dientes, acumulan la mayor cantidad de metales pesados del cuerpo^{58,59}.

La estructura de los tejidos duros se forma durante el desarrollo fetal. El principal componente de estos es la hidroxiapatita. Bajo condiciones fisiológicas, durante el proceso de mineralización, varios minerales pueden incluirse en la estructura principal. El significado de esta incorporación puede ser fisiológica (Ca, Mg, Na, K, ...) o tóxica (Pb, Cd, ...). La hidroxiapatita que forma los dientes tiene una estructura particularmente estable sin embargo, durante la vida del sujeto puede sufrir variaciones en su composición elemental^{58,59}.

Pero no sólo el paso del tiempo modifica de forma significativa la composición básica de los tejidos duros dentarios, es necesario considerar, además ciertos tipos de enfermedades metabólicas.

Gutowska y col (2011) analizaron los dientes de ratas Wistar a las que previamente se les había inducido diabetes tipo I. Tras diez días se extrajeron muestras de dientes y sangre con el fin de determinar su concentración mineral en relación a un grupo control⁶⁰.

La concentración de glucosa y estradiol en el suero fueron significativamente mayor en el grupo afectado por la diabetes tipo I. En el mismo grupo, se obtuvo unos niveles de fluoruro significativamente menores, tanto en los tejidos dentarios como en el suero extraído. En contraposición, la concentración de Ca y Mg resultó significativamente mayor en el suero de los roedores diabéticos, en los que además se observaron niveles significativamente mayores de Mg en sus piezas dentarias en contraposición al grupo control⁶⁰.

Por lo tanto, estos resultados indicaron que los cambios metabólicos asociados a la diabetes afectan la composición mineral de los tejidos duros del diente haciéndolos, de este modo, más propensos a lesiones cariosas cuyo inicio y progresión estaría facilitado por dicho cambio en la estructura básica dental⁶⁰.

Señalar también la importancia del Zn dentro de los tejidos duros. Como ya hemos expuesto anteriormente, el Zn es un elemento esencial para la vida. El cuerpo humano contiene aproximadamente 2g de Zn de los cuales el 60% esta presente en músculos, 30% en hueso y 5% en la piel. Juega un papel fundamental en la biomineralización ya que estimula el crecimiento óseo e influencia la actividad osteoclástica⁶¹.

El retraso en el crecimiento esquelético de los animales se asocia con condiciones ligadas a una deficiencia de este mineral, así como situaciones en las que se observa una densidad ósea menor se han comprobado unidas a dietas inadecuadas en Zn⁶¹.

En cuanto al tejido dentario en particular, grandes cantidades de Zn son incorporadas en el esmalte antes de la erupción dental, pero después de esta la concentración de este ión en la superficie del diente aumenta de forma considerable, por lo que puede que los fluidos orales sean el vehículo empleado. Esta cantidad extra de Zn se irá perdiendo entre la segunda y tercera décadas de la vida del sujeto debido a los procesos cariosos y a la de y remineralización que afecta al esmalte^{61,62}.

Convendría pues, debido a la importancia que estos minerales tienen en la composición del tejido dentario, hacer un apunte sobre la organogénesis dentaria: amelogénesis, dentinogénesis, cementogénesis y calcificación dentaria.

Desarrollo dentario.

A grandes rasgos, al final de la sexta semana de desarrollo intrauterino, tiene lugar la aparición del primer signo de diferenciación dental: la lámina dental. Esta estructura consiste en un engrosamiento ectodérmico a nivel del borde superficial de la mandíbula primero y después del maxilar. Esta constituido por células ectomesenquimales que han migrado desde la cresta neural⁶³⁻⁶⁶.

Esta lámina dental se dividirá en diez acúmulos ectodérmicos en cada maxilar constituyendo, de este modo, los órganos del esmalte que se van hundiendo y

profundizando en el mesénquima subyacente, que a su vez, prolifera a este nivel formando la papila dental⁶³⁻⁶⁶.

El conjunto de órgano del esmalte (en forma de campana) y papila dental (en su interior) constituyen los esbozos o gérmenes dentarios⁶³⁻⁶⁶.

Posteriormente el órgano del esmalte se diferencia en tres regiones: el epitelio externo, interno y el retículo estrellado. El mesénquima que forma la papila dental se hace cada vez más compacto⁶³⁻⁶⁶.

En la zona de contacto epitelio-mesénquima de los gérmenes dentarios se produce un proceso de diferenciación celular específico, que va a dar lugar a los odontoblastos y ameloblastos⁶³⁻⁶⁶.

Amelogénesis:

El desarrollo del esmalte se produce a través de los ameloblastos, diferenciados a partir de células de la capa interna del epitelio dentario. Ya que la formación del esmalte implica la secreción de una matriz orgánica, los ameloblastos van a funcionar en este período como células secretoras⁶³⁻⁶⁶.

Estas células van a tomar los materiales que necesitan del flujo sanguíneo, depositándolos de forma globular unos sobre otros⁶³.

La matriz del esmalte se forma a través de unas vesículas de secreción rellenándose con un material puntiforme al microscopio electrónico. Las vesículas se van trasladando hacia la superficie de la célula, transfiriendo el material granular por exocitosis al exterior de la célula⁶³⁻⁶⁶.

Estas pequeñas formaciones granulares, calcosferitas, tienen 4 μ de diámetro, y van a crecer por fusión incompleta, lo que dará lugar a las estriaciones típicas del esmalte. Cada una es depositada sobre otra, formando de este modo, el prisma de esmalte⁶³⁻⁶⁶.

La matriz se mineraliza poco tiempo después de formarse quedando tan sólo una estrecha franja de 0,1 μm^2 de matriz sin mineralizar⁶³⁻⁶⁶.

Así, la capa de esmalte va adquiriendo espesor, lo que permite a los ameloblastos desarrollar una prolongación característica, llamada proceso de Tomes. La mineralización de la matriz segregada en la prolongación se llevará a cabo a través del depósito de cristales formando ángulos rectos. Este hecho permitirá a los ameloblastos articularse entre sí por medio de complejos de unión localizados en la base y prolongaciones de Tomes así como en otras células⁶³⁻⁶⁶.

A medida que se van formando los cristales de las capas más superficiales, los ameloblastos se diferencian a células del epitelio reducido que posteriormente participaran en la erupción y recubrimiento epitelial. Sin embargo, la dirección del movimiento de estas células no es a lo largo de su eje mayor, sino formando una angulación con el mismo, de este modo, se produce la orientación cristalina final del esmalte⁶³⁻⁶⁶.

Una vez formada la primera capa del tejido dentario, las prolongaciones de Tomes desaparecen produciéndose unos plegamientos internos característicos, en la membrana plasmática de las células formadoras de esmalte⁶³⁻⁶⁶.

El espacio extracelular entre los ameloblastos y los complejos de unión, antes mencionados, se va a rellenar con prolongaciones digitiformes emitidas por los primeros durante la fase de maduración⁶³.

Simultáneamente la mineralización continúa a través del crecimiento cristalino. Los cristales crecen en grosor en tanto que su longitud y anchura es prácticamente idéntica⁶³.

Según Pindborg y Mjör⁶³ (1974) en las fases más incipientes de mineralización, los fosfatos están más implicados que los iones cálcicos. No obstante aún se desconoce el significado del aumento en la actividad fosfatásica en los lugares de mineralización.

Esmalte.

El esmalte dental es el tejido más duro del ser humano, rodeado por un medio ambiente muy particular como es la cavidad oral (saliva, placa bacteriana) que a su vez permite la estabilidad y protección del diente^{67,68}.

Es un tejido acelular formado por cristales de hidroxiapatita, agua y materia orgánica (lípidos y proteínas) en un 96%, 3% y 1% de su peso respectivamente^{7,67-69}.

La composición química y la mineralización del esmalte dental se ha observado que varía entre los diferentes dientes presentes en la cavidad oral. El grado de mineralización y el contenido químico del esmalte, se ha demostrado en los últimos años, que tiene gran importancia en la tasa de difusión entre los dientes deciduos y los permanentes⁷⁰.

A nivel ultraestructural, el esmalte consiste en prismas de hidroxiapatita que incorporan Ca en su composición. Dentro de este tejido pueden darse además diferentes reemplazos en la estructura elemental, por ejemplo, el Ca puede ser reemplazado por Na, Mg, Zn; el grupo carbonato puede sustituir al fosfato y el F al hidroxilo. Estos cambios tendrían efecto especialmente en cuanto a la solubilidad del esmalte a pH bajo.

En particular, regiones Ca deficientes y ricas en carbonato son más propensas a la desmineralización mientras que el fluoruro aumenta la resistencia a la desmineralización ácida^{62,67,71-73}.

Subrayar que tanto la organización como el tamaño de los cristales de apatita influyen las propiedades ópticas del esmalte así como su dureza. Las propiedades cristalográficas de la hidroxiapatita sintética están en gran medida determinadas por esas incorporaciones minerales. Algunos de los elementos que encontramos en pequeña cantidad expanden el entramado cristalino de la hidroxiapatita a lo largo de su eje (Fe, Sr y Zn) mientras que otros lo disminuyen (SiO_4^{4-} , CO_3^{2-} , Mg, Zn)⁶⁹⁻⁷³.

Los elementos se distribuyen de manera diferente en el esmalte y dentina. Cu, Pb, Co, Al, I, Sr, Se, Ni y el Mn son más abundantes en el esmalte, mientras que el Fe y el F se encuentran en mayor cantidad en la dentina. Además, existen variaciones dentro de un mismo tejido, por ejemplo, Fe, Pb y Mn son más frecuentes en la parte externa del esmalte en relación con las porciones más internas de este. El significado de estos datos podría ser que muchos de ellos provienen del medio oral y son incorporados a la estructura cristalina tras la erupción durante la calcificación dentaria^{62,69,73}.

Ghadimi y col en 2013 se propusieron estudiar 12 elementos presentes en pequeñas trazas en el esmalte con el fin de determinar si existe una influencia estadísticamente significativa entre estos minerales y las propiedades físicas del tejido más externo del diente. Para ello, se evaluaron 38 piezas dentarias extraídas de pacientes adultos. Los resultados demostraron que la incorporación de minerales a través del medio oral, por el uso de prótesis dentales (elaboradas con Cr, Co, Ni, Fe y Ti) así como las restauraciones de porcelana (ricas en Si, B, Al, Na, K y Li) modificaban de forma significativa las propiedades físico químicas del esmalte.

Destacando el Mn, que se ha visto en estudios previos que sustituye al Ca en los cristales de hidroxiapatita lo que se asocia con el tamaño de dichos cristales, y el Fe, que en bajas concentraciones sustituye al carbonato tipo A en la estructura de hidroxiapatita⁶⁹.

Para Sabel y col (2012) las lesiones cariosas se comportan de manera variable, dependiendo, de pequeñas diferencias en la composición química del esmalte relacionadas con la edad y con la exposición frecuente a fluoruros. Sin embargo en sus trabajos no analizaron las dietas de los sujetos del estudio como factor modificante de la estructura dentaria⁵.

Fischer y col (2013) estudiaron los cambios, que con la edad, se producían en la concentración de elementos en los dientes deciduos. Para ello evaluaron 45 dientes caducos de niños y niñas de 5-14 años sanos y con un estilo de vida saludable. Observaron que las concentraciones de todos los metales disminuían con la edad del sujeto. La disminución resultó estadísticamente significativa para el Ca, Mg, Cd, Cu, Pb, K y Cr. En este trabajo sólo los niveles de Fe y Mn de los dientes permanecieron sin resultados estadísticamente significativos al igual que el equilibrio catiónico que se mantuvo sin cambios significativos⁵⁸.

Leventouri y col (2009) evaluaron las propiedades de la apatita dental en función de la edad en individuos de entre 5-87 años , en este caso sin separar la dentina del esmalte. Coincidiendo con las anteriores publicaciones, se observaron cambios significativos en la estructura cristalina así como en sus propiedades en función de la maduración del sujeto⁷⁴.

Otro factor a tener en cuenta en cuanto a la composición mineral de los dientes es el tiempo de gestación. En nuestros días es cada vez más frecuente el nacimiento de

niños prematuros. La tasa de supervivencia de neonatos extremadamente prematuros (menos de 25 semanas de gestación) es mayor que hace 15 años.

Alteraciones en el metabolismo del Ca durante los primeros días de vida puede ser un factor determinante detrás de las aberraciones en la capa más superficial del diente, así como el hecho de que la mayor acumulación de Ca y P se produce durante el último trimestre de embarazo.. Cuánto más temprano nace un niño, menor contenido en Ca y P presentará su dentición. La mineralización de los dientes deciduos comienza durante el tercer mes de embarazo, culminando dicho proceso alrededor de los 12 meses después del parto a término (37-40 semanas de gestación)⁶⁹.

Rythén y col (2010) evaluaron el contenido mineral, del esmalte y dentina, de 17 dientes primarios provenientes de 14 niños con una edad gestacional menor de 29 semanas, comparando los hallazgos obtenidos con 36 dientes caducos de niños nacidos a término. Los dientes de los primeros mostraron un aumento en la concentración de carbono (C), una disminución del Ca, y una bajada del ratio Ca/P así como del Ca/C en la parte más externa del esmalte⁷⁵.

En cuanto a la dentina los niveles de P fueron mayores siendo la tasa Ca/P menor de lo normal en la zona dentino pulpar. Todas estas características dieron como resultado un esmalte más poroso, propenso a sufrir las agresiones externas y por lo tanto a la desmineralización⁷⁵.

Dentinogénesis.

En contraposición al esmalte, que está formado en un 95% por minerales y un 5% por agua y material orgánico, la dentina posee tan sólo un 70% de contenido mineral y un 30% de agua y material orgánico (fundamentalmente colágeno)⁶³.

En la dentinogénesis, a diferencia de lo que ocurría en el esmalte, la matriz se deposita en un estado fluido que rápidamente se calcifica. Por lo tanto, la matriz dentinaria es depositada por las células formadoras como una sustancia sin calcificar, la preentina⁶³⁻⁶⁶.

Las fibras de Korff (fibras de la periferia de la pulpa dentaria que penetran en la dentina extendiéndose por ella) se sitúan entre los odontoblastos en forma espiralada formando parte de la matriz⁶³⁻⁶⁶.

La formación de la matriz se lleva a cabo a través de células subodontoblásticas de la papila dentaria, la parte principal será desarrollada por los odontoblastos⁶³⁻⁶⁶.

La preentina, capa de la matriz no mineralizada, está siempre entre los odontoblastos y la dentina. Esta capa, presente en la dentinogénesis, reviste interiormente la cámara pulpar de dentina en dientes completamente formados y funcionantes, ya que la formación de dentina es un proceso que continúa lentamente a lo largo de la vida^{63-66,76}.

La mineralización comienza cuando la preentina se ha formado completamente. En la matriz, en la proximidad de las fibras colágenas, sobre su superficie y dentro de ellas, aparecen cristales en forma de placas^{58,60}. Se formarán entonces, los agregados esféricos de estos cristales llamados calcosferitas, estas van creciendo hasta que se fusionan unas con otras⁵³⁻⁵⁷.

La falta de unión completa entre ellas producirá dentina interglobular⁶³⁻⁶⁶.

La mineralización se realiza a la vez, tanto a nivel del espacio intercanalicular como en el pericanalicular, es decir, sólo habría un frente de mineralización⁶³.

Al principio, la dentina pericanalicular es un área con una alta mineralización, sin embargo, al final del proceso de formación de la corona, la dentina más mineralizada será la intercanalicular⁶³.

Se cree que la dentina radicular se forma de la misma manera que la dentina coronal sin embargo según Pindborg, la distribución de los mucopolisacáridos ácidos y sales minerales hace pensar que difiere en algunos aspectos⁶³.

Dentina.

El tejido dentinario en los animales vertebrados es un tejido mineralizado, duro, elástico y avascular, que soporta en su parte superior al esmalte dentario y que en su porción inferior encierra la cavidad pulpar^{77,78}.

La composición química por peso de la dentina es aproximadamente un 70% mineral, 20% matriz orgánica y un 10% agua, en cuanto al volumen total, este supone un 45%, 33% y 22% respectivamente. La fase mineral de la dentina consiste principalmente en una forma de un sustituto carbonatado de hidroxiapatita^{77,78}.

La fase orgánica de este tejido esta constituida en un 90% por proteínas fibrosas, principalmente colágeno tipo I, mientras que el 10% restante esta formado por lípidos y proteínas de matriz no colágenas^{77,78}.

El análisis bajo microscopía electrónica nos permite visualizar la dentina peritubular orientada de forma transversal y con apariencia de anillos y entre ella la dentina intertubular. Esta dentina peritubular esta altamente mineralizada o hipercalcificada. Miller y Höhling respectivamente mostraron diferencias en la composición de entre un 9-40% en el contenido mineral en Ca, P y Mg entre la dentina peritubular y la intertubular⁷⁸.

Un dato importante es que la dentina, a diferencia de lo que ocurre con el esmalte, no se ve afectada por el medio ambiente oral ya que se encuentra protegida por el esmalte y cemento.

Kumagai y col (2012) diseñaron un trabajo con el fin de demostrar que las concentraciones de elementos en la dentina, de sujetos sanos, variaban con la edad. Para ello seleccionaron 121 dientes sanos extraídos de pacientes de 14-91 años de los cuales 55 fueron hombres y 66 mujeres⁵⁹.

Calcularon la concentración de 10 minerales: boro (B), manganeso (Mn), cobalto (Co), cobre (Cu), zinc (Zn), rubidio (Rb), estroncio (Sr), molibdeno (Mo), Cadmio (Cd) y plomo (Pb). Obtuvieron diferencias significativas en el contenido en Co de hombres y mujeres aunque el motivo se desconoció⁵⁹.

Los resultados mostraron que la mayor parte de los elementos analizados aumentaban con la edad hasta los 50 años, posiblemente debido a que la dentina contiene una alta cantidad de fibras colágenas, los minerales serían progresivamente incorporados dentro de estas fibras aumentando su concentración con el paso del tiempo⁵⁹.

El aumento de estos minerales estaría interrumpido posteriormente, en la dentina secundaria ya que esta se produce como consecuencia a los estímulos agresivos del

exterior. El único elemento que no sufrió cambios significativos fue el Ca en contraposición al Sr que aumentó de forma sobresaliente debido a la gradual exposición de dentina al medio oral debido a la atrición y desgaste que ocurre con el paso del tiempo⁵⁹.

Cementogénesis.

El cemento es el tejido de menor dureza de los que conforman el órgano dentario. Su composición es de 50% material mineral y 50% agua y sustancia orgánica⁶³.

La raíz del diente se va formando paulatinamente tras la terminación de la corona. La parte externa e interna del epitelio dentario irá convergiendo, para de este modo, dar lugar al epitelio de Hertwig o de la raíz, el cual va proliferando y creciendo en dirección apical⁶³.

Al comenzar la mineralización de la predentina, se van a producir cambios en la vaina epitelial de la raíz. Dicha vaina perderá su continuidad ya que entre sus células crecerán elementos celulares del mesénquima del folículo dentario, responsables de la formación de la matriz cementaria^{79,80}.

Dicha matriz comienza su mineralización una vez que se ha formado una pequeña cantidad de la misma. Los minerales provienen de los líquidos tisulares, dónde están los iones de calcio y fosfato. Los cristales se depositarán dentro de la matriz, en su superficie y entre las fibras de colágeno^{79,80}.

Selvig⁸⁰ (1965) midió estos cristales obteniendo un promedio de 53nm de largo y 5nm de ancho. Además determinó que los cristales de la superficie son más pequeños dando como explicación que el cemento se forma sin ningún tipo de interrupción.

En los dientes multirradiculares se producirán tantas invaginaciones como raíces vaya a tener el diente. Estas formaciones se fusionarán y el epitelio continuará con el crecimiento apical característico formando las diferentes raíces⁸¹.

El cemento se va depositando lenta y progresivamente durante toda la vida, de forma que su amplitud se triplica desde los 10 a los 70 años de edad⁸².

Calcificación dentaria.

La calcificación de la matriz del esmalte, se inicia en la porción más incisal u oclusal de cada diente, y se lleva a cabo de forma centrípeta, cubriendo progresivamente la parte más exterior de la corona hasta llegar al límite dentinal. Sin embargo, la formación de la matriz del esmalte se realizaba centrífugamente, es decir de dentro hacia afuera, por lo que calcificación y formación de la matriz llevan sentidos opuestos⁸³⁻⁸⁵.

La calcificación de la dentición temporal comienza entre la 14 y 18 semanas de vida intrauterina, iniciándose a nivel de los incisivos centrales para concluir en los segundos molares⁸³⁻⁸⁵.

Esto significa que en el momento del nacimiento, están mineralizadas las coronas de los dientes temporales en su totalidad.

Los ápices de los dientes decíduos se terminarían de cerrar entre el año y medio y los tres años, un año después de la erupción clínica del diente⁸³⁻⁸⁵.

Para la mayor parte de los autores, la calcificación dentaria en los dientes permanentes comienza en momento del nacimiento en los primeros molares permanentes. A los pocos meses de vida se observa también en el grupo incisivo, para continuar con los caninos, premolares y segundos molares permanentes⁸³⁻⁸⁵.

La mineralización de las coronas de la dentarias permanentes, en general, se completa entre los 5-7 años de edad mientras que el cierre radicular no se producirá hasta los 10-15 años. Caso a parte son los terceros molares permanentes, ya que su calcificación comienza a los 8-10 años de edad⁸³⁻⁸⁵.

El diente, temporal o permanente, no cambia de forma ni de tamaño una vez que la corona ha quedado completamente calcificada. El diente, a diferencia del hueso, no modifica su morfología coronal y radicular tras haber sido calcificada la matriz hística⁸³⁻⁸⁵. Esto quiere decir que el tamaño dentario máximo se alcanzaría pues a una edad temprana.

Todos los tejidos dentarios de calcificación prenatal suelen estar mejor calcificados y con menos variaciones estructurales que los de calcificación postnatal. Esta afirmación se debe a que el metabolismo intrauterino protege la formación de los tejidos dentarios, lo que favorecería menor frecuencia de alteraciones en las estructuras cristalinas de estos tejidos⁸³⁻⁸⁶.

En reglas generales, completando lo anteriormente expuesto, en la dentición temporal, sin tener en cuenta el sexo del individuo y desde un punto de vista cronológico, la calcificación de la corona dentaria se inicia en la semana 14 de vida intrauterina. Con el orden y cronología siguiente⁸³⁻⁸⁵:

- Incisivos centrales: 14 semanas de vida intrauterina.
- Primeros molares: 15^{1/2} semanas de vida intrauterina.
- Incisivos laterales: 16 semanas de vida intrauterina.
- Caninos: 17 semanas de vida intrauterina.
- Segundos molares: 18 semanas de vida intrauterina.

En cuanto a la cronología de la calcificación en dentición permanente, seguiría el esquema siguiente⁸³⁻⁸⁷:

- Al nacer (9^o mes de vida intrauterina): calcificación de los cuatro primeros molares .
- 6^o mes de vida posnatal: calcificación de los incisivos centrales superiores e inferiores e incisivos laterales inferiores.
- 12^o mes de vida posnatal: calcificación de los caninos superiores e inferiores.
- 18^o mes de vida posnatal: calcificación de los incisivos laterales superiores. Señalar que su calcificación es más tardía debido al retraso en la mineralización de la matriz en el periodo proliferativo.
- 30^o mes de vida posnatal: calcificación de los primeros premolares superiores e inferiores.
- 3 años: calcificación de los segundos premolares superiores e inferiores. La corona de los primeros molares permanentes se encuentra ya totalmente calcificada.

- 4 años: calcificación de los segundos molares superiores e inferiores. Cuando se mineraliza la bifurcación de las raíces de estos dientes, y es visible radiográficamente, debe observarse la imagen de los terceros molares, si esto no fuera así es porque existe agenesia de los mismos.
- 10 años: calcificación de los terceros molares superiores e inferiores.

Diversos autores⁸⁸⁻⁹² han desarrollado tablas para evaluar la edad dental a través del estado de calcificación de la dentición.

Como ejemplo de ello, Nolla⁸⁸ (1960), realizó radiografías seriadas anuales a 25 chicos y 25 chicas, obteniendo 1.656 y 1.746 respectivamente. Dichos registros se estudiaron con el fin de obtener una guía precisa y poder conocer, de esa manera, el estado de desarrollo dentario de un paciente determinado a través de las imágenes radiográficas de su dentición.

El desarrollo dentario se graduó con una escala del 0-10⁸⁸:

- 0: Ausencia de cripta, es decir, aún no está presente el primer signo radiográfico de desarrollo dentario.
- 1: presencia de cripta.
- 2: calcificación inicial.
- 3: un tercio de la corona ya se encuentra completado.
- 4: dos tercios de la corona completados.
- 5: corona casi completa.
- 6: corona completamente formada.
- 7: un tercio de la raíz completo.

- 8: dos tercios de la raíz completados.
- 9: raíz casi completa, el ápice radicular esta abierto.
- 10 raíz completa y ápice radicular cerrado.

Demirjian y col⁸⁹ (1973), desarrollaron otro método de predicción. Tomaron registros radiográficos (ortopantomografías) a 1.446 niños y 1.482 niñas de edades comprendidas entre los 2 a los 20 años. Sin ningún tipo de desorden fisiológico que pudiera afectar al normal crecimiento. El desarrollo de cada diente se clasificó de acuerdo a una escala de la A a la H. Esta escala, fue cuidadosamente elaborada gracias a las imágenes radiográficas recogidas.

La descripción de la escala de desarrollo dentario es la siguiente^{89,90}:

A: Inicio de calcificación dentaria en la porción superior de la cripta, en dientes uni o multiradiculares. Esta calcificación es en forma de cono/s invertido/s. No hay fusión de los puntos de calcificación.

B: Fusión de los puntos de calcificación dando lugar a una o varias cúspides que se van uniendo para originar una superficie oclusal.

C: a) Formación completa del esmalte oclusal. Se observa la extensión y convergencia de este hacia la región cervical.

b) Se observa el comienzo de la deposición de dentina.

c) La línea de la cámara pulpar tiene una forma curvada en la zona oclusal.

D: a) La formación de la corona se completa a nivel de la unión esmalte-cemento.

b) el borde superior de la cámara pulpar, en los dientes uniradiculares, adquiere su forma curvada definitiva, haciéndose cóncava hacia la región cervical. En los molares, la cámara pulpar tiene forma trapezoidal.

c) Comienza la formación de la raíz, se observa una especie de espícula.

E: *Dientes uniradiculares:*

a) Las paredes de la cámara pulpar se interrumpen por la presencia de los cuernos pulpares.

b) La longitud radicular es menor que la altura coronal.

Molares:

a) Formación inicial de la bifurcación radicular como un punto de calcificación o una forma semi-lunar

b) La longitud radicular es menor que la altura coronal.

F: *Dientes uniradiculares:*

a) Las paredes de la cámara pulpar forman un triángulo isósceles. El ápice tiene forma de túnel.

b) La longitud de la raíz es igual o mayor que la altura de la corona.

Molares:

a) La zona calcificada de la bifurcación ha evolucionado desde su forma semi-lunar para dar a las raíces una forma más definida en túnel.

b) La longitud de la raíz es igual o mayor que la altura de la corona.

G: Las paredes del canal/es radicular/es son paralelas, el final aún esta parcialmente abierto (raíz distal en molares).

H: a) El ápice radicular esta completamente cerrado (raíz distal en molares).

b) La membrana periodontal tiene una anchura uniforme alrededor de la raíz y del ápice.

Por último, Gat y col⁹¹ (1984) también relacionaron el desarrollo del diente con la fase de calcificación, determinaron 5 fases:

- Estadio 0: el folículo no presenta signos de calcificación.
- Estadio 1: Calcificación del folículo hasta la mitad de la corona.
- Estadio 2: comprende la calcificación de la mitad de la corona hasta la corona completa. No hay signos de formación radicular.
- Estadio 3: inicio de calcificación de la raíz hasta la mitad de su longitud.
- Estadio 4: calcificación total de la raíz sin cierre apical.
- Estadio 5: ápice cerrado.

Alteraciones en la mineralización dentaria.

La malnutrición, la enfermedad y la fiebre, son conocidas como factores que alteran la actividad formadora de esmalte por los ameloblastos, dando lugar, a una capa

de esmalte fina y pobremente calcificada, lo que provoca roturas y cavitaciones en los dientes con este esmalte defectuoso⁹³⁻¹⁰¹.

Hemos de distinguir entre dos entidades a veces difíciles de diferenciar: la hipoplasia y la llamada hipomineralización molar-incisivo.

La hipoplasia del esmalte dental se ha empleado como un indicador inespecífico para referirse a una alteración fisiológica producida en épocas tempranas de la vida⁹³⁻¹⁰¹.

Una vez formado, el esmalte no se va a remodelar durante la vida, por lo que el esmalte de cada individuo es un registro de sus primeros 8 ó 9 años de vida cuando las coronas se han terminado de formar totalmente^{93,94}.

Esta demostrado que los ameloblastos provienen de las células más sensibles del cuerpo humano. Alteraciones en la fase secretora de formación del esmalte va a dar origen a un esmalte delgado o hipoplásico, o lo que es lo mismo, a un defecto cuantitativo del mismo. En cambio, alteraciones en la fase de maduración hace que la deposición de esmalte se reduzca dando lugar a un efecto cualitativo, esmalte hipomineralizado⁹⁵.

La hipomineralización molar-incisivo, (MIH: Molar-Incisor Hypomineralisation), fue definida por Weerheijm y col. como: “hipomineralización de origen sistémico producida en 1-4 primeros molares permanentes, frecuentemente asociada con incisivos afectados de la misma manera⁹⁴⁻¹⁰¹”.

De acuerdo con Weerheijm y col (2003), los segundos molares temporales, segundos molares permanentes y cúspides de los caninos permanentes pueden mostrar defectos de esmalte en ocasiones⁹⁴.

La MIH fue citada por primera vez en la década de los 70 por odontólogos suecos de los servicios Públicos de Salud Dental. Observaron un aumento del número de pacientes con hipomineralización del esmalte de incisivos y primeros molares permanentes⁹⁴.

Para Ogden y col (2008) esta alteración se pudo diagnosticar debido a una disminución en la prevalencia de caries, que impedía una rápida destrucción de estos dientes, y lo tanto hacía más visible el problema⁹³.

Todos los autores coinciden al recomendar, para poder dar un diagnóstico preciso de MIH, hacer las exploraciones con los dientes húmedos siendo la mejor edad los 8 años, ya que en este momento, en la mayoría de los casos, todos los primeros molares e incisivos permanentes se encuentran erupcionados⁹⁴⁻¹⁰¹.

En cuanto a la epidemiología, varía de unos países a otros dependiendo del núcleo socioeconómico dónde se lleve a cabo, de la edad de los niños examinados y de la experiencia y calibración previa de los examinadores⁹³⁻¹⁰¹.

Todos los estudios epidemiológicos publicados, se han desarrollado en Europa, no se tiene datos del resto de los continentes⁹³⁻⁹⁷. En general la prevalencia de MIH varía entre un 2,9% resultante en Libya, como valor más bajo y un 25% en Finlandia y Dinamarca⁹³⁻¹⁰¹.

En la siguiente tabla, tomado de Jasulaityte y col⁹⁹ (2007), se resumen los diferentes estudios epidemiológicos realizados hasta la fecha:

País	Estudio	Edad Muestra	Tamaño Muestra	Prevalencia MIH
Finlandia	Alaluusua y col. (1996a)	12	97	25%
Finlandia	Leppäniemi y col. (2001)	7-13	488	19,3%
Suecia	Jälevik y col. (2001)	7,6-8,8	516	18,4
Dinamarca	Esmark y Simonsen (1995)	7	5.277	18,4%
Finlandia	Alaluusua y col. (1996b)	6-7	102	17%
Suecia	Koch y col. (1987)	8-13	2.226	3,6-15,4%
Turquía	Alpöz y Ertugrul (1999)	7-12	250	14,8%
Eslovenia	Kosmen y col. 2004 En William y col.(2006)	5-18	3.954	14,4%
Italia (Lissone)	Calderara y col. (2005)	7,3-8,3	227	13,7%
Bosnia	Muratbegovic t col. (2007)	12	560	12,3%
Noruega	Weerheijm y col. (2001b)	11	497	9,7%
Lituania (Kaunas)	Jasulaityte y col. (2007)	6,5-9,5	1.277	9,7%
Suiza	Clavadetscher (1997)	7-8	1.671	6,4%
Alemania (Giessen)	Preusser y col. (2007)	6-12	1.022	5,9%
Grecia	Lygidakis y col. (2004)		2.640	5,7%
Alemania (Dresden)	Dietrich y col. (2003)	10-17	2.408	5,6%
Libia (Benghazi)	Fteita y col. (2006)	7-8,9	378	2,9

Tabla V. Estudios epidemiológicos sobre MIH en diferentes poblaciones⁹⁹.

La etiología de esta alteración sigue siendo desconocida. William y col. aportaron como posibles factores etiológicos una pobre higiene oral en los primeros tres años de vida, niños nacidos pretérmino o aquellos expuestos a contaminantes ambientales (dioxinas entre ellos)⁹⁴.

Las dioxinas, son contaminantes ambientales ampliamente presentes. Se acumulan principalmente en la cadena alimentaria y en la leche materna en humanos.

Experimentos realizados en monos rhesus y ratas in vivo e in vitro, han demostrado que las dioxinas alteran el desarrollo dentario¹⁰⁰.

En el accidente de Yu-Cheng en 1978 en Taiwan, aproximadamente 2.000 personas fueron expuestas a aceite de cocina contaminado con dioxinas. Los niños que lo consumieron tuvieron más defectos y ausencias dentales que niños control. Resultados similares se encontraron en un estudio realizado en Eslovaquia sobre población expuesta a grandes cantidades de dioxinas provenientes de una planta química¹⁰⁰.

Otros autores recomiendan incluir la salud de las madres durante la gestación como posible factor etiológico así como posibles causas genéticas⁹⁴⁻¹⁰¹.

En general se admiten como posibles factores etiológicos⁹³⁻¹⁰¹ alteraciones de la salud durante la mineralización de los primeros molares permanentes e incisivos, estas alteraciones podrían deberse a fiebre, varicela, infecciones de oído, tonsilitis, asma y alergias. Factores perinatales como enfermedades durante el embarazo, parto prematuro, parto con complicaciones, uso de antibióticos en la infancia temprana e historia familiar de “defectos de esmalte” son consideradas también como factores etiológicos⁹³⁻¹⁰¹.

Muchos cambios fisiológicos se producen cuando el niños están enfermos como por ejemplo una disminución del apetito; lo que provoca niveles de nutrientes esenciales

deficientes en fases cruciales de desarrollo; y por otro lado alteraciones del sueño. Una nutrición o hábitos de sueño inadecuados pueden provocar cambios en la secreción hormonal alterando el microambiente de los ameloblastos particularmente en la transición entre fases^{95,96}.

Recientes trabajos han demostrado que determinadas condiciones pueden afectar al pH de la matriz del esmalte en formación como son, la acidosis respiratoria y los niveles anormales de oxígeno debidos a la hipoventilación provocada por enfermedades respiratorias; estos hechos inhibirían la acción de enzimas proteolíticas y el desarrollo de los cristales de hidroxapatita dando lugar a una hipomineralización del esmalte. Sumado a lo anterior, la función ameloblástica podría verse afectada por los bajos niveles de oxígeno durante el nacimiento de niños pretérmino⁹⁸.

Suga, en 1989, sugirió que los ameloblastos son muy susceptibles a alteraciones producidas en periodos tempranos de maduración. Si estas células fuesen dañadas por alteraciones locales o sistémicas, en esta fase de su desarrollo, no se podrían recuperar fácilmente. La sensibilidad a las alteraciones sistémicas y la manera de reaccionar de estas células no son las mismas en cada una de las fases de desarrollo del esmalte⁹³.

Fraser y Nikiforuk en 1981, concluyeron que la hipocalcemia durante la amelogénesis es un factor crucial que puede provocar alteraciones en la mineralización del esmalte⁹⁸.

Recientes trabajos en animales de Nanci y col (2000) y Yamaguti y col (2005), empleando análisis inmunocitoquímicos, han obtenido que la hipocalcemia afecta la formación del esmalte durante la fase secretora tardía y de maduración temprana, interfiriendo con los elementos intra y extracelulares y provocando hipomineralización⁹⁸.

A nivel estructural, Farne y col (2004), analizando molares e incisivos afectados observaron que las zonas hipomineralizadas tenían una concentración mineral inferior al 20% en comparación con dientes sanos del mismo individuo⁹⁴.

Para Mahoney y col (2004) la disminución mineral en las zonas de MIH era un 5% inferior a la de dientes control del mismo sujeto⁹⁴.

Jälevik y col (2001), a través de un microanálisis radiográfico, obtuvieron que en las zonas de esmalte alteradas la proporción Ca/P mostraba una marcada disminución con resultados de 1:4 frente al 1:8 de dientes sanos. Resultados similares al trabajo realizado por Al-Dobiyan y col (2006) con un ratio Ca/P en zonas afectadas de 1:41 frente al 1:65 de sus dientes control⁹⁴⁻¹⁰¹.

Otros autores, como Eanes y Heijs y col (1977, 2007, respectivamente), han encontrado un aumento en los niveles de carbono en los cristales de esmalte con MIH, además de los cambios en la proporción Ca/P⁹⁴.

Las posibles explicaciones han sido las siguientes: la disminución en la razón Ca/P implica una disminución en la concentración mineral del esmalte afecto. El aumento de los niveles de carbono se debe a un incremento de material orgánico entre la matriz de esmalte de estos dientes⁹⁴.

Los resultados en el análisis de la dentina subyacente al esmalte dañado no muestran diferencias estructurales significativas con dentina control⁹⁴⁻¹⁰¹.

Clínicamente las lesiones de MIH consisten en grandes opacidades amarillentas o marrón-amarillentas, asociadas o no con fracturas poseruptivas del esmalte. Los incisivos afectados raramente muestran fracturas poseruptivas de esmalte⁹³⁻¹⁰¹.

Las áreas afectadas por MIH han sido clasificadas por Alaluusua y col. Como⁹⁵:

- a. Severa: pérdida de esmalte asociada con dentina afectada.
- b. Moderada: pérdida de esmalte únicamente.
- c. Leve: cambios en la coloración del esmalte: blanco, amarillo o marrón.

Los dientes afectados con frecuencia muestran hipersensibilidad a los estímulos, lo que dificulta su anestesia. Esta sensibilidad, se cree, puede ser debida a cambios en la innervación pulpar, vascularidad e inmunidad lo que provocaría inflamación pulpar⁹⁴⁻¹⁰¹.

Este hecho es importante ya que el tejido defectuoso va a ser más susceptible a caries lo que provoca su rápida destrucción y la dificultad de un diagnóstico precoz de MIH. La rápida progresión de las lesiones cariosas en estos dientes se va a deber a la falta de una correcta higiene oral debido a la hipersensibilidad⁹³⁻¹⁰¹.

La severidad de MIH puede variar entre individuos y dentro de la cavidad oral de un mismo sujeto. Aunque se ha observado que cuando un primer molar permanente esta afectado, el contralateral también lo esta. Del mismo modo, si el número de primeros molares permanentes con MIH aumentan, las posibilidades de tener afectados los incisivos permanentes también aumenta⁹³⁻¹⁰¹.

En cuanto a la prevalencia entre arcadas, autores han obtenido una mayor incidencia de MIH en la arcada superior frente a la inferior, mientras que otros no encuentran diferencias significativas⁹³⁻⁹⁹.

Sin embargo, todos los autores consultados coinciden en la importancia de un buen diagnóstico del problema para poder llevar a cabo un buen protocolo de actuación y prevención en estos pacientes⁹⁴⁻¹⁰¹. William y col (2006) proponen el siguiente⁹⁴:

- 1°. Identificación del riesgo.
- 2°. Diagnóstico precoz.
- 3°. Remineralización: aunque realmente el diente nunca tuvo una mineralización completa durante su desarrollo.
- 4°. Prevención de caries dental y fracturas poseruptivas de esmalte.
- 5°. Restauraciones o extracciones: los dientes afectados son subsidiarios de grandes reconstrucciones reiteradas por las fracturas poseruptivas.
- 6°. Mantenimiento.

Señalar la importancia, en cuanto a prevención de una correcta dieta⁹⁴⁻¹⁰¹.

MIH se ha visto aumenta su severidad en niños con mayor edad. Esto se debe a que los niños más jóvenes suelen tener defectos leves mientras que los más mayores muestran grandes destrucciones dentarias. La explicación posible es que la presencia de defectos de esmalte provocados por MIH, tras largos periodos en la cavidad oral, provocaría grandes destrucciones en los primeros molares debido a su importante papel en la masticación mientras que los incisivos se van a encontrar prácticamente intactos^{94,96,98}.

Saliva y Minerales:

Los recientes avances tecnológicos en inmunología, biología molecular y química analítica, han permitido el uso clínico de la saliva como instrumento para la detección de drogas así como el diagnóstico de los trastornos hereditarios, enfermedades autoinmunes, enfermedades infecciosas, trastornos endocrinos, y cánceres¹⁰².

La saliva también puede ser utilizada para la vigilancia biológica, determinando de este modo la exposición ambiental y ocupacional a metales tóxicos¹⁰².

Recordar que aunque la composición de la saliva se basa en fluidos extracelulares tales como plasma, los mecanismos de transporte y secreción activa en las glándulas salivales pueden cambiar su composición iónica. Por lo tanto, la saliva no es un simple sustituto de la sangre u otros fluidos corporales, sino que tiene su propia distribución de metales¹⁰².

La saliva es rica en iones Ca y P y puede actuar como un modulador natural que neutralice los ácidos y restringiendo los procesos de disolución que conducen a la formación de cavidades cariosas. En concentraciones de pH mayores de 5.5, junto con altas concentraciones de iones Ca y P, el equilibrio resultante permite la precipitación de estos iones y la remineralización de los tejidos del diente^{60,102}.

El Ca y el P son componentes necesarios para el mantenimiento de la fuerza y salud dentaria. Se ha demostrado que los niveles de estos macrominerales en la saliva y en la placa bacteriana están inversamente asociados con la incidencia de caries, altas concentraciones de Ca inhibe de forma eficaz las lesiones cariosas. Resultados similares

se reflejan en estudios epidemiológicos donde se han aportado evidencias de la relación inversa tasa de caries-concentración de Ca en saliva. Una posible razón para esta relación es que un aumento en la concentración de estos elementos en la saliva podría reducir la solubilidad del esmalte y aumentar la remineralización dentaria^{68,73}.

Teóricamente el grado de saturación del esmalte depende de la concentración de iones Ca y P, de tal manera que pequeños cambios en la concentración de Ca tendría grandes efectos que similares cambios en la del P^{67,68}.

En cuanto a la concentración de pequeñas trazas de minerales, estas varían entre los individuos: Cu (20-321 μgL^{-1}), Zn (28-358 μgL^{-1}), Mg (2,53-34,13 mgL^{-1}), Ca (21,5-170 mgL^{-1}), Al, (25-102 μgL^{-1}), Sr (9-26 μgL^{-1}), Mn (2,3-5 μgL^{-1}), Fe (25-160 μgL^{-1}), Si (2-3 μgL^{-1}), Na (257,49-276,8 mg/L), K (958,73-994,704 mg/L) y Cr (0,8-3,6 μgL^{-1}). De ellos, los más abundantes serían Na, Mg, K y Zn coincidiendo con el esmalte⁶⁹.

Por otro lado, se ha comentado ampliamente en este trabajo la necesidad de llevar una dieta saludable con el fin de evitar trastornos nutricionales, sin embargo tener unos hábitos de vida sanos no implican sólo un aporte de nutrientes adecuados. El tabaquismo es uno de los principales factores de riesgo ambientales relacionados con muchas enfermedades sistémicas graves, como enfermedades respiratorias, enfermedades del corazón y cáncer.

Muchos metales tóxicos se encuentran en el tabaco, papel de fumar, filtros, y el humo del cigarrillo. Estos metales son los responsables del desarrollo de enfermedades graves en el ser humano.

Durante el acto de fumar, los elementos presentes en el tabaco y el humo de los cigarrillos se transfieren a la cavidad oral, los pulmones, la circulación periférica, y otros órganos, incluyendo las glándulas salivales.

Cuando se compararon los niveles salivales de metales a partir de muestras de saliva recogidas en dos días diferentes, los resultados presentan una amplia gama de variación en todas las materias evaluadas. Estos resultados implican que las concentraciones salivales y las tasas de secreción salival de metales pueden ser tan variable como el estado nutricional y hormonal de un individuo¹⁰².

Kim y col en 2010, teniendo en cuenta que la tasa de secreción salival se define como la cantidad de metales salivales secretados en la cavidad oral por minuto, determinaron la concentración de un total de 11 elementos (Mg, Al, Mn, Cu, Zn, Rb, Sr, Mo, Cd, Tl y Pb) que contenía la saliva de un grupo de 10 hombres no fumadores con edades comprendidas entre los 27-30 años frente a otro grupo de 30 hombres fumadores de la misma edad¹⁰².

Entre los componentes analizados en este estudio, sólo las concentraciones de Mg y Pb en la saliva de los fumadores tienen correlación entre la tasa de secreción de salival de nicotina, el número de restauraciones metálicas, y las tasas de secreción salival de metales¹⁰².

No se encontraron diferencias significativas en la concentración de Mg. Kim y col determinaron que podía deberse al hecho de que fumar no es un contribuyente principal a la carga corporal de Mg¹⁰².

Sólo el aluminio (Al) presentó una concentración salival y tasa de secreción significativamente elevados en los grupos de fumadores en relación con los niveles del grupo control¹⁰².

Por lo tanto, Kim y col demostraron que las muestras de saliva se pueden utilizar para calcular los niveles de metales en los órganos de los fumadores. El hábito de fumar tiene efectos significativos en los niveles de nicotina y Al en la saliva humana lo que

dañaría de forma agresiva la salud del sujeto. No sólo una dieta saludable sería suficiente para mantener un estado de ausencia de enfermedad, el uso de dentífricos con suplementos adecuados sería, junto con lo anteriormente mencionado, de vital importancia.

Durante los años 80, se estableció la eficacia del F en el control de lesiones cariosas incipientes, que a través de su incorporación en las pastas dentífricas, ejercería una acción tópica en la interfase entre la superficie del diente y los fluidos orales. El F es un ión altamente efectivo en la protección del esmalte dental reduciendo la desmineralización de este tejido así como de la capa subyacente, la dentina. Se ha demostrado que el F induce fluorapatita o una forma fluorada de hidroxiapatita reaccionando directamente con la hidroxiapatita o promoviendo la transformación de ciertas fases de fosfato cálcico. La aparición tanto de fluorapatita como fluorhidroxiapatita reducen la solubilidad de la hidroxiapatita⁶⁸.

Cabe destacar, el papel del Zn como ingrediente indispensable de pastas dentífricas y colutorios dentales debido a su acción antibacteriana, lo que permite un correcto control de la placa, reduce el mal olor de la cavidad oral así como la formación de depósitos de cálculo a través de la modificación/inhibición del crecimiento cristalino⁶¹.

El Zn se elimina de la saliva de forma bimodal, tras su aplicación la concentración salival se cae rápidamente durante los primeros 30-60 minutos, para después mantenerse en bajos niveles (aunque altos en comparación con la cantidad base) durante varias horas⁶¹.

Se ha demostrado, además, que este catión junto con otros minerales se asocian con una disminución en la solubilidad del esmalte, pudiendo modificar el crecimiento

cristalino del Ca y El P implicados en la remineralización. Por lo tanto, tendría el potencial de influir en la dinámica de/remineralización de la cavidad oral. Sin embargo, aunque diversos trabajos han recogido el aumento de remineralización tras el uso de soluciones ricas en Zn, la presencia de Sr, también capaz de afectar estos procesos minerales, se ha considerado un factor de confusión con lo que el papel del Zn no puede ser deducido de forma tan sencilla⁶¹.

Por último, aunque el Zn tenga propiedades antimicrobianas, aún no se ha establecido una asociación consistente entre su eficacia antimicrobiana y la reducción de lesiones cariosas, excepto en los casos extremos, de por ejemplo, el uso de clorhexidina o la completa ausencia de microflora en ratas gnotobióticas⁶¹.

Impacto Epidemiológico del Déficit en Magnesio

Hay amplias evidencias, provenientes de estudios epidemiológicos, de que la cantidad ingerida de Mg en poblaciones de países industrializados, esta por debajo del 30% de las Cantidades Diarias Recomendadas^{1,4,103}.

Schimatschek y Classen (1993) encontraron casos de hipomagnesemia en un 12% de niños menores de un año de edad, y una incidencia en adolescentes del 30,5% de edades comprendidas entre los 16 y 18 años¹⁰⁴.

De acuerdo con lo publicado por Wong y col (1983), aproximadamente el 10% de pacientes ingresados en hospitales de grandes ciudades padece hipomagnesemia¹⁰⁴.

En España, el progreso económico llevado a cabo en las últimas décadas ha favorecido la aparición de cambios a nivel social, cultural y alimentarios. A pesar de que hay mucha información sobre los hábitos dietéticos de nuestro país al igual que

sobre la toma de diferentes nutrientes y alimentos, pocos estudios se han realizado sobre la influencia que el ejercicio físico, la obesidad, el tabaco y el alcohol, tienen en la toma de minerales en la población española adulta^{103,105}.

Mataix y col¹⁰⁴ (2006), Henríquez y col¹⁰⁵ (2000) y Serra-Manjem y col¹⁰³ (1996), han efectuado estudios sobre poblaciones andaluza, canaria y catalana respectivamente para evaluar las concentraciones plasmáticas de Mg, Ca y P en la población española adulta en relación con la ingesta de dichos minerales, el ejercicio físico, nivel educacional, obesidad y consumo de tabaco.

La siguiente tabla resume los resultados obtenidos por los anteriores publicaciones comparándolas con lo obtenido por Varela y col (1995) en su Estudio Nacional de Nutrición y Alimentación del Instituto Nacional de Estadística de Madrid^{103,104,105}.

España	Mg	Ca	P
Encuesta	12,98	21,22	-
Andalucía	11,72	20,80	38,39
Cataluña	12,26	19,05	42,28
Islas Canarias	11,84	23,85	45,06

Tabla VII. Resultados epidemiológicos de Mg, Ca y P en poblaciones españolas. Resultados expresados en mmol/día^{103,104,105}.

De esta tabla se desprenden datos preocupantes. Todos los trabajos coincidieron en que el riesgo de hipocalcemia estaba asociado sobre todo al sexo femenino siendo

mayor con la edad. El bajo consumo de estos minerales se relaciona como ya hemos mencionado anteriormente, con osteoporosis, fracturas óseas y en menor grado con problemas cardiovasculares^{1,106}.

En otros países encontramos los siguientes resultados:

País	Mg	Ca	P
Irlanda	10,71	18,55	37,61
Austria	-	14,03	-
Bélgica	8,06	20,1	-
Francia	-	16,05	-
Reino Unido	11,21	22,20	41,99
E.E.U.U.	13,69	19,18	38,86

Tabla VIII. Resultados epidemiológicos de Mg, Ca y P en varios países.

Resultados expresados en mmol/día^{103,104,105}.

Es necesario tomar medidas, especialmente en mujeres, ya que los cambios hormonales relacionados con la menopausia junto con una disminución de la actividad física, pueden aumentar los problemas a nivel esquelético¹⁰⁵.

Estos problemas a nivel del tejido óseo, en la cavidad oral podrían dar lugar a pérdida de hueso en la cresta alveolar, pérdida en la altura de la misma, con la consiguiente pérdida dentaria y todo ello acompañado de una estimulación proinflamatoria de las citocinas¹⁰⁶⁻¹⁰⁸.

Últimos Estudios en Relación a la Dieta:

Jekl y col (2011) estudiaron el efecto que las dietas granuladas, con diferente composición mineral, tenían sobre el tamaño de las coronas dentarias así como la variación en la densidad mandibular que presentaban los ratones de cola de trompeta sometidos a estos nutrientes. La muestra consistió en 28 animales, divididos de manera aleatoria, en cuatro grupos. Se alimentaron con pienso granulado con diferente contenido en calcio y fósforo, durante 17 meses, comparando los resultados con un grupo control¹⁰⁹.

Se tomaron radiografías de las piezas dentarias (cuarto premolar y primer y segundo molar) así como tomografías computerizadas del cráneo de los roedores¹⁰⁹.

Los resultados demostraron que un contenido inadecuado de Ca y P tenía un efecto perjudicial en la dentición y en la densidad del hueso mandibular acarreándole al animal de experimentación problemas severos de salud. Las coronas clínicas de los dientes extraídos resultaron significativamente más alargadas siendo la densidad del hueso mandibular significativamente menor en aquellos alimentados con granos con alto contenido en P con un ratio inadecuado Ca:P¹⁰⁹.

Otro mineral evaluado en los últimos estudios publicados, en relación con los efectos que produciría su alteración en la dentición, ha sido el boro (B). Hakki y col (2015) observaron si cambios en el contenido de B de la dieta, de conejos de Nueva Zelanda, podía tener consecuencias sobre la composición mineral de los dientes así como sobre la densidad mineral del hueso alveolar. Durante 8 meses, 60 conejos fueron divididos en función del contenido en B de su dieta⁷⁰.

Hakki y col evaluaron la fuerza, composición mineral y microdureza de los incisivos maxilares, la composición del esmalte, dentina y cemento así como la pulpa dental se analizó histológicamente⁷⁰.

La dieta modificada no tuvo efectos significativos en cuanto a la estructura, resistencia, densidad y microdureza de los dientes, sin embargo, sí se demostró que un aumento en la ingesta de B alteraba la composición mineral del diente y, de forma moderada, mejoraba la densidad mineral del hueso alveolar circundante⁷⁰.

La presente tesis se enmarca dentro de un estudio multidisciplinar que se lleva a cabo en su investigación básica, en el Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Granada. Los trabajos se han realizado en modelo experimental de rata a largo plazo, haciendo una similitud con la deficiencia crónica de Mg en la población general.

Justificación.

Justificación:

La justificación del por qué de esta tesis se basa, como se ha hecho constatar, en la gran importancia que el Mg tiene como elemento estructural y regulador en todos los organismos vivos^{1,4}.

Apoyándonos en los estudios epidemiológicos llevados a cabo en España y otros países, en la sociedad actual el déficit de Mg es muy frecuente. Deficiencia que causa abundantes trastornos, muchos de ellos, fácilmente prevenibles con una buena alimentación y hábitos de vida saludables^{103-105,110}.

En lo que al campo odontológico se refiere, el esmalte dental esta constituido en un 96% por mineral inorgánico del que el Mg, junto con el Ca y P, forma parte¹.

A pesar que el contenido en Mg en el tejido dentario es muy pequeño¹¹¹, hay que tener presente la relación que los niveles de Mg guardan con un correcta regulación de niveles de Ca, P, Fe, Cu, Zn y Mn, los dos primeros, elementos mayoritarios en la composición mineral de los dientes¹¹⁰⁻¹¹⁵.

Dada la importancia del Mg en los procesos metabólicos, así como en aquellos de proliferación y diferenciación celular, es necesario evaluar el impacto que una dieta deficiente en Mg tiene sobre el tejido dentario de la rata, simulando, de este modo, una dieta crónica deficiente de este mineral en un humano adulto.

Por todo lo anteriormente expuesto, se pretende estudiar el impacto que una dieta deficiente en Mg tiene sobre el contenido mineral de Mg, Ca, P, Fe, Cu Zn y Mn en tejido dentario de la rata, simulando de este modo, los efectos de una dieta crónica deficiente en este mineral sobre el contenido mineral de diente de un humano adulto.

Hipótesis.

Hipótesis:

La hipótesis, de la presente tesis, se basa en que una dieta deficiente en Mg en la rata, a largo plazo, altera el contenido mineral de magnesio, calcio, fósforo, hierro, cobre, zinc y manganeso en los dientes de este animal.

Objetivos.

Objetivos:

OBJETIVO PRINCIPAL:

Estudiar la necesidad del Mg, como mineral esencial del organismo, en el metabolismo del Ca, P, Fe, Cu, Zn y Mn.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- 1.-Demostrar, a través de un modelo de experimentación básica en ratas, las alteraciones que se producen ante una deficiencia de larga duración de este elemento.
- 2.-Estudiar las alteraciones que puede provocar la deficiencia de Mg en el órgano dentario.
- 3.-Evaluar los niveles de Mg, Ca, P, Fe, Cu, Zn y Mn en el diente de rata con una dieta Mg-deficiente en relación con ratas control.

Material y Métodos.

Material y Métodos:

Con el fin de poder demostrar la hipótesis y alcanzar los objetivos fijados, se diseñó el siguiente estudio desde un punto de vista longitudinal y prospectivo.

Este proyecto, dado que implica experimentación animal, se atiene a lo dispuesto en la normativa legal vigente y en particular, en el Real Decreto 1201/2005, de 10 de octubre, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos, y la Ley 32/2007, de 7 de noviembre, para el cuidado de los animales en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio.

Modelo experimental propuesto.

El modelo responde a un diseño experimental completamente aleatorizado, factorial (de dos factores) equilibrado y de efectos fijos. Los factores que intervienen son dos y los denominamos: DIETA y SEMANA.

El primero tiene dos niveles, 0 (dieta deficiente en Mg) y 1 (dieta control con la proporción de Mg necesaria). El factor SEMANA tiene cuatro niveles: 3, 5, 7 y 10, que indican el número de semanas que el sujeto experimental está sometido al factor DIETA.

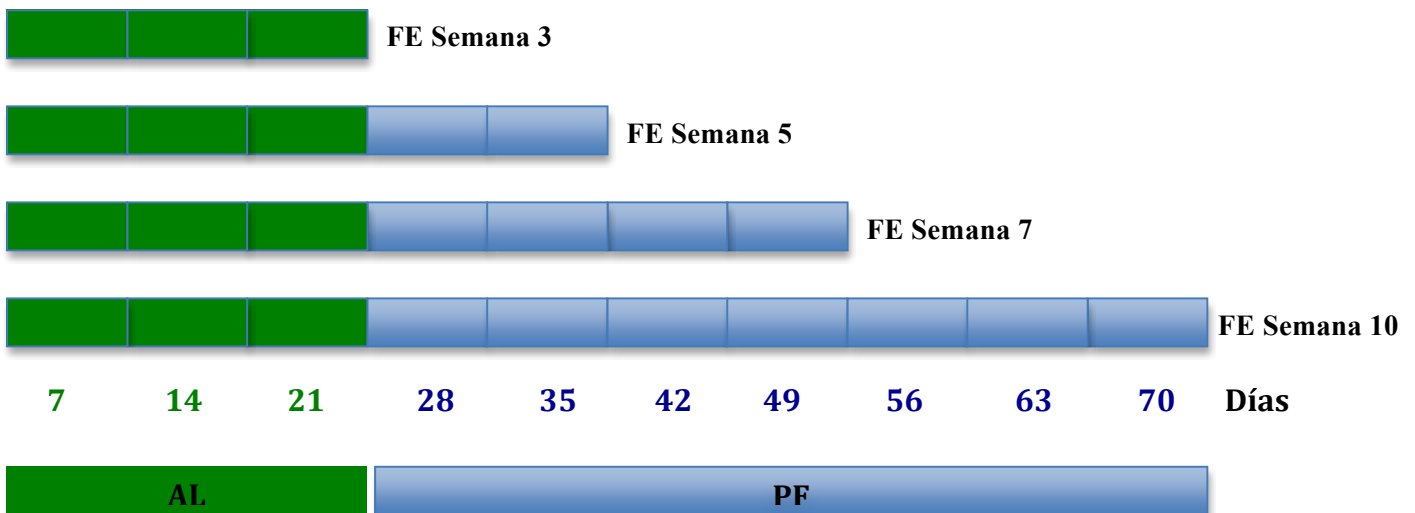
Las variables respuestas son siete: Magnesio (Mg), Calcio (Ca), Fósforo (P), Hierro (Fe), Cobre (Cu), Zinc (Zn) y Manganeso (Mn) medidas en miligramos (mg) por gramo de tejido.

En todos los tests se considerará un nivel de significación del 5%, por lo que, salvo que se indique otra cosa de forma expresa, los “diagnósticos” se realizan con un nivel de confianza del 95%.

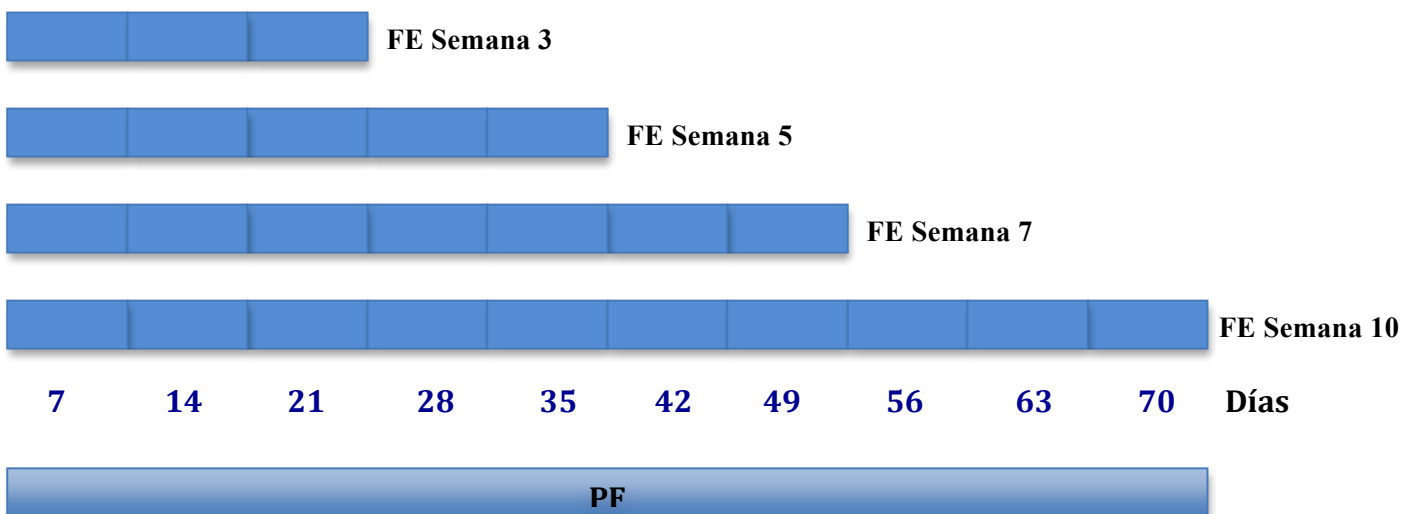
Por lo tanto, el diseño experimental propuesto es el siguiente:

Experiencia Control:

IE Experiencia Control



IE Experiencia Deficiente



IE: inicio período de exposición, FE: final período de exposición, AL: alimentación *ad libitum*, PF: alimentación *pair-fed*.

Al final cada uno de los períodos (3, 5, 7 y 10 semanas) se sacrificarán 10 animales (10 ratas control *pair-fed* y 10 ratas deficientes *ad libitum*), recogiendo las muestras correspondientes de sangre y diente.

Muestra.

La muestra de estudio está constituida por 80 ratas Wistar macho seleccionadas al azar de entre diez camadas producidas en la mismas fechas.

Método.

Las ratas, recién destetadas, consumieron una dieta comercial estándar (Panlab, Barcelona) hasta alcanzar un peso corporal de 180-200 g.

Con el fin de observar la evolución de los efectos causados por la deficiencia de Mg en la dieta, se formaron aleatoriamente dos grupos de igual número de ratas, asignándoles dietas diferenciadas solamente en el contenido de Mg, de manera que en una de las dietas el aporte de Mg era insuficiente.

Durante tres semanas ambos grupos se mantuvieron con una dieta de crecimiento (AIN-93G)²³ cuya composición fue: 20% de caseína; 0,3% de cistina; 10% de sacarosa; 52,95% de fécula de trigo; 5% de celulosa; 7% de aceite de oliva; 1% de complejo vitamínico AIN-93G; 3,5% de complejo mineral AIN-93G (sin óxido de magnesio).

Pasadas estas tres semanas, uno de los grupos de ratas consumió esta dieta sin modificaciones, lo que suponía un aporte de 92,83 mg de Mg por Kg de comida. Al otro

grupo se le suplementó el aporte de Mg hasta los 570,49 mg/Kg, cantidad que se consideró adecuada para cubrir sus funciones vitales.

Es decir, a partir de la tercera semana, (rata adulta), todas las ratas ingirieron una dieta de mantenimiento (AIN-93M)²³, constituida por: 14% de caseína; 0,18% de cistina; 10% de sacarosa; 62,2% de fécula de trigo; 5% de celulosa; 4% de aceite de oliva; 1% de complejo vitamínico AIN-93G; 3,5% de complejo mineral AIN-93G (sin óxido de magnesio). El grupo sometido a la dieta deficiente en Mg (Mg-D) recibía con esta dieta un aporte de 82,09 mg. de Mg por Kg de comida; mientras que el otro grupo recibía en la dieta una proporción de 559,42 mg de Mg por Kg de comida.

Ambos grupos llevaron una alimentación *pair-fed* (alimentadas a la par), es decir la misma cantidad de dieta en ambos grupos (g/rata/día). El motivo de esta alimentación *pair-fed* es para poder comprobar que las alteraciones recogidas se deben a la dieta Mg-D y no a la anorexia característica que provoca el déficit en Mg.

Al cumplirse los periodos de 3, 5, 7 y 10 semanas de ingerir las respectivas dietas se sacrificaron 10 ratas por grupo para cada uno de los periodos, mediante la extracción de sangre en aorta ascendente.

La sangre fue centrifugada para separar el plasma, que se congeló a -70° C hasta el posterior análisis del Mg con el fin de confirmar el estado de deficiencia en este mineral.

Por otro lado, se extrajeron los dientes: incisivos superiores e inferiores para la posterior medida de minerales. Los resultados se compararon con los obtenidos de las ratas control del mismo periodo.

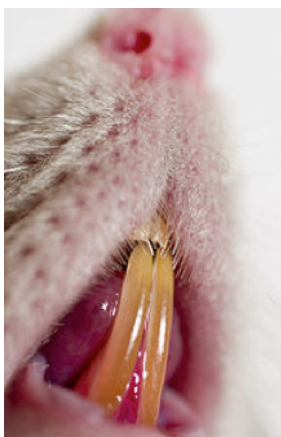


Figura 1. Detalle de incisivos inferiores de las ratas Wistar control en la primera semana.

Durante los días del período experimental las ratas fueron alojadas en jaulas “metabólicas” individuales con una buena ventilación, con temperatura controlada (21° C) y un periodo luz / oscuridad de 12 horas. Se les permitió, además, dos días de adaptación tanto a su nuevo medio como a la alimentación que iban a recibir.

Técnicas Analíticas.

Cada masa resultante de la trituración de los dientes se pesó, separándose posteriormente en dos partes; una de ellas se congeló a -70° C y la otra después de pesarse se llevó a desecación en horno a 100° C y 1 Atm de presión, durante 24 horas (hasta alcanzar peso constante); pesándose de nuevo pasado este período para calcular la humedad. Posteriormente se llevó a horno a 450° C durante 48 horas, hasta calcinación, para el cálculo del porcentaje de cenizas.

Estas cenizas se trataron con 1 ml de CLH 5N hasta su disolución y previa filtración, se enrasaron a 25 ml con agua bidestilada. Con estas disoluciones se prepararon diferentes partes alícuotas con cloruro de lantano al 1% para la medida del Mg, Ca, Fe, Cu Zn y Mn. Todo ello se realizó mediante espectrofotometría de absorción atómica (AAS).

El principio de la espectrofotometría de absorción atómica o AAS es el siguiente: cuando una solución que contiene una sal metálica es aspirada en una llama, se forma un nube de vapor que contiene los átomos del metal. Sin embargo, una gran cantidad de átomos del metal van a permanecer en el estado fundamental. Estos átomos en su estado fundamental van a ser susceptibles de absorber la energía ionizante de su propia longitud de onda específica, la cual es la longitud de onda que van a emitir los átomos si son excitados desde su estado fundamental. Por lo tanto, si el haz de longitud de onda adecuada, pasa a través de la llama que contiene los átomos en cuestión, una parte del haz será absorbido en una medida proporcional al número de átomos en estado fundamental presentes en la llama. La cantidad de absorción del haz de energía es lo que vamos a medir con la espectrofotometría de absorción atómica.

El espectrofotómetro de absorción atómica empleado fue el de la marca Perkin Elmer® modelo Analyst 300 (Germany).



Figura 2. AAS empleado de la marca Perkin Elmer® modelo Analyst 300

En cuanto al P inorgánico, se determinó con el método colorimétrico de Fiske-Subbarow. Este método se fundamenta en que el ácido perclórico oxida al fósforo inorgánico. Los iones fosfato reaccionan con el molibdato de amonio en medio ácido reduciendo el complejo fosfomolibdato de amonio, el cual, en presencia de un agente reductor (ANSA bisulfito) da lugar a un compuesto heteropolimérico de color azul, (azul de molibdeno), de estructura desconocida, cuya absorbancia se mide a 450 nm con un espectrofotómetro ultravioleta sensible. La intensidad del color azul del resultado, será proporcional al contenido en P de la muestra que estamos tratando.



Figura 3. La lectura de fósforo se hace con lector de placas.
(Bio-Tek Instruments, Inc., Vermont, USA).

Análisis Estadístico.

Para la comparación de los resultados experimentales se realizó un análisis de la varianza o ANOVA con las comparaciones múltiples de Bonferroni. Se han realizado análisis múltiples de regresión para estimar el grado de asociación entre la dieta y el tiempo. Todos los análisis se llevaron a cabo con la versión 17.0 del Statistical Package for Social Sciences (SPSS Inc., Chicago IL, USA) para Windows®.

Resultados.

Resultados:

A los pocos días de comenzar con la dieta deficiente, aparecieron los signos clásicos de deficiencia descritos ampliamente^{1,21,116}.

Los animales mostraron un enrojecimiento característico del pabellón auditivo y cola debido un aumento en la vasodilatación periférica, además de lesiones cutáneas debido a la debilidad de los tejidos. Posteriormente aparecían signos crecientes de hiperexcitabilidad que culminaban en convulsiones generalizadas. Todas estas manifestaciones aumentaban con el tiempo de exposición a la dieta modificada.

Como consecuencia de estas alteraciones, se produjeron varias muertes en el grupo de ratas Mg-D: una en la tercera, quinta y décima semana y dos en la séptima semana. El por qué del descenso de mortalidad a la décima semana se debe a que las ratas que sobreviven parcialmente se adaptan a ésta situación de déficit.

Otro factor a tener en cuenta fue el descenso en el aumento de peso, de los animales deficientes durante las 4 primeras semanas.

A partir de la cuarta semana comienza a manifestarse uno de los síntomas característicos de la deficiencia en Mg: la anorexia, que se mantendrá hasta el final del período experimental. Esta conducirá a una disminución en el peso de los especímenes con dieta deficiente en Mg, como aparece en la figura 4.

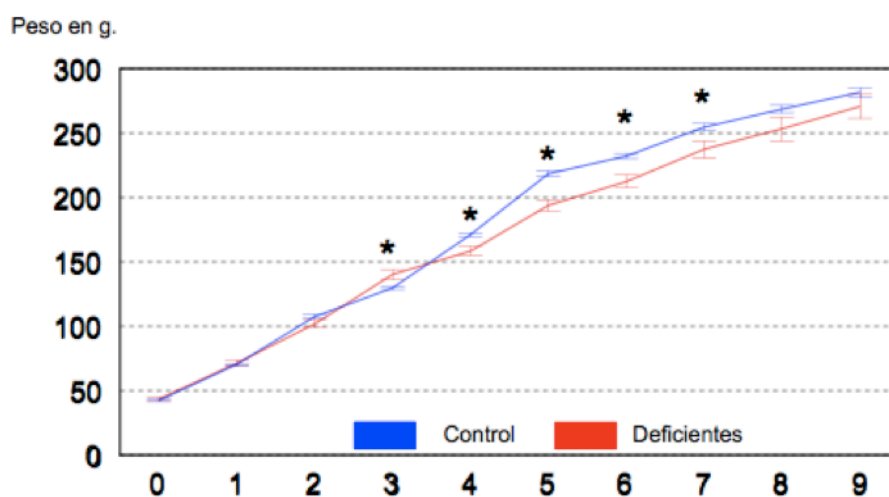


Figura 4. Representación gráfica de la variación de peso de C y Mg-D.

*: $p < 0,05$

Durante las 10 semanas de duración del trabajo, se han estudiado los cambios en el contenido de Mg, Ca, P, Fe, Cu, Zn y Mn en el diente de rata sometida una dieta deficiente en Mg. Los animales se controlaron y sacrificaron a las 3, 5, 7 y 10 semanas.

		N
Grupo	Control	40
	Deficiente	35
Semana	3	19
	5	19
	7	18
	10	19

Tabla IX. Factores inter-sujeto.

Como se puede observar en la Tabla IX, todas las ratas control (C) llegaron vivas al final de cada uno de los períodos a los que pertenecían. En cambio, en la tercera, quinta y décima semana, se perdió un espécimen Mg-deficiente (Mg-D) mientras que en la séptima semana se perdieron dos, debido a las alteraciones neurológicas que el déficit en Mg producía en ellas.

A continuación se detallará:

- Datos correspondientes a la sangre total y al plasma.
- Contenido en Mg en el diente de rata C y Mg-D.
- Contenido en Ca en el diente de rata C y Mg-D.
- Contenido en P en el diente de rata C y Mg-D.
- Contenido en Fe en el diente de rata C y Mg-D.
- Contenido en Cu en el diente de rata C y Mg-D.
- Contenido en Zn en el diente de rata C y Mg-D.
- Contenido en Mn en el diente de rata C y Mg-D.

Datos correspondientes a la sangre total y al plasma.

Los datos correspondientes al plasma analizado en las ratas que siguieron la dieta C y las que ingirieron la dieta Mg-D, fueron los siguientes:

	Mg sangre total(mg/100ml)		Mg plasma(mg/100ml)	
	Control	Mg-D	Control	Mg-D
Semana 3	9,20 ± 0,26	8,20 ± 0,35*	2,05 ± 0,03	1,93 ± 0,07
Semana 5	9,00 ± 0,24	4,90 ± 0,28***	2,25 ± 0,09	1,91 ± 0,06**
Semana 7	8,90 ± 0,42	4,50 ± 0,15***	2,30 ± 0,09	1,77 ± 0,03***
Semana 10	8,70 ± 0,34	3,60 ± 0,12***	2,20 ± 0,08	1,62 ± 0,03***

Tabla X. Contenido en Mg de la sangre y plasma. Valores medios de 10 animales ± EEM. *: p<0,05; **: p<0,02; ***: p<0,001

	Ca sangre total(mg/100ml)		Ca plasma(mg/100ml)	
	Control	Mg-D	Control	Mg-D
Semana 3	29,3 ± 1,80	34,1 ± 2,06	8,02 ± 0,95	7,69 ± 0,32
Semana 5	23,03 ± 0,85	40,6 ± 1,67****	7,28 ± 0,49	9,82 ± 0,46****
Semana 7	23,9 ± 2,08	52,5 ± 0,88****	8,0 ± 0,82	11,19 ± 0,45****
Semana 10	27,5 ± 1,48	53,0 ± 0,98****	7,85 ± 0,65	11,80 ± 0,42****

Tabla XI. Contenido en Ca de la sangre y plasma. Valores medios de 10 animales ± EEM. *****: p<0,001

	P sangre total(mg/100ml)		P plasma(mg/100ml)	
	Control	Mg-D	Control	Mg-D
Semana 3	44,7 ± 4,59	24,4 ± 2,75****	5,5 ± 0,70	2,9 ± 0,35****
Semana 5	45,2 ± 2,70	32,7 ± 6,13	5,9 ± 0,32	3,5 ± 0,71***
Semana 7	43,2 ± 2,83	33,7 ± 3,20	4,6 ± 0,32	3,5 ± 0,40*
Semana 10	39,9 ± 4,85	25,4 ± 2,14**	4,6 ± 0,68	2,3 ± 0,23****

Tabla XII. Contenido en P de la sangre y plasma. Valores medios de 10 animales ± EEM. *: p<0,05; **: p<0,02; ***: p<0,01; *****: p<0,001

La concentración de Mg en sangre total en animales deficientes, fue significativamente menor desde la tercera semana en adelante, mientras que la concentración de Mg en plasma no resultó significativamente menor hasta la semana 5 de la experiencia (Tabla X).

La dieta Mg-D provoca un incremento de la concentración de Ca en sangre, que es significativa a partir de la semana 5, dicho aumento se acentúa a medida que avanza el período de investigación (Tabla XI).

En el plasma de las ratas Mg-D se aprecian cambios semejantes a los de la sangre total (Tabla XI).

La dieta carente de Mg da lugar a un descenso significativo en los niveles sanguíneos de P, que son significativos desde la semana 10 (Tabla XII).

El P plasmático, varía de modo semejante a como lo hace la sangre total, pero en este caso ya se observan caídas significativas en todas las semanas de observación (Tabla XII).

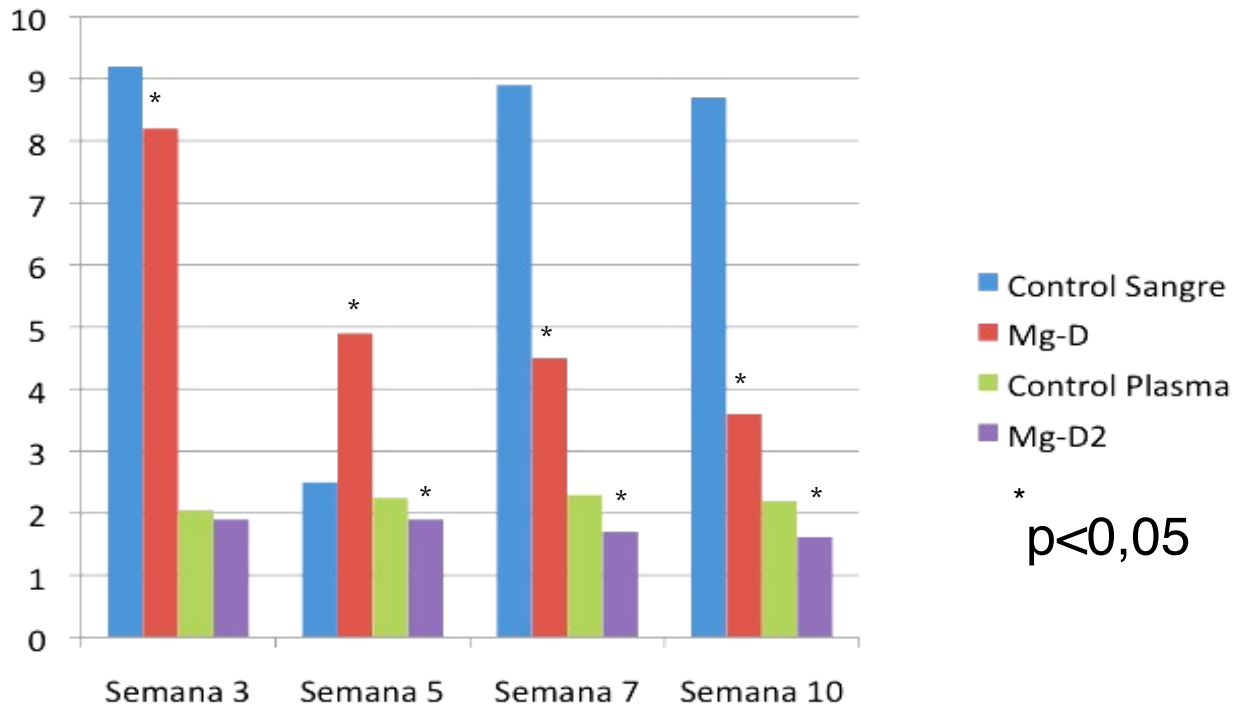


Figura 5. Contenido en Mg de la sangre y plasma. Valores medios de 10 animales \pm EEM. *: $p < 0,05$; **: $p < 0,02$; ***: $p < 0,001$

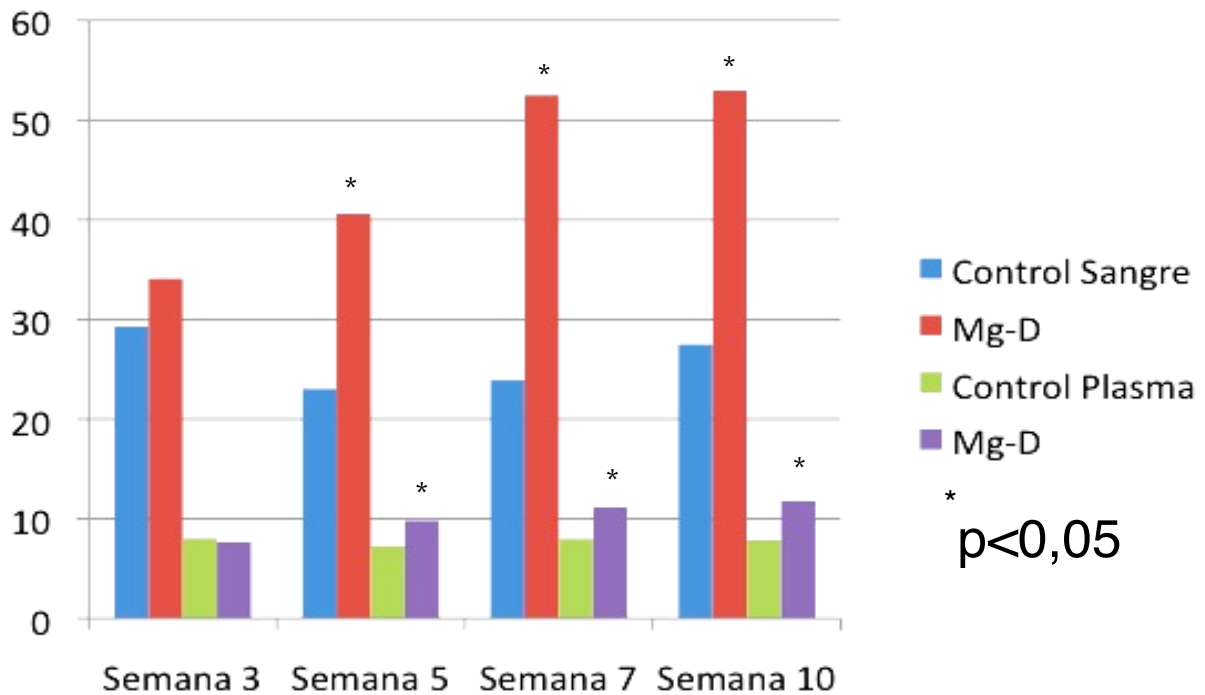


Figura 6. Contenido en Ca de la sangre y plasma. Valores medios de 10 animales \pm EEM. *****: $p < 0,001$

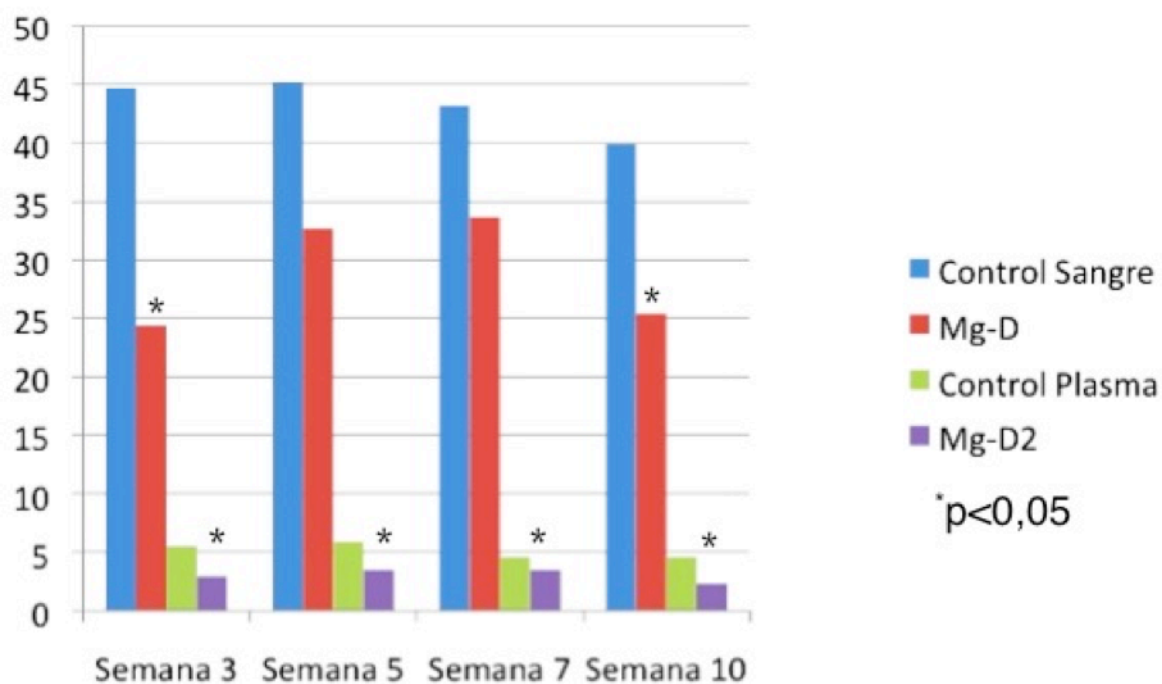


Figura 7. Contenido en P de la sangre y plasma. Valores medios de 10 animales \pm EEM. *: $p < 0,05$; **: $p < 0,02$; ***: $p < 0,01$; ****: $p < 0,001$

Contenido en Mg en el diente de rata C y Mg-D:

Grupo	Semana	Media	Desv Típica	N
Control	3	4,220	0,4590	10
	5	4,940	1,1177	10
	7	4,570	0,7587	10
	10	4,820	0,5350	10
	Total	4,637	0,7834	40
Mg-D	3	3,156	0,5102	9
	5	3,078	0,8700	9
	7	2,700	0,8071	8
	10	2,456	0,6346	9
	Total	2,851	0,7437	35
Total	3	3,716	0,7205	19
	5	4,058	1,3688	19
	7	3,739	1,2195	18
	10	3,700	1,3392	19
	Total	3,804	1,1757	75

Tabla XIII. Contenido en Mg en el diente de rata C y Mg-D (datos en mg/gr. tejido).

Origen	Suma Cuadrados Tipo III	gl	Media Cuadrática	F	Significación
Modelo Corregido	65,472	7	9,353	17,021	
Intersección	1044,276	1	1044,276	1900,386	
Grupo	59,745	1	59,745	108,725	0,000*
Semana	1,814	3	0,605	1,101	0,355
Grupo-Semana	4,110	3	1,370	2,493	0,067
Error	36,817	67	0,550		
Total	1187,570	75			
Total Corregida	102,289	74			

Tabla XIV. Pruebas de los efectos inter-sujetos. * $p < 0,001$.

La ingesta de una dieta deficiente en Mg provoca alteraciones minerales en la composición dentaria en cuanto al Mg se refiere. Las ratas alimentadas con una dieta deficiente tienen un menor contenido en Mg en su dentición que aquellos con una dieta C, es decir, hay diferencias significativas entre ambos grupos al comparar la influencia de las dietas sobre el contenido mineral de Mg en los incisivos analizados (dieta C tienen una media de contenido en Mg de 4,637 frente al 2,851 de las ratas con dieta Mg-D).

Sin embargo, el análisis estadístico llevado a cabo muestra que no hay diferencias significativas si analizamos el tiempo que los animales consumieron las dietas diseñadas ni diferencias al comparar cada uno de los grupos con el tiempo de duración de la experiencia.

Contenido en Ca en el diente de rata C y Mg-D:

Grupo	Semana	Media	Desv Típica	N
Control	3	236,40	20,576	10
	5	239,70	15,203	10
	7	249,30	22,998	10
	10	243,70	38,529	10
	Total	242,28	25,286	40
Mg-D	3	258,00	53,362	9
	5	282,00	53,050	9
	7	325,38	64,604	8
	10	352,78	37,006	9
	Total	303,94	62,763	35
Total	3	246,63	40,000	19
	5	259,74	42,863	19
	7	283,11	59,259	18
	10	295,37	66,694	19
	Total	271,05	55,733	75

Tabla XV. Contenido en Ca en el diente de rata C y Mg-D (datos en mg/gr. tejido).

Origen	Suma Cuadrados Tipo III	gl	Media Cuadrática	F	Significación
Modelo Corregido	120381,656	7	17197,379	10,525	
Intersección	5573679,278	1	5573679,278	3411,123	
Grupo	72264,799	1	72264,799	44,226	0,000*
Semana	31130,512	3	10376,837	6,351	0,001*
Grupo-Semana	20948,378	3	6982,793	4,274	0,008*
Error	109476,131	67	1633,972		
Total	5740101,000	75			
Total Corregida	229857,787	74			

Tabla XVI. Pruebas de los efectos inter-sujetos. *p<0,05.

Origen	Suma Cuadrados Tipo III	gl	Media Cuadrática	F	Significación
Modelo Corregido	925,275	3	308,425	0,462	
Intersección	2347887,025	1	2347887,025	3520,261	
Semana	925,275	3	308,425	0,462	0,710
Error	24010,700	36	666,964		
Total	2372823,000	40			
Total Corregida	24935,975	39			

Tabla XVII. Pruebas de los efectos inter-sujetos ratas C. *p<0,05.

Los resultados obtenidos muestran que existen diferencias estadísticamente significativas entre el grupo C y el Mg-D en cuanto a la interacción del tiempo que los especímenes están tomando las dietas y el contenido en Ca de sus dientes. Por ello, se realizaron comparaciones múltiples entre los grupos C y Mg-D y el tiempo de ingesta de las dietas, obteniéndose los siguientes resultados (Tabla XVI, XVII, XVIII):

Origen	Suma Cuadrados Tipo III	gl	Media Cuadrática	F	Significación
Modelo Corregido	48468,455	3	16156,152	5,860	
Intersección	3237591,687	1	3237591,687	1174,338	
Semana	48468,455	3	16156,152	5,860	0,003*
Error	85465,431	31	2756,949		
Total	3367278,000	35			
Total Corregida	133933,886	34			

Tabla XVIII. Pruebas de los efectos inter-sujetos ratas Mg-D. *p<0,05.

En cuanto a las ratas C, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el contenido en Ca de sus dientes, a lo largo de todos los períodos de tiempo analizados.

El contenido en Ca de las ratas Mg-D es mayor que el de las ratas C, las pruebas estadísticas, indican que esa diferencia de contenido mineral varía a lo largo del tiempo de observación de la siguiente manera (Tabla XIX):

Semana	Media	Desv Típica	N
3	258,00 ^a	53,362	9
5	282,00 ^a	53,050	9
7	325,38 ^{a,b}	64,604	8
10	352,78 ^b	37,006	9
Total	303,94	62,763	35

Tabla XIX. Estadísticos descriptivos del grupo Mg-D.

Los superíndices con la misma letra indican que no hay diferencias significativas, al 95%, entre ellos

La cantidad de Ca en los dientes de las ratas que siguieron una dieta Mg-D es mayor que aquellas que consumieron una dieta C. La cantidad de Ca encontrada en los incisivos de las primeras aumentó de manera significativa desde la tercera semana de observación hasta la décima semana.

Contenido en P en el diente de rata C y Mg-D:

Grupo	Semana	Media	Desv Típica	N
Control	3	102,605	8,3475	10
	5	107,625	16,9898	10
	7	106,186	10,6588	10
	10	105,413	7,9339	10
	Total	105,457	11,2634	40
Mg-D	3	77,507	15,0006	9
	5	77,122	17,5342	9
	7	76,395	16,5162	8
	10	77,200	15,8496	9
	Total	77,075	15,5151	35
Total	3	90,716	17,3384	19
	5	93,176	22,9307	19
	7	92,946	20,1121	18
	10	92,049	18,7774	19
	Total	92,212	19,5107	75

Tabla XX. Contenido en P en el diente de rata C y Mg-D (datos en mg/gr. tejido).

El contenido en P de los dientes de las ratas C y las Mg-D difieren en cuanto a las dietas ingeridas por ambos grupos (dieta C contenido en P de 105,457 de media frente al 77,075 de la dieta Mg-D) siendo este menor en las segundas. Es decir, este mineral se comporta de la misma manera que el Mg en las ratas con una dieta deficiente.

Origen	Suma Cuadrados Tipo III	gl	Media Cuadrática	F	Significación
Modelo Corregido	15176,336	7	2168,048	11,180	
Intersección	620944,335	1	620944,335	3201,992	
Grupo	15036,258	1	15036,258	77,537	0,000*
Semana	51,028	3	17,009	0,088	0,967
Grupo-Semana	81,338	3	27,113	0,140	0,936
Error	12992,936	67	193,924		
Total	665900,087	75			
Total Corregida	28169,272	74			

Tabla XXI. Pruebas de los efectos inter-sujetos. * $p < 0,001$.

No se encontraron diferencias significativas en cuanto al tiempo que se ingirieron ambas dietas ni a la interacción dieta-tiempo.

Contenido en Fe en el diente de rata C y Mg-D:

Grupo	Semana	Media	Desv Típica	N
Control	3	80,270	5,5586	10
	5	83,650	7,6197	10
	7	84,490	6,5697	10
	10	85,880	12,0090	10
	Total	83,573	8,2552	40
Mg-D	3	75,944	7,4324	9
	5	93,356	14,5789	9
	7	90,650	8,8392	8
	10	99,489	16,8270	9
	Total	89,837	14,9966	35
Total	3	78,221	6,7025	19
	5	88,247	12,1772	19
	7	87,228	8,0587	18
	10	92,326	15,7063	19
	Total	86,496	12,2126	75

Tabla XXII. Contenido en Fe en el diente de rata C y Mg-D (datos en mg/gr. tejido).

Origen	Suma Cuadrados Tipo III	gl	Media Cuadrática	F	Significación
Modelo Corregido	3595,544	7	513,649	4,625	
Intersección	560690,996	1	560690,996	5048,281	
Grupo	736,854	1	736,854	6,634	0,012
Semana	2152,602	3	717,534	6,460	0,001*
Grupo-Semana	842,864	3	280,955	2,530	0,065
Error	7441,404	67	111,066		
Total	572153,800	75			
Total Corregida	11036,949	74			

Tabla XXIII. Pruebas de los efectos inter-sujetos. * p<0,001.

En el caso del Fe, los resultados estadísticos muestran que no hay diferencias estadísticamente significativas ($p= 0,065$) en el comportamiento de las ratas C y Mg-D a lo largo de las semanas de duración de la experiencia (Tabla XXIII).

Por otro lado, sí se encontraron diferencias significativas al 95% ($p= 0,012$) en el contenido en Fe del tejido dentario del grupo C y grupo Mg-D. Así como los resultados también fueron significativos ($p=0,001$) al analizar las semanas que duró la experiencia, es decir la semana 3 fue distinta de la 7, 5 y 10 (Tabla XXIII).

Contenido en Cu en el diente de rata C y Mg-D:

Grupo	Semana	Media	Desv Típica	N
Control	3	0,7160	0,13599	10
	5	0,8090	0,19902	10
	7	0,7230	0,12093	10
	10	0,7680	0,12839	10
	Total	0,7540	0,14842	40
Mg-D	3	0,9322	0,33988	9
	5	1,1378	0,29150	9
	7	1,6538	0,76425	8
	10	2,2944	0,42571	9
	Total	1,5003	0,70906	35
Total	3	0,8184	0,26998	19
	5	0,9647	0,29328	19
	7	1,1367	0,68901	18
	10	1,4911	0,83783	19
	Total	1,1023	0,61895	75

Tabla XXIV. Contenido en Cu en el diente de rata C y Mg-D (datos en mg/gr. tejido).

Origen	Suma Cuadrados Tipo III	gl	Media Cuadrática	F	Significación
Modelo Corregido	20,404	7	2,915	24,580	
Intersección	95,087	1	95,087	801,847	
Grupo	10,501	1	10,501	88,550	0,000*
Semana	5,348	3	1,783	15,033	0,000*
Grupo-Semana	5,191	3	1,730	14,591	0,000*
Error	7,945	67	0,119		
Total	119,474	75			
Total Corregida	28,349	74			

Tabla XXV. Pruebas de los efectos inter-sujetos. * $p < 0,001$.

Los resultados muestran que existen diferencias estadísticamente significativas entre el grupo C y el Mg-D en cuanto al del tiempo que los animales C y Mg-D consumieron las dietas y el contenido en Cu de sus dientes (Tabla XXV). Por ello, se realizaron comparaciones múltiples entre los grupos C y Mg-D y el tiempo de ingesta de las dietas, obteniéndose los siguientes resultados (Tabla XXVI, XXVII)

Origen	Suma Cuadrados Tipo III	gl	Media Cuadrática	F	Significación
Modelo Corregido	0,056	3	0,19	0,841	
Intersección	22,741	1	22,741	1019,633	
Semana	0,056	3	0,019	0,841	0,480
Error	0,803	36	0,022		
Total	23,600	40			
Total Corregida	0,859	39			

Tabla XXVI. Pruebas de los efectos inter-sujetos ratas C. * $p < 0,05$.

En cuanto a las ratas C, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,480$) a lo largo de todos los períodos de tiempo que duró la experimentación (Tabla XXVI).

Origen	Suma Cuadrados Tipo III	gl	Media Cuadrática	F	Significación
Modelo Corregido	9,952	3	3,317	14,398	
Intersección	79,023	1	79,023	342,984	
Semana	9,952	3	3,317	14,398	0,000*
Error	7,142	31	0,230		
Total	95,874	35			
Total Corregida	17,094	34			

Tabla XXVII. Pruebas de los efectos inter-sujetos ratas Mg-D. * $p<0,05$.

El contenido en Cu de las ratas Mg-D (1,5003mg/tejido) es significativamente mayor que el de las ratas C (0,7540mg/tejido) (Tabla XXIV, Tabla XXVII). Las pruebas estadísticas, indican que esa diferencia en el contenido de este mineral varía a lo largo de las semanas como se muestra a continuación (Tabla XXVIII):

No se alcanzaron resultados estadísticamente significativos al 95% ($p=0,081$) entre los grupos en la semana 3. En contraposición, sí hay diferencias estadísticamente significativas al 95% en la semana 5 ($p=0,010$), la 7 ($p=0,002$) y la semana 10 ($p<0,01$).

Semana	Media	Desv Típica	N
3	,9322 ^a	,33988	9
5	1,1378 ^b	,29150	9
7	1,6538 ^a	,76425	8
10	2,2944 ^{a,b}	,42571	9

Tabla XXVIII. Estadísticos descriptivos del grupo Mg-D.

Los superíndices con la misma letra indican que no hay diferencias significativas, al 95%, entre ellos

Contenido en Zn en el diente de rata C y Mg-D

Grupo	Semana	Media	Desv Típica	N
Control	3	446,85	91,920	10
	5	458,30	126,138	10
	7	456,30	34,545	10
	10	450,90	36,364	10
	Total	453,09	78,885	40
Mg-D	3	480,67	104,760	9
	5	655,33	106,259	9
	7	612,88	131,500	8
	10	622,33	200,148	9
	Total	592,23	151,373	35
Total	3	462,87	96,970	19
	5	551,63	152,282	19
	7	525,89	119,002	18
	10	532,11	161,862	19
	Total	518,02	136,716	75

Tabla XXIX. Contenido en Zn en el diente de rata C y Mg-D (datos en mg/gr. tejido).

Origen	Suma Cuadrados Tipo III	gl	Media Cuadrática	F	Significación
Modelo Corregido	521624,220	7	74517,746	5,795	
Intersección	2,03937	1	2,03937	1585,777	
Grupo	363871,033	1	363871,033	28,298	0,000*
Semana	94060,705	3	31353,568	2,438	0,072
Grupo-Semana	74711,074	3	24903,691	1,937	0,132
Error	861526,000	67	12858,597		
Total	2,15137	75			
Total Corregida	1383150,220	74			

Tabla XXX. Pruebas de los efectos inter-sujetos. * $p < 0,001$.

El comportamiento del Zn fue similar al observado en el Fe. Los resultados estadísticos concluyen que no hay diferencias estadísticamente significativas ($p= 0,072$) en el comportamiento de las ratas C y Mg-D a lo largo de las semanas en las que se varió la dieta (Tabla XXX).

Por otro lado, sí se encontraron diferencias significativas al 95% ($p<0,001$) en el contenido de Zn del tejido dentario del grupo C y grupo Mg-D (Tabla XXX).

Sin embargo, los resultados al comparar cada una de las semanas (3, 5, 7 y 10) mostraron un comportamiento no significativo ($p=0,072$) es decir, no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre las distintas semanas en las ratas C y Mg-D (Tabla XXX).

Contenido en Mn en el diente de rata C y Mg-D:

Grupo	Semana	Media	Desv Típica	N
Control	3	16,630	3,2204	10
	5	15,934	2,9725	10
	7	14,610	2,6685	10
	10	16,040	2,1093	10
	Total	15,803	2,7679	40
Mg-D	3	22,667	7,5629	9
	5	26,498	8,4154	9
	7	27,300	10,1614	8
	10	28,744	9,1845	9
	Total	26,274	8,7492	35
Total	3	19,489	6,3401	19
	5	20,938	8,0783	19
	7	20,250	9,4015	18
	10	22,058	9,1659	19
	Total	20,690	8,1769	75

Tabla XXXI. Contenido en Mn en el diente de rata C y Mg-D (datos en mg/gr. tejido).

Origen	Suma Cuadrados Tipo III	gl	Media Cuadrática	F	Significación
Modelo Corregido	2249,061	7	321,294	7,977	
Intersección	33048,081	1	33048,081	820.462	
Grupo	2054,645	1	2054,645	51,009	0,000*
Semana	72,041	3	24,014	0,596	0,620
Grupo-Semana	138,695	3	46,232	1,148	0,336
Error	2698,750	67	40,280		
Total	37052,278	75			
Total Corregida	4947,812	74			

Tabla XXXII. Pruebas de los efectos inter-sujetos. * p<0,001.

Los resultados obtenidos al analizar el comportamiento del Mn en ambos roedores coinciden plenamente con lo observado en el caso del Zn.

Tras las pruebas matemáticas, observamos que no hay diferencias estadísticamente significativas ($p= 0,336$) en el comportamiento de las ratas C y Mg-D en cuanto a semanas de duración de la experiencia (Tabla XXXII).

Al igual que lo acontecido en el caso del Zn, sí se encontraron diferencias significativas al 95% ($p<0,001$) en el contenido de Mn en los dientes del grupo C y grupo Mg-D (Tabla XXXII).

Al realizar la comparación de los grupos de semanas, cada una de las semanas, éstas se comportaron de manera no significativa ($p=0,620$) es decir, no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre las distintas semanas en los controles y en aquellos animales con dieta modificada (Tabla XXXII).

Discusión.

Discusión.

El presente trabajo se trata de un modelo de experimentación básica, realizado en 80 ratas Wistar durante 10 semanas, sobre la influencia que una dieta Mg-D tiene sobre el contenido mineral de Mg, Ca, P, Fe Cu, Zn y Mn en el diente de rata en relación con ratas control alimentadas *pair fed*.

En nuestro trabajo, al igual que en el trabajo de Bussière y col¹¹⁷ (2002), a los pocos días de comenzar la experimentación se constata el primer signo, en la muestra Mg-D, característico de la deficiencia en Mg, se trata de la aparición simultanea de eritema, hiperemia y edema, predominantemente en la zona de las orejas.

El descenso en el aumento de peso de los animales deficientes durante las 4 primeras semanas, se debió a la menor ingesta de Mg, ya que durante este período el consumo de alimento tiende a ser similar o superior a los controles. Estos resultados coinciden con los encontrados por Aranda y col¹¹⁸ en 1990 al estudiar la recuperación de animales que habían ingerido durante 30 días una dieta deficiente en Mg y con los hallazgos de Sano y col⁵⁵ en 2005 así como con los McCaughey y Tordoff¹¹¹ en 1992.

A partir de la cuarta semana comienza a manifestarse uno de los síntomas característicos de la deficiencia en Mg: la anorexia, que se mantendrá hasta el final del período experimental. Este factor da lugar a un todavía mayor descenso en el aporte de Mg y puede ser el responsable de la pérdida de peso en los animales que siguen la dieta deficiente. Este es el motivo por el que las ratas fueron alimentadas *pair-fed* para así poder comprobar que las alteraciones recogidas son fruto de una dieta deficiente y no de una menor ingesta (Figura 4).

Existen evidencias que demuestran que las ratas expresan apetitos por otros minerales, entre estos destacar el P, Fe, Zn y Co. Sin embargo, las ratas privadas de Mg desarrollan una aversión al mismo. Esta afirmación parece contradictoria teniendo en cuenta la importancia de este mineral en el organismo ya que juega un papel fundamental en la contracción muscular, síntesis de ácidos nucleicos así como su actuación como cofactor de muchas reacciones enzimáticas¹⁰⁵.

Como se ha mencionado anteriormente, el Mg es un mineral esencial para unos niveles correctos de otros como son el Ca, P, Fe, Cu, Zn y Mn componentes esenciales del tejido óseo, del tejido dentario y cada uno de ellos fundamentales para un correcto equilibrio de los demás.

Sin embargo, se observan resultados diferentes dependiendo de la muestra y de la procedencia de la misma. Cuando se emplea la rata como animal de experimentación y se analiza la composición de la sangre, la dieta Mg-D da lugar a un aumento en los niveles de calcio, mientras que en el ser humano y otras especies animales origina hipocalcemia¹²⁰⁻¹²⁴.

Rude y col (2009)¹¹⁹ realizaron una revisión sobre los estudios realizados en humanos y en modelos de rata sometidos a una dieta Mg-D, observando que los niveles de PTH y de 1,25(OH)₂ vitamina D son significativamente menores que en los sujetos control en ambas especies, contribuyendo a una disminución en la formación ósea. Se conoce, que las citokinas pueden provocar un aumento en la reabsorción ósea¹⁴. A través de inmunohistoquímica, se ha observado, en ratas Mg-D, un aumento de TNF y IL1 β , lo que estimularía la producción de citokinas y la reabsorción ósea siendo esta especialmente peligrosa en sujetos afectados de osteoporosis^{14,119}.

Un estudio²⁴ realizado sobre 70 ratas Wistar, 70 de ellas alimentadas con una dieta carente de Mg, siendo las otras 70 ratas C. Se sacrificaron en grupos de 10, Mg-D y C, a los 7, 35, 42, 49, 56, 63 y 70 días. Obtuvieron que en las ratas Mg-D los niveles de PTH disminuían significativamente a lo 7, 21 y 35 días mientras que los niveles de Ca en plasma aún no habían variado significativamente. Los niveles de PTH se recuperaban posteriormente manteniéndose sin cambios significativos hasta el final de la experiencia. El aumento de PTH, en un primer momento, estaba relacionado con la disminución significativa del Mg circulante. Estos resultados contradicen los de Rude y col¹¹⁹.

Nuestros resultados (Tablas X, XI, XII) coinciden con el citado trabajo, observando un aumento significativo de la calcemia desde la tercera semana de periodo experimental, que se mantiene a lo largo del mismo hasta el final ($p < 0.05$).

El contenido en Ca de la sangre total (Tabla XI) sigue la misma inclinación que el plasmático, ya que las diferencias significativas se observan en la semana 5. Este dato coincide con lo observado por Sano y col⁵⁵ y Bussièrè y col¹¹⁷.

Para este trabajo⁵⁵, se emplearon 16 ratas Wistar divididas en dos grupos en función de si estaban sometidas a una dieta Mg-D ó C. los animales se sacrificaron a los 17 días de ingerir la dieta. El Mg y Ca se determinaron a través de AAS mientras que para el P se siguió el método de Goldenberg (1966). A pesar de la corta duración del estudio, y más si lo comparamos con nuestra experiencia de 10 semanas, observaron una hipercalcemia significativa ($p < 0,05$) en la sangre de los especímenes Mg-D en relación con los C⁵⁵.

Es conocido que aproximadamente la mitad del Ca circulante se encuentra en forma iónica libre, siendo esta fracción la que más importancia fisiológica tiene¹.

Los cambios en el Ca iónico, provocarían cambios en la actividad neuromuscular y en los diferentes procesos bioquímicos en los que el Ca interviene. El resto del Ca plasmático circula ligado a proteínas séricas, hecho dependiente del pH. Si el pH es ácido, la unión sería menor^{1,19,24}.

La regulación del fosfato plasmático es más complicada, ya que el fosfato circulante se encuentra en equilibrio no sólo con el fosfato inorgánico, esquelético y celular, sino también con un elevado número de compuestos^{1,26,27}.

Así el P está relacionado con el metabolismo energético, ya que forma parte de la molécula de ATP, la cual proporciona la principal fuente de energía en varios procesos metabólicos (transporte activo, reacciones de biosíntesis, etc.)^{1,19,24}.

También forma parte de segundos mensajeros hormonales como el AMP_c, GMP_c, inositol trifosfato; 2,3 difosfoglicerato, regulador de la liberación de oxígeno por la hemoglobina; de proteínas como calbomodulina (proteína intracelular ligadora de Ca), estamina (participa en la proliferación y diferenciación celular) y glutaminasa (interviene en la eliminación de NH₃ y en la regulación ácido-base)^{1,20,119}.

En cuanto al descenso encontrado en los niveles plasmáticos de P (Tabla XII), estos podrían ser debidos a la elevada excreción urinaria existente desde los primeros días²³.

La hipofosfatemia asociada con hipercalcemia, en ratas deficientes en Mg, ha sido descrita en varios trabajos^{19,125}.

El primero de los estudios¹²⁵ se llevó a cabo sobre 70 ratas, la mitad siguieron una dieta Mg-D y la otra mitad una dieta C. Se formaron grupos en función de la recogida de muestras: a los 7, 35, 42, 49, 56, 63 y 70 días.

Los resultados mostraron un aumento significativo del Ca en el plasma recogido de las ratas Mg-D. Este aumento ya era evidente y significativo desde la primera recogida de plasma (día 7). Los niveles de P en plasma de los especímenes Mg-D, sin embargo, se encontraban significativamente disminuidos desde el día 35 hasta el final del tiempo de trabajo. En cuanto a la sangre total, la modificación significativa, en cuanto a los niveles de P se refiere, no aparece hasta el día 56, manteniéndose hasta el final¹²⁵.

En el segundo de los trabajos¹⁹ mencionados, la población de ratas Wistar empleadas fue de 140, 70 de ellas alimentadas con una dieta Mg-D, 70 con una dieta control. En los 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63 y 70 se analizó el contenido en Ca y P de plasma y sangre total.

Se observó que las ratas sometidas a una dieta deficiente tenían un incremento en la concentración de Ca en sangre, dicho incremento era significativo a partir del día 28 siendo más elevado a medida que continuaba el estudio. En cuanto a los niveles sanguíneos de P, estos experimentaban un descenso progresivo desde el día 56 hasta el final mientras que en los plasmáticos se observaban caídas significativas en los días 21, 35 y del 49 al final¹⁹.

Las conclusiones de ambos trabajos coinciden al afirmar que la disminución en la concentración P plasmático se debe a la hipofosfaturia producida por la dieta Mg-D junto con la formación de cristales insolubles de fosfato que precipitan a nivel del riñón.

Estos datos se reflejan en las diferencias en cuanto al contenido mineral de Mg, Ca y P, del diente de rata Mg-D con respecto a las ratas C alimentadas *pair fed*.

Los animales deficientes mostraron en su tejido dentario unos niveles de Mg (Tablas XIII, XIV, Figura 8) más bajos que los de las ratas sometidas a una dieta normal. Este descenso comenzaba a partir de la quinta semana alcanzando su pico máximo en la décima semana de exposición a la dieta Mg-D.

Sano y col⁵⁵ (2005), en su estudio sobre ratas Mg-D observaron una disminución significativa en cuanto al contenido en Mg en la dentina en formación, de estos animales, entre la primera y segunda semana de experimentación, lo que daba lugar a la aparición de una capa defectuosa de dentina. Además, constataron una disminución de dentina en formación en ratas Mg-D en relación con las C. Este dato guarda relación con las alteraciones en la formación de hueso en ratas Mg-D, en las que dicha osteogénesis es significativamente menor que aquellas que no presentan restricciones en Mg en cuanto al contenido de su dieta se refiere^{22,118,125,127}.

Como se ha mencionado, todas las reacciones enzimáticas dependientes de ATP requieren del Mg, no hay que olvidar que el Mg como cofactor es necesario en aproximadamente 2/3 de los procesos enzimáticos^{1,128}. Por lo que sería de suponer que en las ratas Mg-D de nuestra experiencia en déficit alimentario en Mg provocaría una alteración en los sistemas enzimáticos lo que conduciría a una reducción en la activación de los odontoblastos, en la composición de colágeno y por lo tanto, en la formación de dentina de calidad. Este dato coincide plenamente con lo hallado por Weinreb y col¹²⁹ (1973) y Kiely y Domm¹³⁰ (1977) ambos grupos demostraron cómo una dieta Mg-D en ratas conducía a una atrofia y degeneración de los osteoblastos con la consiguiente alteración de los tejidos duros.

Pero el Mg no sólo interviene en procesos enzimáticos, también es conocida su influencia en la proliferación celular, diferenciación y diversas funciones celulares, lo que también explicaría los resultados de nuestro estudio.

En cuanto a los niveles de Ca (Tablas XV-XIX, Figura 9) los resultados son totalmente diferentes, mostrando un contenido en Ca dental cada vez mayor en las ratas deficientes con respecto a las alimentadas sin restricción de Mg.

El cambio en la cantidad de Ca presente en los incisivos analizados se produce de la tercera a la quinta semana de observación (de $258,00 \pm 53,362$ mg/g de tejido a $282,00$ mg/g de tejido), alcanzando en la décima semana ($352,78 \pm 37,006$ mg/g de tejido de Ca) una significación estadística de $p < 0,001$. Este hecho coincide con los mayores niveles de hipercalcemia presentes en la cantidad total de sangre analizada ($53,0 \pm 0,98$ mg/100ml en ratas Mg-D frente a los $27,5 \pm 1,48$ mg/100ml en ratas C con una significación estadística de $p < 0,001$).

Como se ha mencionado anteriormente, las ratas sometidas a hipomagnesemia muestran hipercalcemia ya que el Mg se considera un antagonista fisiológico del Ca. El aumento de Ca dentario se debe a un mayor depósito en los tejidos duros de este mineral, excedente en la situación de déficit en Mg provocada experimentalmente. Es decir, en la rata, la carencia de Mg, da lugar a un aumento de los depósitos de Ca a nivel dentario.

Kiely y Domm¹³⁰ (1977) observaron en ratas Mg-D una calcificación generalizada en la cavidad pulpar de estos roedores así como un mayor contenido en Ca en dentina y esmalte.

No hay que olvidar que existe cierta competitividad Mg-Ca por los transportadores intracelulares, si provocamos una situación de déficit de Mg, el

transporte intracelular de Ca se vería beneficiado y así como también la mineralización dentaria.

En el presente trabajo, el Cu, al igual que el Ca, aumentó de forma significativa ($p < 0,001$) en las piezas dentarias de las ratas Mg-D: 1,5003mg/tejido vs. 0,7540mg/tejido C (Tabla XXIV, Tabla XXVII). Las pruebas estadísticas, indicaron que esa diferencia en variaba a lo largo de las semanas (Tabla XXVIII, Figura 12) desde la semana 5 ($p = 0,010$), la 7 ($p = 0,002$) y la 10 ($p < 0,01$).

Recientemente se ha investigado el potencial de los iones Cu^{2+} para, en combinación con el P, proteger las superficies dentarias de la acción cariógena de los ácidos de la boca.

Brookes y col (2002) empleando premolares libres de caries, previamente extraídos, los expusieron a concentraciones cada vez mayores de Cu^{2+} con el objetivo de observar el poder aparentemente protector de este ión frente a la desmineralización que el esmalte dentario sufre en los procesos de caries. Los resultados fueron abrumadores. 10mmol/l Cu^{2+} protege los tejidos dentarios un 60-70% más frente a la agresión ácida. El mecanismo de acción es aún desconocido, se cree que podría realizarse a través de interacciones con la estructura cristalina del esmalte o a través de la capa de Stern²¹.

Mafe y col en su estudio, relacionaron los efectores protectores del Cu y Ca en la capa de Stern. Para estos investigadores sería el Ca el que sustituiría al Cu en la capa de superficial de Stern logrando una mayor resistencia de los tejidos duros¹²⁹.

En lo que se refiere al Fe (Tablas XXII, XXIII, Figura 11), Zn (Tablas XXIX, XXX, Figura 13) y Mn (Tablas XXXI, XXXII, Figura 14) se recogió un aumento

significativo de estos minerales en las muestras dentarias de los animales sometidos a la dieta modificada.

Tras las pruebas matemáticas, se observó que no había diferencias estadísticamente significativas en el comportamiento de las ratas C y Mg-D a lo largo de las semanas.

Sin embargo, sí se encontraron diferencias significativas al 95% en cuanto al contenido de estos minerales en los dientes del grupo C y grupo Mg-D dando lugar a un aumento de los mismos en la muestra problema.

Sánchez-Morito y col²² (1999) estudiaron la relación, en ratas wistar, entre el Mg y el Mn a través de una dieta deficiente en el primero, comparando los resultados con ratas C. Observaron que la deficiencia en Mg aumentaba significativamente la absorción de Mn, dicho incremento se reflejó en la presencia de depósitos de Mn en tejidos duros y blandos, a excepción del esternón y el hígado.

Así mismo, observaron que la deficiencia en Mg podía afectar indirectamente a la absorción de Mn, alterando la disponibilidad de otros cationes divalentes como el Ca, Cu y Zn. Teorías recientes sugieren la existencia de competitividad entre iones divalentes por los sistemas de transporte, en este trabajo se demostró la interacción entre los cationes Mn-Fe en el hígado²².

El Fe de la dieta es el mineral que mayor efecto tiene sobre la absorción del Mn (mayor que el Ca, K y Níquel (Ni)). La absorción de Mn esta negativamente asociada con la concentración de ferritina sérica en las mujeres jóvenes. Por lo tanto, a bajas concentraciones de ferritina en sangre, mayor será la absorción de Mn¹³¹.

En presencia de altas concentraciones de Mn, los transportadores introducirán mayores cantidades del mismo al interior de las células, en concreto a la mitocondria, donde interferirá con la fosforilación oxidativa disminuyendo las reservas energéticas de las células y alterando, de este modo, las reacciones enzimáticas del organismo¹³².

Pero el Fe no sólo se relaciona con el Mn, su relación con el Mg, Ca y P ha sido ampliamente estudiada². Así se conocen, por ejemplo, los efectos que la anemia ferropénica produce sobre los anteriores cationes. Esta patología provoca cambios hormonales alterando los niveles de PTH en sangre. La absorción de Mg, Ca y P aumentaría de manera significativa ya que el mismo receptor podría participar en la absorción de cationes químicamente similares¹³³.

Sumado a esto, la deficiencia en Mg se sabe que provoca un aumento de Fe en diferentes tejidos, posiblemente a través de mecanismos como aquellos relacionados con un aumento en la fragilidad y destrucción de los eritrocitos. En bastantes déficits experimentales de Mg, aunque no en todos, se ha observado la presencia de anemias hemolíticas en los sujetos de experimentación¹⁸.

Este hecho explicaría el aumento sufrido por el Fe en nuestro trabajo, la dieta Mg-D provoca un descenso tanto del Mg como del P permitiendo, de este modo, un aumento significativo de la absorción tanto del Fe como del Ca.

Para Sánchez-Morito y col³ (2000) La deficiencia en Mg en 60 ratas wistar sacrificadas a los 21, 35 y 70 días, provocaba un aumento significativo de la absorción intestinal de Fe así como una disminución en el recuento de células rojas, en relación con animales control, posiblemente como resultado de un aumento en la fragilidad de los eritrocitos. Las interacciones Mg-Fe, junto con la activación de la eritropoyesis como resultado de la hemólisis que provoca la dieta Mg-D, favorece una mayor

absorción intestinal de Fe. Esta situación provocaría un aumento de los niveles plasmáticos de Fe lo que favorecería a su vez un mayor acumulo del mismo en diferentes órganos, especialmente en el hígado y riñón.

En cuanto al Zn se refiere, nuestros resultados coinciden con lo obtenido por Planells y col² evaluaron; en ratas Mg-D y control en intervalos de 7, 35, 42, 49, 56, 63 y 70 semanas; la relación Mg-Zn y cómo este último indirectamente contribuía al desarrollo de la sintomatología provocada por la deficiencia del primero. Sus resultados mostraban un aumento significativo del contenido en Zn del hueso desde el día 35, a pesar de la disminución en la ingesta de los roedores deficientes.

Sin embargo, Yasui y col¹³⁴ (1991) obtuvieron que una dieta deficiente en Ca y en Mg provocaba cambios en la distribución del Zn en los tejidos, en concreto, una disminución del mismo en hueso, hallazgo que se acentuaba más cuando la dieta era pobre en Ca y Mg y rica en aluminio (Al).

De estos resultados se deduce que el aumento e Zn en los depósitos de hueso en el trabajo de Planells y col, causado por la deficiencia en Mg, estaría influenciado no sólo por la interacción Mg-Zn sino por otros iones y/o alteraciones metabólicas resultantes de la falta de Mg².

Por último, el P (Tablas XX, XXI , Figura 10), mostró un comportamiento similar al Mg en las ratas Mg-D. Los niveles fueron menores en los animales sometidos a la dieta modificada en relación a los presentes en las C.

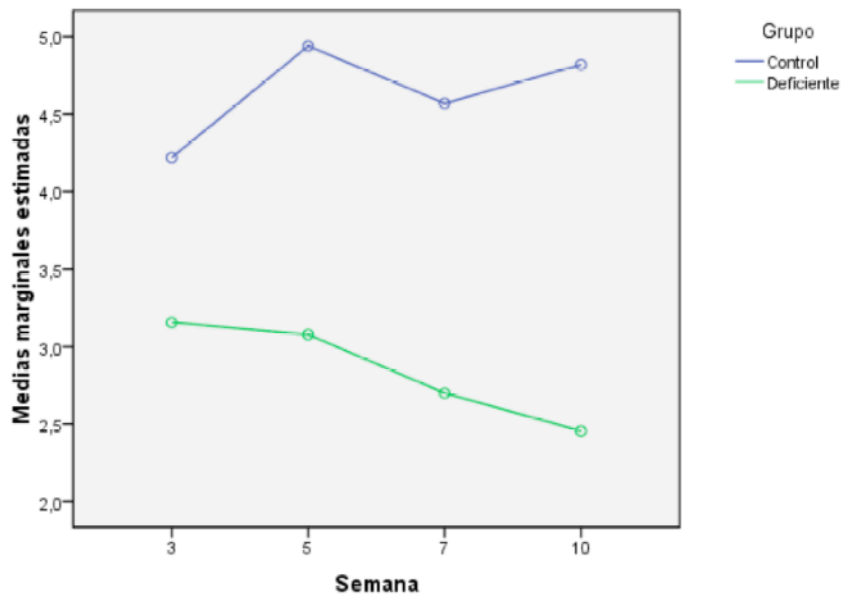


Figura 8 . Medidas marginales estimadas de Mg (mg/g de tejido/semana)

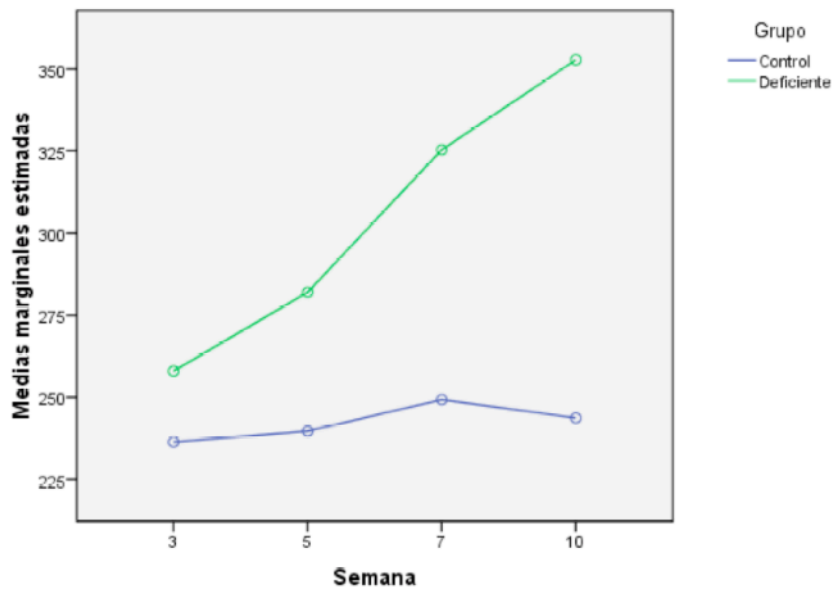


Figura 9 . Medidas marginales estimadas de Ca (mg/g de tejido/semana)

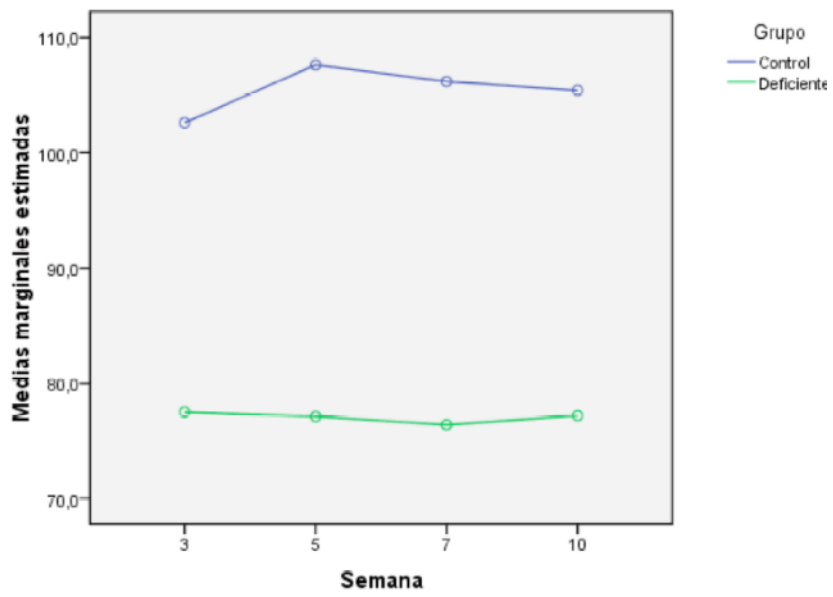


Figura 10. Medidas marginales estimadas de P (mg/g de tejido/semana)

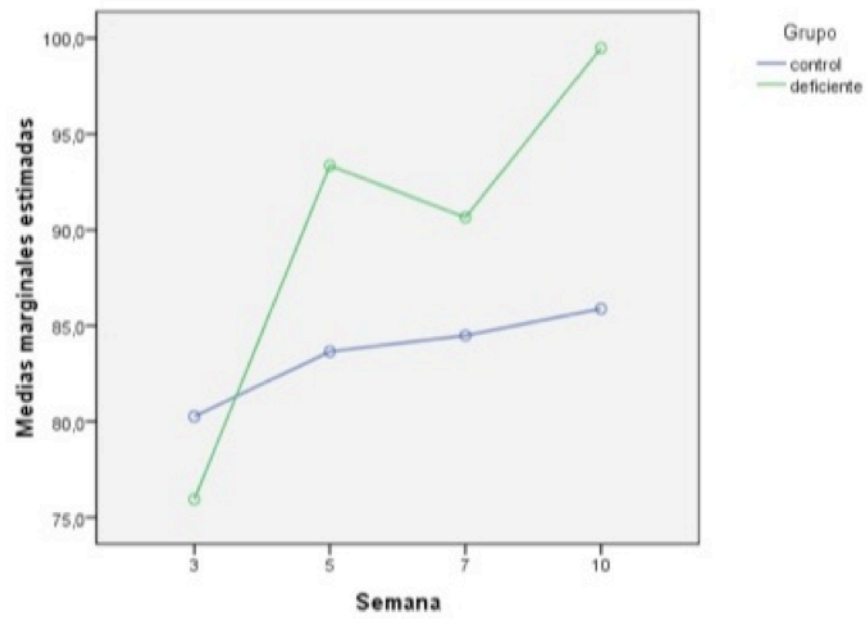


Figura 11. Medidas marginales estimadas de Fe (mg/g de tejido/semana)

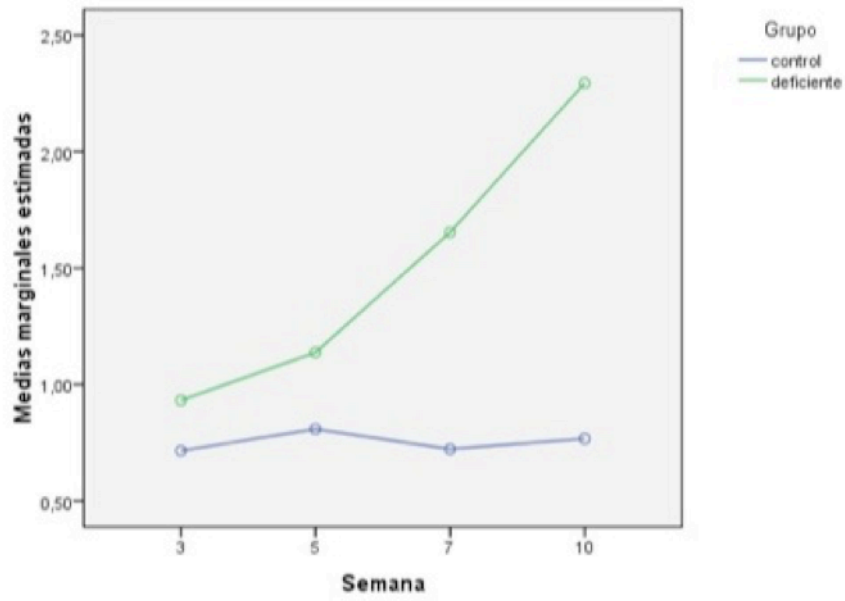


Figura 12. Medidas marginales estimadas de Cu (mg/g de tejido/semana)

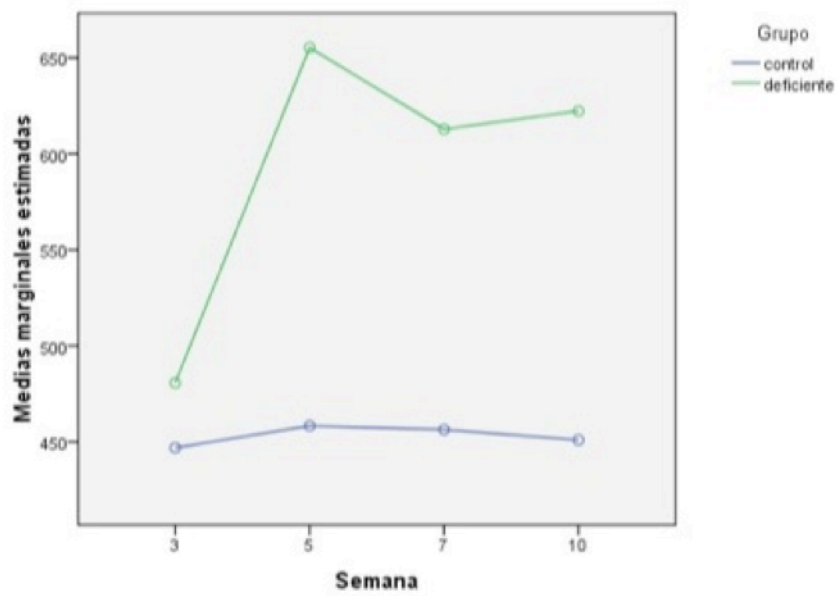


Figura 13. Medidas marginales estimadas de Zn (mg/g de tejido/semana)

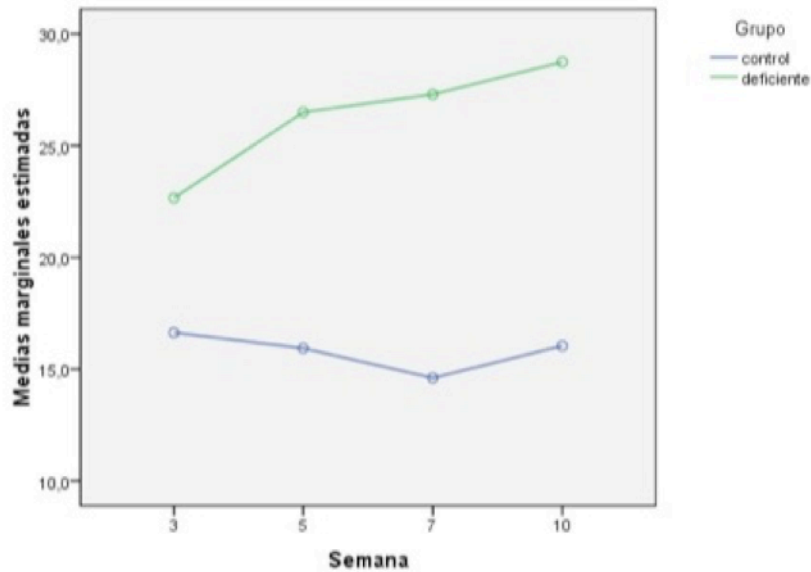


Figura 14. Medidas marginales estimadas de Mn (mg/g de tejido/semana)

Es importante señalar que hay más estudios experimentales en ratas con una dieta Mg-D que estudian los efectos de la misma a nivel del tejido óseo que a nivel del tejido dentario, por lo que también se han incluido en esta discusión resultados de estudios sobre los efectos en hueso en ratas Mg-D.

El tejido óseo es una combinación de constituyentes tanto minerales como no minerales. Los mayores componentes minerales del hueso son el Ca y P, elementos de la arquitectura de la hidroxiapatita, que juega un papel fundamental en el mantenimiento de las características mecánicas de los tejidos duros.

Sin embargo, otros minerales y vitaminas son cruciales para los procesos metabólicos del hueso. Por ejemplo, ya que en el tejido óseo tenemos las mayores reservas de Zn y Mg de todo el organismo, las deficiencias en estos dos minerales han

demostrado tener efectos perjudiciales en la salud de los huesos en ratas de experimentación.

Lobo y col¹⁵ (2009) subrayan que, cuando se trata de la salud de los tejidos duros, es necesario evaluar de manera cuidadosa la influencia que los minerales de la dieta ejercen en el proceso de remodelación ósea así como la magnitud de efectos que dicho contenido mineral tiene sobre la microestructura de las trabéculas óseas, las cuales responden rápidamente a modificaciones en la homeóstasis mineral.

De hecho, el contenido en Zn influye sobre el metabolismo del Ca y por lo tanto, en el desarrollo del hueso¹³⁵. Ma y col (2001) estudiaron los efectos del Zn en la composición ósea de ratas recién nacidas; a las madres se les administró 8mg de sulfato de Zn por cada 100g de peso durante 7 y 14 días desde el primer día tras el nacimiento. En el estudio se comparó el Zn, la actividad de la fosfatasa alcalina y el contenido en Ca, a la semana y a las dos semanas. Los resultados mostraron que el contenido en Zn de la leche materna conducía a un aumento en los componentes del hueso. Es decir, la actividad de la fosfatas alcalina así como el contenido en Ca del hueso, aumentaba de forma significativa tras la adición del Zn^{43,136}.

El Zn tiene una relación significativa con la actividad de otros elementos como el Cu, Fe y el mecanismo Ca-P, de ahí su importancia en la arquitectura de los tejidos duros del organismo^{41,42}. En casos de deficiencia en Zn, se ha observado una actividad celular anormal en cuanto a la utilización del Mg y Ca debido a alteraciones importantes en el funcionamiento de la membrana celular, así como mayor acumulo de Cu por la competitividad que ambos cationes tienen sobre los transportadores intracelulares. El aumento en los depósitos celulares de Mg así como cambios en la utilización del Ca son indicadores de deficiencia marginal de Zn^{41,43}.

Aranda y col¹³⁷ (1987) pusieron de manifiesto en experiencias de 30 días de duración empleando ratas Wistar, que el contenido en Mg del fémur en ratas Mg-D disminuía , mientras que no se modificaba el contenido en Ca.

Lerma y col¹³⁸ (1991) en un trabajo de 70 días de duración, observaron que las movilizaciones de Mg se producían durante todo el período experimental, no siendo acompañadas de cambios en el contenido total de Ca y P. Estos hechos juntos, hacen pensar que la deficiencia de Mg sólo afecta al contenido de este catión y no al resto de componentes del hueso.

En otra experiencia¹⁹ de 70 días de duración recogiendo muestras en el fémur de ratas Wistar; con una dieta Mg-D y C; a los 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, y 70 días se obtuvieron los siguientes resultados: el peso del fémur de los animales Mg-D aumentaba significativamente a partir del día 49. El nivel de Ca del hueso de las ratas deficientes aumentó progresiva y significativamente desde la segunda semana de la experiencia. Estas diferencias, sin embargo, no aparecían cuando el contenido en este catión se expresaba en gr de fémur o gr de cenizas. En cuanto al contenido total en P, no hubo modificaciones aunque en general, los mg de P/gr de eran significativamente menores a su correspondiente control a partir del día 42 de ensayo.

Creedon y col¹¹ (1999) durante 21 días sometieron a 40 ratas macho a dietas con unos niveles de Mg adecuados, moderadamente bajos y severamente bajos. Observaron que en las dietas con niveles moderados y bajos de Mg se producía una disminución significativa de los niveles de osteocalcina, marcador fundamental en la formación ósea.

Dicho marcador era más bajo cuanto más deficiente en Mg era la dieta. Es decir, los efectos adversos de una dieta Mg-D se manifiestan aunque dicha dieta tenga unos niveles de este mineral bajos, este hallazgo es especialmente importante para la

población general, ya que como se ha mencionado anteriormente, esta ampliamente estudiado, en encuestas epidemiológicas, las bajas ingestas minerales que hay hoy en día en países industrializados¹¹.

Sin embargo, otros autores¹³⁸ han señalado la importancia que tiene el contenido en Ca de la dieta ingerida por animales deficientes en Mg para mantener la homeóstasis del Ca, así como de alguno de los minerales estudiados, durante la depleción de Mg.

Estos autores sólo encontraban movilizaciones óseas de Ca y Mg dirigidas a restablecer la hipocalcemia provocada por dietas con bajo contenido en Ca.

Es importante destacar que el Mg en el tejido óseo no se encuentra homogéneamente distribuido y que su contenido varía de unos huesos a otros, es por eso que los resultados difieren de unos autores a otros.

Para autores como Weinreb y col¹²⁹ (1973). La deficiencia en Mg no tendría influencia en aquellos tejidos que ya hubieran concluido su formación al comienzo de la experiencia. Los cambios sólo se percibirían en aquellos formados en el período post-experimental.

Por ello, en un estudio llevado a cabo por Cockburn y col¹⁸ (1980) en relación con la influencia que sobre la formación dentaria tiene la dieta, observaron la importancia que un aporte suplementario de vitamina D en la gestante tiene sobre la correcta formación dentaria del niño. Aquellas madres que recibieron un suplemento de vitamina D y que además alimentaron a sus bebés con leche materna, la hipomagnesemia e hipocalcemia fue significativamente menor con respecto a los controles, al igual que las posteriores alteraciones en la composición mineral de la dentición temporal, que aquellas madres que no recibieron el suplemento. El 48% de los

bebés con hipocalcemia reflejaron alteraciones en la estructura y composición mineral del esmalte de su dentición decidua.

De este estudio se deduce que una alteración en el frágil equilibrio mineral de la gestante, con un aporte insuficiente de las vitaminas implicadas en el mismo, podría conducir desde el seno materno a una alteración en la composición mineral del diente en desarrollo.

No hay que olvidar que el Mg es uno de los minerales más importantes en los organismos vivos, ya que interviene en prácticamente todos los procesos metabólicos.

En cuanto a la relación con otros minerales, la asociación del Mg con el Ca hace que en los procesos de osteoporosis aumenten los niveles de Ca en sangre y de osteoclastos, con lo que disminuiría la resistencia a las fracturas. Del mismo modo, se ha observado una importante interacción entre el Mg, los suplementos de vitamina D, el P, K, Zn, Cu, Mn y Fe.

Señalar que los hábitos de vida actuales unidos a una alimentación deficiente se reflejan en los datos epidemiológicos, que muestran un consumo de Mg por debajo del 30% de las Cantidades Diarias Recomendadas. Lo que ocasiona graves trastornos fisiológicos en los organismos vivos así como un aumento en el gasto sanitario, fácilmente prevenibles con una dieta adecuada.

Conclusiones.

Conclusiones.

1. Las ratas sometidas a la dieta Mg-D mostraron alteraciones en su comportamiento, irritabilidad, nerviosismo y convulsiones, lo que provocó mortalidad entre los sujetos de estudio. Recientemente el déficit en Mg, se ha asociado con fatiga crónica y alteraciones del sueño en humanos, hecho observado también en nuestros animales de experimentación.
2. Los animales sometidos a una dieta Mg-D mostraron una hipercalcemia e hipofosfatemia sanguíneas significativas debido al aumento en la liberación del primero y al incremento en la excreción del segundo junto con la formación de cristales insolubles en riñón.
3. Los niveles de Mg en el diente de rata deficiente son menores a los de los controles con la consiguiente alteración de los tejidos dentarios.
4. La falta de Mg en la rata durante 70 días, provoca una concentración significativamente mayor de calcio en los incisivos analizados, en relación con ratas control.
5. En cuanto a los niveles dentarios de P se han observado niveles significativamente menores en los animales sometidos a la dieta modificada.

6. La concentración de Fe, Zn y Mn, en el tejido dentario, resultó significativamente mayor en las ratas sometidas a la dieta deficiente en relación a las ratas C.

7. La cantidad total de Cu recogida en los dientes de la muestra deficiente, fue significativamente mayor a la obtenida en los animales que siguieron la dieta control.

8. La compleja interrelación entre los minerales de la dieta, hace que la falta o desequilibrio en uno de ellos, hecho probadamente frecuente en nuestra sociedad, ocasione graves trastornos en el desarrollo y mantenimiento de tejidos fundamentales del organismo.

Conclusión final:

La deficiencia de Mg puede ocasionar alteraciones en el metabolismo de otros minerales, siendo de especial importancia en los tejidos duros como el diente. Por lo tanto, el Mg puede considerarse, según los resultados obtenidos en nuestro estudio, un excelente biomarcador del estatus mineral teniendo en cuenta las diferencias estadísticamente significativas encontradas entre ratas alimentadas con una dieta deficiente en Mg y ratas alimentadas con dieta control.

Bibliografía.

Bibliografía.

1. Mataix J. Nutrición y Alimentación Humana. Vol I, Ed Ergón, Madrid, 2009
2. Planells E, Sánchez-Morito N, Montellano MA, Aranda P, Llopis J. Effect of magnesium deficiency on enterocyte Ca, Fe, Cu, Zn, Mn, and Se content. *J Physiol Biochem.* 2000 Sep;56(3):217-22
3. Sanchez-Morito N, Planells E, Aranda P, Llopis J. Influence of magnesium deficiency on the bioavailability and tissue distribution of iron in the rat. *J Nutr Biochem.* 2000 Feb;11(2):103-8
4. Nielsen F. Importance of making dietary recommendations for elements designated as nutritionally beneficial or conditionally essential. *J Trace Elem Exp Med* 2000; 13:113-29
5. Sabel N, Robertson A, Nietzsche S, Norén JG. Demineralization of enamel in primary second molars related to properties of the enamel. *Scient World J.* 2012;(1):1-8
6. Watson RR, Preedy VR, Zibadi S. Magnesium in health and disease. Ed Humana Press 2013
7. Bodgen JD, Klevay LM. Clinical nutrition of the essential trace elements and minerals : the guide for health professionals. Ed Humana Press 2000
8. Johnson S. The multifaceted and widespread pathology of magnesium deficiency. *Med Hypoth* 2001; 56(2):163-170
9. Rude RK, Gruber HE, Norton HJ, Wei LY, Frausto A, Kilburn J. Reduction of dietary magnesium by only 50% in the rat disrupts bone and mineral metabolism. *Osteoporos Int.* 2006;17(7):1022-32

10. Stendig-Lindberg G, Koeller W, Bauer A, Rob PM. Prolonged magnesium deficiency causes osteoporosis in the rat. *J Am Coll Nutr.* 2004 Dec; 23(6):704S-11S
11. Creedon A, Flynn A, Cashman K. The effect of moderately and severely restricted dietary magnesium intakes on bone composition and bone metabolism in the rat. *Br J Nutr.* 1999 Jul;82(1):63-71
12. Kanazawa I, Yamamoto M, Yamaguchi T, Yamaguchi M, Yano S, Sugimoto T. A case of magnesium deficiency associated with insufficient parathyroid hormone action and severe osteoporosis. *Endoc J* 2007; 54(6):935-940
13. Planells E, Rivero M, Mataix J, Llopis J. Ability of a cocoa product to correct chronic Mg deficiency in rats. *Int J Vitam Nutr Res* 1999 Jan; 69(1):52-60
14. Meisel P, Schwahn C, Luedemann J, Kroemer H, Kocher T. Magnesium deficiency is associated with periodontal disease. *J Dent Res* 2005; 84(10):937-41
15. Lobo AR, Cocato ML, Jorgetti V, de Sá LR, Nakano EY, Colli C. Changes in bone mass, biomechanical properties and microarchitecture of calcium and iron deficient rats fed diets supplemented with inulin-type fructans. *Nutr Res.* 2009 Dec; 29 (12) :873-81
16. Turnbull C, Looi K, Magnum J, Meyer M, Sayer R, Hubbard J. Calbindin independence of calcium transport in developing teeth contradicts the calcium ferry dogma. *J Biol Chem* 2004; 279(53):55850-54

17. Campos MS, Barrionuevo M, Alférez MJ, Gómez-Ayala AE, Rodríguez-Matas MC, Lopez Aliaga I, Lisbona F. Interactions among iron, calcium, phosphorus and magnesium in the nutritionally iron-deficient rat. *Exp Physiol*. 1998 Nov; 83(6):771-81
18. Cockburn F, Belton N, Purvis R, Giles M, Brown J, Turner T, Wilkinson E, Forfar J, Barrie W, McKay G, Pocock. Maternal vitamin D intake and mineral metabolism in mothers and their newborn infants. *Brit Med J* 1980; 5:11-15
19. Planells del Pozo E M. Efecto de la deficiencia de magnesio sobre el metabolismo del calcio y del fósforo en la rata. Tesis Doctoral. Universidad de Granada: Facultad de Farmacia, Departamento de Fisiología; 1991
20. Takeda E, Taketani Y, Sawada N, Sato T, Yamamoto H. The regulation and function of phosphate in the human body. *Biofac* 2004; 21:345-55
21. Planells E, Llopis J, Perán F, Aranda P. Changes in tissue calcium and phosphorous content and plasma concentrations of parathyroid hormone and calcitonina after long-term magnesium deficiency in rats. *J Am Coll Nutr*. 1995 Jun;14(3):292-8
22. Lerma A, Planells E, Aranda P, Llopis J. Evolution of magnesium deficiency in rats. *Ann Nutr Metab* 1993; 37:210-17
23. Planells E, Aranda P, Perán F, Llopis J. Changes in calcium and phosphorous absorption and retention during long-term magnesium deficiency in rats. *Nutr Res* 1993; 13:691-699
24. Lerma A, Planells E, Aranda P, Llopis J. Effect of magnesium deficiency on fatty acid composition of the erythrocyte membrane and plasma lipid concentration in rats. *J Nutr Bioch* 1995; 6(11):577-581

25. Pallarés I, López-Aliaga I, Lisbona F, Moratalla A, Gómez-Ayala AE, Barrionuevo M, Hartiti S, Alférez MJ, Campos MS. Effects on iron replenishment on iron calcium, phosphorus and magnesium metabolism in iron-deficient rats. *Int J Vitam Nutr Res.* 1996;66(2):158-65
26. Yokoi K, Kimura M, Itokawa Y. Effect of dietary iron deficiency on mineral levels in tissue of rats. *Biol Trace Elem Res.* 1991 Jun;29(3):257-65
27. Pallarés I, Lisbona F, Aliaga IL, Barrionuevo M, Alférez MJ, Campos MS. Effect of iron deficiency on the digestive utilization of iron, phosphorus, calcium and magnesium in rats. *Br J Nutr.* 1993 Sep;70(2):609-20
28. Pollack S, George JN, Reba RC, Kaufman RM, Crosby WH. The absorption of nonferrous metals in iron deficiency. *J Clin Invest.* 1965 Sep;44:1470-3
29. Knychalska-Karwan Z, Pawlicki R, Karwan T. Quantitative, qualitative and topographic distribution of lead, zinc, iron and copper in hard teeth tissues. *Folia Histochem Cytobiol.* 1985;23(1-2):21-5
30. Wallwork JC, Milne DB, Sims RL, Sandstead HH. Severe zinc deficiency: effects on the distribution of nine elements (potassium, phosphorus, sodium, magnesium, calcium, iron, zinc, copper and manganese) in regions of the rat brain. *J Nutr.* 1983 Oct;113(10):1895-905
31. Baltaci AK, Gokbel H, Mogulkoc R, Okudan N, Ucok K, Halifeoglu I. The effects of exercise and zinc deficiency on some elements in rats. *Biol Trace Elem Res.* 2010 Apr;134(1):79-83
32. Altaf W, Perveen S, Rehman KU, Teichberg S, Vancurova I, Harper RG, Wapnir RA. Zinc supplementation in oral rehydration solutions; experimental assessment and mechanism of action. *J Am Coll Nutr.* 2002 Feb;21(1):26-32

33. Bergman B. The zinc concentration in hard and soft tissues of the rat. The influence of zinc deficient feeding. *Acta Odontol Scand.* 1970 Aug;28(4):435-40
34. Goldberg M, Carreau JP, Driessens FC, Septier D. Zinc deficiency-induced changes in the lipid composition and ultrastructure of rat incisor teeth. *Arch Oral Biol.* 1990;35(4):255-64
35. Cerklewski FL. Effect of suboptimal zinc nutrition during gestation and lactation on rat molar tooth composition and dental caries. *J Nutr.* 1981 Oct;111(10):1780-3
36. Fang MM, Lei KY, Kilgore LT. Effects of zinc deficiency on dental caries in rats. *J Nutr.* 1980 May;110(5):1032-6
37. Nielsen FH. Marginal zinc deficiency increases magnesium retention and impairs calcium utilization in rats. *Biol Trace Elem Res.* 2009 Jun;128(3):220-31
38. Salgueiro MJ, Torti H, Meseri E, Weill R, Orlandini J, Urriza R, Zubillaga M, Janjetic M, Barrado A, Boccio J. Dietary zinc affects on zinc, calcium and magnesium content in bones of growing rats. *Biol Trace Elem Res.* 2006 Apr;110(1):73-8
39. Planells E, Aranda P, Lerma A, Llopis J. Changes in bioavailability and tissue distribution of zinc caused by magnesium deficiency in rats. *Br J Nutr.* 1994 Aug;72(2):315-23
40. Kilicalp D, Dede S, Belge F, Tatar M. Effect of protein deficiency on macroelement and trace element levels of weanling rats small intestine and liver tissues. *Biol Trace Elem Res.* 2005 Dec;107(3):255-61

41. Kara C, Orbak R, Dagsuyu IM, Orbak Z, Bilici N, Gumustekin K. In vivo assessment of zinc deficiency on craniofacial growth in the rat model. *Eur J Dent.* 2009 Jan;3(1):10-5
42. Yeh JK, Aloia JF, Semla HM, Chen SY. Influence of injected caffeine on the metabolism of calcium and the retention and excretion of sodium, potassium, phosphorus, magnesium, zinc and copper in rats. *J Nutr.* 1986 Feb; 116(2):273-80
43. Hurley LS, Cosens G, Theriault LL. Magnesium calcium and zinc levels of maternal and fetal tissues in magnesium deficient rats. *J Nutr.* 1976 Sep;106(9):1261-4
44. Huxley HG, Leaver AG. The effect of different levels of dietary zinc and calcium upon the zinc concentration of the rat femur and incisor. *Arch Oral Biol.* 1966 Dec;11(12):1337-44
45. Cheek DB, Graystone JE. Changes in enzymes (GOT and GDH) and metals (Zn, Mn, and Mg) in liver of rats during endocrine imbalance and caloric restriction. *Pediatr Res.* 1969 Sep;3(5):433-40
46. Brookes SJ, Shore RC, Robinson C, Wood SR, Kirkham J. Copper ions inhibit the demineralisation of human enamel. *Arch Oral Biol.* 2003 Jan;48(1):25-30
47. Kwik-Urbe C, Smith DR. Temporal responses in the disruption of iron regulation by manganese. *J Neurosci Res.* 2006 Jun;83(8):1601-10
48. Scheuhammer AM, Cherian MG. The influence of manganese on the distribution of essential trace elements II. The tissue distribution of manganese, magnesium, zinc, iron, and copper in rats after chronic manganese exposure. *J Toxicol Environ Health.* 1983 Aug-Sep;12(2-3):361-70

49. Yasui M, Ota K, Garruto RM. Effects of calcium-deficient diets on manganese deposition in the central nervous system and bones of rats. *Neurotoxicology*. 1995 Fall;16(3):511-7
50. Sanchez-Morito N, Planells E, Aranda P, Llopis J. Magnesium-manganese interactions caused by magnesium deficiency in rats. *J Am Coll Nutr*. 1999 Oct;18(5):475-80
51. Miller KB, Caton JS, Finley JW. Manganese depresses rat heart muscle respiration. *Biofactors*. 2006;28(1):33-46
52. Wedekind KJ, Murphy MR, Baker DH. Manganese turnover in chicks as affected by excess phosphorus consumption. *J Nutr*. 1991 Jul;121(7):1035-41
53. Davis CD, Wolf TL, Greger JL. Varying levels of manganese and iron affect absorption and gut endogenous losses of manganese by rats. *J Nutr*. 1992 Jun;122(6):1300-8
54. Finley JW, Davis CD. Manganese absorption and retention in rats affected by the type of dietary fat. *Biol Trace Elem Res*. 2001 Summer;82(1-3):143-58
55. Sano T, Morohashi T, Amano H, Yamada S, Nakamura M. Distribution of magnesium and sulphur in defect layers of incisor dentine in magnesium deficient rats. *Arch Oral Biol*. 2005 Aug;50(8):715-25
56. Kleber BM, Fehlinger R. Dental and periodontal disturbances due to magnesium deficit. *Magnes Res*. 1989 Sep;2(3):235-7
57. Campos MS, Barrionuevo M, Alférez MJ, Gómez-Ayala AE, Rodríguez-Matas MC, Lopez Aliaga I, Lisbona F. Interactions among iron, calcium, phosphorus and magnesium in the nutritionally iron-deficient rat. *Exp Physiol*. 1998 Nov; 83(6):771-81

58. Pallarés I, López-Aliaga I, Lisbona F, Moratalla A, Gómez-Ayala AE, Barrionuevo M, Hartiti S, Alférez MJ, Campos MS. Effects on iron replenishment on iron calcium, phosphorus and magnesium metabolism in iron-deficient rats. *Int J Vitam Nutr Res.* 1996;66(2):158-65
59. Rock E, Astier C, Lab C, Vignon X, Gueux E, Motta C, Rayssiguier Y. Dietary magnesium deficiency in rats enhances free radical production in skeletal muscle. *J Nutr.* 1995 May;125(5):1205-10
60. Pallarés I, Lisbona F, Aliaga IL, Barrionuevo M, Alférez MJ, Campos MS. Effect of iron deficiency on the digestive utilization of iron, phosphorus, calcium and magnesium in rats. *Br J Nutr.* 1993 Sep;70(2):609-20
61. Tordoff MG. Salt intake of rats fed diets deficient in calcium, iron, magnesium, phosphorus, potassium or all minerals. *Appetite.* 1992 Feb;18(1):29-41
62. González-Cabezas C. The chemistry of caries: remineralization and demineralization events with direct clinical relevance. *Dent Clin North Am.* 2010 Jul;54(3):469-78
63. Pindborg J, Mjör I. *Histología del diente humano.* Ed Labor S.A. Barcelona 1974
64. Bascones A. *Tratado de odontología. Tomo I.* Ed SmithKline -Beecham 1999
65. Davis W. *Histología y embriología bucal.* Editorial Interamericana McGraw-Hill. 1988
66. Gilbert S. *Developmental Biology.* Sinacer Associates Inc. Publisher 1994
67. West NX, Joiner A. Enamel mineral loss. *J Dent.* 2014 Jun;42 Suppl 1:S2-11
68. Li X, Wang J, Joiner A, Chang J. The remineralisation of enamel: a review of

- the literature. *Journal of Dentistry* 2014; 42(s1):s12–s20
69. Ghadimi E, Eimar H, Marelli B, Nazhat SN, Asgharian M, Vali H et al. Trace elements can influence the physical properties of tooth enamel. *Springer Plus* 2013; 2:499-510
70. Hakki SS, SiddikMalkoc, Dundar N, Kayis SA, Hakki EE, Hamurcu M, Baspinar N, Basoglu A, Nielsen FH, Götz W. Dietary boron does not affect tooth strength, micro-hardness, and density, but affects tooth mineral composition and alveolar bone mineral density in rabbits fed a high-energy diet. *J Trace Elem Med Biol.* 2015 Jan;29:208-15
71. Zamudio-Ortega CM, Contreras-Bulnes R, Scougall-Vilchis RJ, Morales-Luckie RA, Olea-Mejía OF, Rodríguez-Vilchis LE. Morphological, chemical and structural characterisation of deciduous enamel: SEM, EDS, XRD, FTIR and XPS analysis. *Eur J Paediatr Dent.* 2014 Sep;15(3):275-80
72. Gaiser S, Deyhle H, Bunk O, White SN, Müller B. Understanding nano-anatomy of healthy and carious human teeth: a prerequisite for nanodentistry. *Biointerphases.* 2012 Dec;7:1-14
73. Hara AT, Zero DT. The caries environment: saliva, pellicle, diet, and hard tissue ultrastructure. *Dent Clin North Am.* 2010 Jul;54(3):455-67
74. Leventouri, Th; Antonakos, A; Kyriacou, A; Venturelli, R; Liarokapis, E; Perdikatsis, V. Crystal structure studies of human dental apatite as a function of age. *Int J Biomat* 2009; 20-26
75. Rythén M, Sabel N, Dietz W, Robertson A, Norén JG. Chemical aspects on dental hard tissues in primary teeth from preterm infants. *Eur J Oral Sci.* 2010 Aug;118(4):389-95

76. Lester K. The incorporation of epithelial cells by cementum. *J Ultrastruc Res* 1969; 27:63-87
77. Zanette I, Enders B, Dierolf M, Thibault P, Gradl R, Diaz A, Guizar-Sicairos M, Menzel A, Pfeiffer F, Zaslansky P. Ptychographic X-ray nanotomography quantifies mineral distributions in human dentine. *Sci Rep.* 2015; 5:9210-4
78. Xu C, Wang Y. Chemical composition and structure of peritubular and intertubular human dentine revisited. *Arch Oral Biol.* 2012 Apr;57(4):383-91
79. Selvig K. Electron microscopy of Hertwig's epithelial sheath and of early dentin and cementum formation in the mouse incisor. *Acta Odont Scand* 1963; 22:105-120
80. Selvig K. The fine structure of human cementum. *Acta Odont Scand* 1965; 23:423-441
81. Orban B. Growth and movement of the Tooth germs and teeth. *J Am Dent Assoc* 1988; 15(6): 1004-13
82. Zander H, Hürzler B. Continuous cementum apposition. *J Dent Res* 1958; 37: 1035-1044
83. Moore K. *Embriología Clínica*. Ed Interamericana 1975
84. Van der Linden F. *Development of the dentition*. Quintessence 1983
85. Magnusson B, Koch G, Poulsen S. *Odontopediatría enfoque sistemático*. Salvat Editores S.A. Barcelona 1985
86. Dewel B. The upper bicuspid: its development and impaction. *Angle Orthod* 1949; 17: 79-80

87. Magnusson B. Emergence of primary teeth and onset of dental stages in Icelandic children. *Com Dent Oral Epidem* 1982; 10:91-97
88. Nolla C. The development of the permanent teeth. *J Dent Child* 1960; 27:254-266
89. Demirjian A, Goldstein H, Tanner J. A new system of dental age assessment. *Human Biol* 1973; 45:211-227
90. Davis J, Hägg U. The accuracy and precision of the Demirjian System when used for age determination in Chinese children. *Swed Dent J* 1994; 18:113-116.
91. Gat H, Sarnat H, Bjovatud J, Dayan D. Dental age evaluation. *Clin Prevent Dent* 1984; 6:18-22
92. Coutinho S, Buschang P, Miranda F. Relationships between mandibular canine calcification stages and skeletal maturity. *Am J Orthod Dentof Orthop* 1993; 104(3):262-268
93. Ogden A, Pinhasi R, White W. Nothing new under the heavens: MIH in the past?. *Europ Pediat Dent* 2008; 9(4):166-171
94. Willmott N, Bryan R, Duggal M. Molar-incisor hipomineralisation: a literature review. *Europ Pediat Dent* 2008; 9(4):172-179
95. Chawla N, Messer L, Silva M. Clinical Studies on molar-incisor hipomineralisation. Part I: distribution and putative associations. *Europ Pediatr Dent* 2008; 9(4):180-190

96. Chawla N, Messer L, Silva M. Clinical Studies on molar-incisor hypomineralisation. Part II: development of a severity index. *Europ Pediatr Dent* 2008; 9(4):191-199
97. Lygidakis N, Dimou G, Marinou D. Molar-incisor hypomineralisation. Retrospective clinical study in Greek children. Prevalence and defect characteristics. *Europ Pediatr Dent* 2008; 9(4):200-206
98. Lygidakis N, Dimou G, Marinou D. Molar-incisor hypomineralisation. Retrospective clinical study in Greek children. Possible medical aetiological factors. *Europ Pediatr Dent* 2008; 9(4):207-217
99. Jasulaityte L, Weerheijm K, Veerkamp J. Prevalence of molar-incisor hypomineralisation among children participating in the Dutch National Epidemiological Survey (2003). *Europ Pediatr Dent* 2008; 9(4):218-223
100. Laisi S, Kiviranta H, Lukinmaa P, Vartiainen T, Alaluusua S. Molar-incisor hypomineralisation and dioxins: new findings. *Europ Pediatr Dent* 2008; 9(4):224-227
101. Muratbegovic A, Zukanovic A, Markovic N. Molar-incisor hypomineralisation impact on developmental effects of enamel prevalence in a low fluoridated area. *Europ Pediatr Dent* 2008; 9(4):228-231
102. Kim Y-J, Kim Y-K, Kho H-S. Effects of smoking on trace metal levels in saliva. *Oral Diseases* 2010,16; 823-830
103. Serra-Manjé L, Ribas L, García R. The evaluation of nutritional status in Catalonia, Spain. *Departamento de Sanidad y Seguridad Social Generalitat de Catalunya, Barcelona (1992-93)*

104. Mataix J, Aranda P, López-Jurado M, Sánchez C, Planells E, Llopis J. Factors influencing the intake and plasma levels of calcium, phosphorus and magnesium in southern Spain. *Eur J Nutr* 2006; 45:349-354
105. Henríquez P, Díaz C, Rodríguez E, López F, Álvarez E, Díaz J, Pastor MC, Serra L. Biochemical assessment of nutritional status in the Canary Islands population. *Archiv Latinoam Nutr* 2000; 50:43-53
106. Rude RK, Kirchen ME, Gruber HE, Meyer MH, Luck JS, Crawford DL. Magnesium deficiency-induced osteoporosis in the rat: uncoupling of bone formation and bone resorption. *Magnes Res.* 1999 Dec;12(4):257-67
107. Coudray C, Feillet-Coudray C, Grizard D, Tressol JC, Gueux E, Rayssiguier Y. Fractional intestinal absorption of magnesium is directly proportional to dietary magnesium intake in rats. *J Nutr.* 2002 Jul; 132(7):2043-7
108. Nielsen FH, Shuler TR. Studies of the interaction between boron and calcium and its modification by magnesium and potassium in rats. Effects of growth, blood variables and bone mineral composition. *Biol Trace Elem Res.* 1992 Dec;35(3):225-37
109. Jekl V, Gumpenberger M, Jeklova E, Hauptman K, Stehlik L, Knotek Z. Impact of pelleted diets with different mineral compositions on the crown size of mandibular cheek teeth and mandibular relative density in degus (*Octodon degus*). *Vet Rec.* 2011 Jun 18;168(24):641-6
110. Bubeck J, Haussecker H, Disch G, Spätling L, Classen HG. Potentiation of magnesium deficiency induced foetotoxicity by concomitant iron deficiency and its prevention by adequate supply via drinking water. *Magnes Res.* 1994 Dec;7(3-4):245-54

111. Tordoff MG. Salt intake of rats fed diets deficient in calcium, iron, magnesium, phosphorus, potassium and other minerals. *Appetite*. 1992 Feb;18(1):29-41
112. Prime SS, MacDonald DG, Noble HW, Rennie JS. Effect of prolonged iron deficiency on enamel pigmentation and tooth structure in rat incisors. *Arch Oral Biol*. 1984;29(11):905-9
113. Sintès JL, Miller SA. Influence of dietary iron on the dental caries incidence and growth of rats fed an experimental diet. *Arch Latinoam Nutr*. 1983 Jun;33(2):322-38
114. Berkovitz BK, Heap PF. The effect of fluoride on iron, calcium and phosphorus distribution in the rat incisor. *Caries Res*. 1976;10(5):337-51
115. Selvig KA, Halse A. The ultrastructural localization of iron in rat incisor enamel. *Scand J Dent Res*. 1975 Mar;83(2):88-95
116. Robeson BL, Martin WG, Friedman MH. A biochemical and ultrastructural study of skeletal muscle from rats fed a magnesium-deficient diet. *J Nutr*. 1980 Oct;110(10):2078-84
117. Bussière F, Gueux E, Rock E, Mazur A, Rayssiguier Y. Protective effect of calcium deficiency on the inflammatory response in magnesium deficient rats. *Eur J Nutr*. 2002 Oct;41(5):197-202
118. Aranda P, López Frías M, Jurado ML, Llopis J, Mataix FJ, Rivero M, Urbano G. Recovery study in Mg-deficient rats given an organic source of Mg. *Ann Nutr Metab*. 1990;34(4):244-51
119. Rude R, Singer F, Gruber H. Skeletal and hormonal effects of magnesium deficiency. *Am Coll Nutr* 2009; 28(2):131-141
120. Rock E, Astier C, Lab C, Vignon X, Gueux E, Motta C, Rayssiguier Y.

- Dietary magnesium deficiency in rats enhances free radical production in skeletal muscle. *J Nutr.* 1995 May;125(5):1205-10
121. Ericsson Y, Luoma H, Ekberg O. Effect of calcium fluoride and magnesium supplementations on tissue mineralization in calcium and magnesium deficient rats. *J Nutr.* 1986 Jun;116(6):1018-27
122. Guo MK, Messer HH. Influence of calcium deficiency on Ca²⁺, Mg²⁺ ATPase activity of rat incisor pulp. *J Dent Res.* 1977 Sep;56(9):1084
123. Welsh JJ, Weaver VM. Adaptation to low dietary calcium in magnesium-deficient rats. *J Nutr.* 1988 Jun;118(6):729-34
124. Forbes RM. Mineral utilization in the rat. II restoration of normal tissue levels of magnesium and calcium following magnesium deficiency. *J Nutr.* 1964 May;83:44-8
125. Planells E, Llopis J, Perán F, Aranda P. Changes in tissue calcium and phosphorus content and plasma concentrations of parathyroid hormone and calcitonina after long-term magnesium deficiency in rats. *J Am Coll Nutr* 1995; 14(3):292-8
126. Boskey AL, Rimnac CM, Bansal M, Federman M, Lian J, Boyan BD. Effect of short-term hypomagnesemia on the Chemicals and mechanical properties of rat bone. *J Orthop Res.* 1992 Nov;10(6):774-83
127. Sánchez-Morito N, Planells E, Aranda P, Llopis J. Magnesium-Manganese interactions caused by magnesium deficiency in rats. *J Am Coll Nutr* 1999;18(5):475-80
128. MacIntyre I, Boss S, Troughton V. Parathyroid hormone and magnesium homeostasis. *Nature* 1963; 1058-1060

129. Weinreb M, Kusner W, Michaeli Y. Role of attrition and occlusal contact in the physiology of the rat incisor: VII. Formation of impeded and unimpeded incisors in magnesium-deficient rats. *J Dent Res* 1973; 52(3):498-503
130. Kiely M, Domm L. The effect of a magnesium deficient diet and cortisone on the growth of the rat incisor. *J Dent Res* 1977; 56(12): 1577-1585.
131. Okazaki M, Sato M, Takahashi J. Space cutting model of hydroxyapatite. *Biomaterials*. 1995 Jan;16(1):45-9
132. Shashikiran N, Subba Reddy V, Hiremath M. Estimation of trace elements in sound and carious enamel of primary and permanent teeth by atomic absorption spectrophotometry: An in vivo study. *Indian J Dent Res* 2007; 18(4):157-162
133. Sánchez C, López-Jurado M, Aranda P, Llopis J. Plasma levels of copper, manganese and selenium in an adult population in southern Spain: influence of age, obesity and lifestyle factors. *Sci Total Environ* 2010; 408:1014-20
134. Yasui M, Ota K, Garruto RM. Aluminium decreases the zinc concentration of soft tissues and bones of rats fed a low calcium-magnesium diet. *Biol Trace Elem Res*. 1991 Dec;31(3):293-304
135. Arnaud M. Update on the assessment of magnesium status. *Brit J Nutr* 2008; 99:S24-36
136. Günther T, Höllriegl V, Vormann J. Effects of salicylate and zinc deficiency on the serum concentrations of magnesium, calcium and parathyroid hormone. *Biol Trace Elem Res*. 1988 Jul;16(2):129-35

137. Aranda P, López-Jurado M, Llopis J, Mataix F, Urbano G. Nutritive utilization of Ca and Mg in Mg-deficient rats: a recovery study. *J Nutr Sci Vitaminol* 1987; 33:451-459
138. Lerma A, Planells E, Aranda P, Llopis J. Evolution of Mg deficiency in rats. *J Nutr Bioch* 1991; 4(11):423-430
139. Aspray T, Francis R. Vitamin D deficiency, can old age learn from childhood?. *Age Ageing*. 2008 Jan;37(1):6-7
140. Nagai N, Fukuhata T, Ito Y. Effect of magnesium deficiency in intracellular ATP levels in human epithelial cells. *Biol Pharm Bull*. 2007 Jan;30(1):6-10
141. Bircan I, Turkkahraman D, Dursun O, Karaguzel G. Successful Management of primary hypomagnesaemia with dose oral magnesium citrate: a case report. *Acta Paediatr*. 2006 Dec;95(12):1697-9
142. Matsuzaki H, Miwa M. Dietary calcium supplementation suppresses bone formation in magnesium deficient rats. *Int J Vitam Nutr Res*. 2006 May;76(3):111-6
143. Van Orden R, Eggett D, Franz K. Influence of graded magnesium deficiency on white blood cell counts and lymphocyte subpopulations in rats. *Magnes Res*. 2006 Jun;19(2):93-101
144. Eby G, Eby K. Rapid recovery from major depression using magnesium treatment. *Med Hypotheses*. 2006;67(2):362-70
145. Tong G, Rude R. Magnesium deficiency in critical illness. *J Intensive Care Med*. 2005 Jan-Feb;20(1):3-17
146. Schmitz C, Deason F, Perraud A-L. Molecular components of vertebrate Mg⁺² homeostasis regulation. *Magnes Res* 2007; 20(1):6-18

147. Dørup I, Flyvbjerg A, Everts ME, Clausen T. Role of insulina-like growth factor-1 and growth inhibition induced by magnesium and zinc deficiencies. *Br J Nutr.* 1991 Nov;66(3):505-21
148. Dørup I, Clausen T. Effects of magnesium and zinc deficiencies on growth and protein síntesis in the skeletal muscle and the heart. *Br J Nutr.* 1991 Nov;66(3):493-504
149. Kakei M, Sakae T, Yoshikawa M. Mechanism of cadmium induced cristal defects in developing rat tooth enamel. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 2009;85(10):500-7
150. Brown CJ, Chenery SR, Smith B, Manson C, Tomkins A, Roberts GJ, Sserunjogi L, Tiberindwa JV. Environmental influences on the trace element content of teeth implications for disease and nutritional status. *Arch Oral Biolog* 2004; 49:705-717
151. de Mazer Papa AM, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Tenuta LM, Arthur RA, Cury JA. Effect of milk and soy-based infant formulas on in situ demineralization of human primary enamel. *Pediatr Dent.* 2010 Jan-Feb;32(1):35-40

Abreviaturas.

Abreviaturas.

Acido desoxirribonucleico: ADN

Acido ribonucleico: ARN

Adenosindifosfato: ADP

Adenosintrifosfato: ATP

Alimentación *Ad Libitum*: AL

Aluminio: Al

Análisis de la Varianza: ANOVA

Atmósfera: Atm

Azufre: S

Boro: B

Cadmio: Cd

Calcio: Ca

Cinc: Zn

Cloruro de Hidrógeno: CLH

Cobre: Cu

Control: C

Cromo: Cr

Estroncio: Sr

Espectrofotometría de Absorción Atómica: AAS

Final Exposición: FE

Flúor: F

Fósforo: P

Gramo: g

Hierro: Fe

Inicio Período de Exposición: IE

Kilogramo: Kg

Litio: Li

Magnesio: Mg

Magnesio Deficiente: Mg-D

Manganeso: Mn

Micra: μ

Milígramo: mg

Mililitros: ml

Molar-Incisor Hypomineralisation: MIH

Molibdeno: Mo

Nanómetro: nm

Níquel: Ni

Pair Fed: PF

Parathormona: PTH

Partes por millón: ppm

Potasio: K

Plomo: Pb

Prostaglandina: PGE

Rubidio: Rb

Selenio: Se

Sodio: Na

Statistical Package for Social Sciences: SPSS

Titanio: Ti

Yodo: I