

BIOQUÍMICA DEL DIENTE

por

Enrique M. Léicester

Departamento de Fisiología, Colegio de Medicina y Cirugía (San Francisco, California)

Durante el período que terminó en 1934 (1) pocos fueron los trabajos fundamentales de bioquímica del diente. En el período comprendido entre aquella fecha y 1942 (2) se señala un gran avance en el conocimiento y las propiedades físicas y químicas del diente. Los trabajos mostrados en este estudio están, como consecuencia, basados en fundamentos bioquímicos más firmes que los de los anteriores trabajos.

MECANISMO DE LA FORMACIÓN DEL DIENTE

Los anteriores estudios sobre el desarrollo del esmalte fueron de tipo histológico; sólo recientemente se ha pretendido relacionar los hallazgos histológicos con los químicos, logrando así un cuadro exacto de este mecanismo.

Dos son los estadios que han sido diferenciados claramente. En el primero se formaba la matriz de proteína blanda, fácilmente cortable, insoluble en los ácidos, que se desarrolla hacia fuera de la unión dentino-esmalte y hacia abajo desde la cúspide (3). En este primer estadio la matriz contiene algunas sales de cal, pero, aparentemente, no se depositan hasta que la proteína queratinizada no ha sido formada por los ameloblastos (4). Una vez organizada la proteína comienza una gradual hialinización (4, 5), proceso que puede continuar aún después de la erupción del diente (6). Estos cambios han sido comparados a los característicos de la piel, tejido epitelial, el cual se desarrolla también hacia afuera.

El segundo estadio de la formación del diente es el referido a la calcificación. Es en este estadio en el que la apatita se deposita en la matriz orgánica, previamente formada. La precipitación del fosfato cálcico comienza en la posición exterior del esmalte, procediendo en dirección opuesta a la de su propia formación (3). Los estudios por rayos Grenz confirman el hecho de que la calcificación tiene lugar en relación transversal a las capas formadas por la matriz (7). Wein-

mann, Wessinger y Reed (8). han demostrado que durante la calcificación existe no sólo afluencia de sales minerales, sino también pérdida de agua y materia orgánica de la matriz. Dichos autores sugieren que las enzimas proteolíticas y la fosfatasa juegan un importante papel en la calcificación. Deakins (9) confirma estas observaciones y demuestra que la materia orgánica es la primera en ser transportada y luego el agua, en grandes cantidades. El endurecimiento del esmalte tiene, pues, lugar por la pérdida de agua. Deakins y Burt (10) han encontrado calcio, fósforo y dióxido de carbono separadamente en la matriz, en una relación constante, durante todo el período de calcificación, indicando que una sal de composición fija se va depositando.

La diferenciación de estos dos estadios de la formación del esmalte es muy importante. Wasserman (11) ha señalado que la hipoplasia del esmalte puede ser debida a la incompleta formación de la matriz o del material calcificado. Habiendo demostrado Appelbaum (7) defectos en la formación de la matriz que pueden compensarse por la subconsiguiente calcificación, pero que son revelados cuando el diente está decalcificado. La segunda fase puede ser deficiente debido a la incompleta asimilación de calcio o la pérdida insuficiente de agua y materia orgánica. Dado que este último proceso es función de los ameloblastos, los cuales se atrofian una vez que el esmalte está formado, aun una posible remineralización, más tarde en la vida, no restaurará el esmalte hasta una situación normal, dado que la materia orgánica no puede ser ya removida.

La teoría del mecanismo de calcificación del diente no está todavía completada. Existe una estrecha relación con la calcificación del hueso, pero el diente ofrece muchas ventajas para el estudio de su proceso de calcificación, sobre el cual tanto se ha trabajado ya.

La necesidad de la presencia de la fosfatasa para el proceso de calcificación ha sido reconocido por la original publicación de la teoría de Robinson. Algunos estudios se han hecho sobre la precisión de la función de esta enzima en la calcificación del diente. Engel y Furu-ta (12) y Gomori (13) han demostrado que la fosfatasa no se presenta en los ameloblastos u odontoblastos mismos, pero sí en grandes cantidades en el punto en donde se precipita el fosfato cálcico. Gottlieb (14) considera los ameloblastos como agentes para la concentración y deposición de las sales de cal en el lugar de la calcificación.

Estudios más avanzados han establecido la estrecha relación entre glicógeno y calcificación. Horowitz (15) ha demostrado que todas las

áreas, en cabezas de fetos, en las que la calcificación tiene lugar existe glicógeno y fosfatasa. La observación de Boyle y Wesson (16) de que la vitamina D ayuda a la calcificación en dientes pobres en calcio, si son ricos en carbohidratos, pero no si son ricos solamente en proteínas, es otra nueva evidencia de esta relación. La prueba más convincente ha sido presentada, sin embargo, por Gutman y Gutman (17) y por Gutman, Warrick y Gutman (18). Estos autores han demostrado que el glicógeno es necesario en los primeros estadios de la calcificación, para proveer de glucosa-1-fosfatasa, la cual sirve como sustrato para la fosfatasa del hueso. Cuando la formación del ester es prevenida por la florizina, la calcificación del mecanismo glicógeno-fosforilasa representa el dispositivo que impide el progreso en la calcificación por la fosfatasa del hueso. Asimismo, explica la naturaleza del segundo mecanismo de Robinson.

Debe añadirse, sin embargo, que Roche y Mourgue (19, 20) creen que la función de la fosfatasa es meramente la de acumular iones de fosfatos en el lugar de la próxima calcificación, donde existe ya independientemente calcio fijado. En un momento dado, este calcio es liberado de la proteína, a lo que sigue una rápida precipitación del fosfato de cal. Este aspecto se adapta a la difusión observada del precipitado durante la calcificación. Enzimas proteolíticas deben jugar una parte en este proceso, y la pérdida de materia orgánica observada por Deakins (9) puede ser el comienzo de esta calcificación. Muchos de los trabajos de Roche y Mourgue fueron realizados en dientes de tiburón, cuyos resultados no pueden compararse a los que se obtuvieran en dientes humanos, pero el proceso de calcificación parece muy similar a los de la mayor parte de los animales.

Los estudios de Zuyper (21, 22) han demostrado que la precipitación del fosfato cálcico depende en gran parte de la composición por la cual tiene lugar la precipitación. Este autor sugiere que el material de precipitación de una solución similar al suero sanguíneo tiene una composición similar a aquella del hueso y de la dentina, mientras que el precipitado en contacto con la solución parecida a la de la saliva tiene una composición similar a aquella del esmalte. La presencia de magnesio y citrato en una solución aumenta la solubilidad para las sales de calcio.

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA COMPOSICIÓN DEL DIENTE

Metabolismo mineral.—La gran sensibilidad del diente para los cambios hace tiempo que es conocida. Sin embargo, Lund y Armstrong (23, 24) han demostrado que la sensibilidad del diente, en su desarrollo, para dientes pobres en cal, es mucho menor que la del hueso, y es más, cuando el hueso es seriamente afectado, los dientes se encuentran casi normales. Smith y Light (25) han demostrado que las deficiencias agudas de cal durante el desarrollo dan lugar en el diente del perro a ligera hipoplasia. Aparentemente una simple deficiencia de cal en la dieta no es suficiente para producir marcados trastornos en el diente, probablemente porque los huesos proporcionan a los dientes cantidades suficientes de cal para su calcificación.

La concentración de la cal es más marcada cuando se añade fluor a la dieta. Irving (26) y Lawrenz y Mitchell (27) han demostrado que una alta concentración del contenido de cal en la dieta reduce la afinidad para el depósito de fluor del diente, disminuyendo la retención general del fluor. Irving (28) ha demostrado que cuando el calcio en sangre tiene un nivel bajo, los efectos del fluor se intensifican. Ello parece alterar de alguna manera la deposición o formación de predentina, de manera que más tarde tenga repercusión en la calcificación. La predentina formada antes de las dieciséis horas de ser administrado el fluor no es afectada por este mecanismo.

Se han producido también defectos en la dentina a altas concentraciones calcio-fósforo, iguales a los producidos por el fluor, por la inyección de oxalato, manganeso, calcio, fósforo, magnesio, molibdeno y berilio (29). A bajas concentraciones calcio-fósforo, los efectos no fueron tan claros. Ninguna de estas sustancias afectaron al esmalte. Esto sugiere que el fluor actúa directamente en la formación del esmalte, pero que su acción en la formación de la dentina es indirecta y depende de la relación calcio-fósforo.

La causa primaria de la hipoplasia por fluor del esmalte es, probablemente, la interferencia con la acción de los ameloblastos, y Grinstein (30) y Hoffman, Schuck y Furuta (31) han demostrado que el fluor ocasiona la degeneración de estas células. Los cambios son más severos cuando una cierta cantidad de fluor se presenta en la forma de 3-fluorotirosina, más bien que en la de fluoruro sódico (32). La toxicidad del fluor puede ser reducida administrando ácido bórico, sulfato aluminico o hidróxido cálcico (33).

Resulta evidente que el fluor puede ser asimilado por la superficie exterior del esmalte (34, 35). No obstante, una penetración profunda aparentemente no tiene lugar después de una aplicación tópica en el diente humano (36). El posible mecanismo de esta asimilación ha sido sugerido por Souder y Schoonover (37), que han tratado *manchas* del esmalte con fluoruro sódico y después con una solución de sulfato cálcico, lo que produce un precipitado de fluoruro cálcico que *llena casi* completamente las zonas afectadas. Las sales de cal de la saliva pueden tener efectos parecidos. El esmalte que ha absorbido fluor es menos soluble en los ácidos que el normal (35, 38); efecto parecido al mostrado por el diente tratado con fluor ofrece el tratado con bebidas ácidas (39).

El metabolismo de otros minerales es, asimismo, importante para el desarrollo del diente. El trabajo de Becks y Furuta (40, 41) ha demostrado que la deficiencia de magnesio dificulta, y eventualmente detiene, el desarrollo o la formación de la dentina, causando la anormal calcificación de la pulpa y cemento. Cagnon, Schour y Patras (42) han señalado una disminución en la proporción de retrasos en la erupción.

El estroncio afecta severamente, decreciendo la formación de la dentina (24, 43), y menos marcadamente al esmalte; sin embargo, en altas concentraciones puede dar lugar a áreas localizadas de hipoplasia.

El manganeso interrumpe la formación del esmalte en el cuarto apical del incisivo de la rata (44), pero probablemente produce su mayor efecto por su acción sobre el metabolismo del calcio y fósforo (45). El boro no tiene efecto sobre el diente (44). El cadmio causa el "blanqueamiento" de los incisivos de la rata de análoga manera al producido por el fluor (46, 47, 48). El efecto es probablemente secundario, debido a la interferencia con el metabolismo del hierro, ya que el pigmento de estos incisivos contiene casi certeramente hierro, y ambos, cadmio y fluor, producen anemia.

Vitaminas.—La importancia de la administración de vitaminas para el propio desarrollo del diente ha sido puesta ya en evidencia. Burn, Orten y Smith (49) han estudiado dietas pobres en vitamina A por períodos de más de un año. En adición a los efectos usuales producidos en cortos períodos por estas deficiencias, estos autores encontraron una grave deformación en la forma de los incisivos de la rata, los cuales dieron lugar a las formas más raras, así como a dientes

supernumerarios y tumores de los maxilares. También ha sido observado el "blanqueamiento" de los incisivos de la rata por deficiencia de vitamina A (50), probablemente como un efecto secundario de anemia. Glock y sus colaboradores (3) han encontrado que la falta de vitamina A parece permitir el aumento de la calcificación; pero una mezcla de vitaminas A y D₂, más un poco de D₃, no fué tan efectiva como el aceite de hígado de bacalao para la normal calcificación. Irving (51) ha hallado que la deficiencia de la vitamina A y D combinada produce una marcada estratificación de la dentina, la cual no sería capaz de producirla ninguna de ambas deficiencias separadamente. El citado autor lo atribuye a la acción de la deficiencia de la vitamina A en un diente ya afectado por la falta de vitamina D.

Irving (52) ha advertido, asimismo, que mientras la adición de vitamina D o parahormona podría favorecer la calcificación, carecen de efecto en la calcificación de la predentina, la cual habría sido ya formada. De modo que la correcta formación de la dentina, con respecto a estas sustancias, ha de ser determinada en el momento en que tiene lugar su deposición o formación. Ziskin y sus colaboradores (53) han demostrado que dosis de vitamina D (Ertron) de 60.000-100.000 U. S. P. unidades por kilogramo en ratas, ó 300.000 unidades en personas, no muestran toxicidad o tendencia a producir nódulos pulpares; pero Bocks (54) ha hallado que 10.000 U. S. P. unidades por kilogramo administradas a perros durante doscientos ochenta y uno-doscientos noventa y uno días producen calcificación patológica de la membrana periodontal, degeneración del epitelio del esmalte, nódulos de la pulpa y cálculos. El aceite de pescado resultó menos tóxico que el irradiado ergosterol. Estas observaciones han sido más tarde confirmadas (55), habiéndose demostrado que dosis masivas simples de vitamina D dan lugar a los mismos efectos que la sobredosis crónica de los estudios anteriores (56).

Deficiencias del ácido pantoteico en la rata producen una serie de cambios en los tejidos blandos de la boca y anemia, la cual a veces va acompañada de despigmentación de la porción incisiva del esmalte. La presencia de cinc aumenta estos efectos (57).

Kuether, Telford y Roe (58) han encontrado que la ausencia de vitamina C en el diente del cerdo muestra una anormal calcificación en la predentina e irregular calcificación en la pulpa. Los odontoblastos muestran degeneración, pero los ameloblastos se encontraron mucho menos seriamente afectados. Los signos patológicos más precoces

en la dentina fueron observados cuando el nivel del ácido ascórbico en sangre bajó a 0,22 mg. por 100 ml., y cuando llegó a 0,08 mg. por 100 ml. dió lugar a graves perjuicios. Bourne (59) ha indicado que la vitamina C puede tener relación con la calcificación tanto como con la correcta formación de la matriz de la dentina.

Mucho interés se ha dedicado a la despigmentación de los incisivos de la rata en la deficiencia de la vitamina E. En primer lugar, los resultados fueron confusos. No obstante, Irving (60) describió una atrofia específica del órgano del esmalte. Granados y Dam (61 a 64) han demostrado recientemente que la despigmentación tiene lugar en la deficiencia de la vitamina E únicamente cuando los ácidos grasos sin saturar existen en la dieta. La despigmentación es más grave en los dientes del maxilar que en los dientes mandibulares. Estos autores han señalado la relación entre la despigmentación y el metabolismo del hierro.

En un estudio sobre la deficiencia de la vitamina K, en la cual fué utilizada la sulfadiazina para inhibir la formación intestinal de vitamina, Granados y Dam (65) han encontrado que la falta de vitamina K no tenía efecto sobre la formación del diente, pero la sulfadiazina en todos los casos dió lugar a retardo en la erupción y a atrición en los incisivos de la rata.

Hormonas.—Se han realizado muy pocos estudios sobre el efecto de las hormonas en los dientes en los últimos cuatro años. Sin embargo, Goldman (66) ha observado determinados efectos en el diente del cerdo debido a hipertiroidismo, el cual atribuye a cambios en los odontoblastos. Vedani (67) ha demostrado que todos los efectos anormales del fluor sobre los dientes de ratas hipofisectomizadas podrían ser referidos al bajo desarrollo del diente.

Efecto de la injuria patológica.—Es sabido que los cambios hipoplásicos del esmalte y la dentina pueden resultar de enfermedades padecidas durante el período de desarrollo del diente. Sin embargo, distintos autores han demostrado que tales efectos no son como resultado de enfermedades exantematosas, a menos que coincidan con deficiencias de las condiciones de nutrición (68, 69, 70). La hipoplasia del esmalte ha sido relacionada con la tuberculosis (71, 72) y con la sífilis (73). Gersch y Restarski (74) han sometido ratas a altitudes artificiales de 7.000-8.000 metros, dando lugar a efectos en la calcificación, los cuales han sido atribuidos a la anoxia.

ESTUDIOS CON ELEMENTOS RADIACTIVOS

Estroncio radiactivo (75), sodio (76) y fósforo (77) absorbidos a 40 grados centígrados en el orden hueso > dentina > esmalte por tejidos espolvoreados, aun en el caso del fósforo, este orden resulta revertido a 64 grados centígrados.

La pequeña absorción de fósforo radiactivo por el diente normal está actualmente bien establecida, habiéndose interesado por las exactas proporciones en que pueda hallarse en el diente. En el diente normal esta absorción es mayor en la dentina inmediata a la pulpa (78, 79, 80). La dentina coronaria contiene algo menos y la radicular algo más (78, 80). La absorción del fósforo es inversamente proporcional a la densidad de la estructura del diente. Si el esmalte es más denso que la dentina no puede sorprender que la absorción por el esmalte sea solamente del 20-35 por 100 que la de la dentina coronaria (80). En el diente sin pulpa, la absorción del fósforo es menor que en el diente intacto; pero ocurre, sin embargo, que es mayor en la dentina próxima al cemento, lo cual puede indicar el valor de función nutritiva de dicho tejido (79, 81). Bodecker (82) ha señalado que las diferencias en la permeabilidad de las diferentes áreas del diente al fósforo radiactivo en determinadas circunstancias nos obliga a grandes precauciones en la redacción de conclusiones cuando desconocemos "la historia" del diente.

ESTUDIO SOBRE LA CARIES

Animales de experimentación.—Las posibilidades para el estudio experimental de la caries se han aumentado por el descubrimiento de que en varios animales, además de la rata, puede desarrollarse la caries. Caries ha sido producida en el tiburón (83-86) alimentado con trigo descascarillado en lugar de trigo sin descorticar que es necesario para producir caries en la rata. La rata de pelo sufre caries con dietas altas (87-90), a las que también el burro es susceptible (91). Estos estudios son particularmente interesantes por la variedad de métodos para obtener caries; no obstante, en todos los casos el fluor retardó y los hidratos de carbono aumentaron la proporción de desarrollo de caries. Estos hechos se ajustan a la sugestión de Cox (92) de que la iniciación y progreso de la caries puede tener lugar por dos diferentes mecanismos.

Factores dietéticos.—Boyd (93-97) ha resumido sus trabajos de varios años tratando de demostrar que la caries puede ser reducida administrando una dieta marcadamente superior en cada uno de los elementos nutritivos esenciales. Si la dieta es excelente, grandes cantidades de azúcar no consiguen aumentar la proporción de caries. El efecto no es debido al alto contenido en grasa, ni al hecho de que la mayor parte de estos sujetos fueran diabéticos. Howe, White y Elliot (98) han obtenido resultados parecidos. Debe ser advertido que Day (99, 100) ha descrito un grupo de niños indios viviendo con una dieta extremadamente deficiente (desprovista casi de azúcar) que tampoco mostraron casi caries.

Boyd no ha pretendido explicar sus resultados atribuyéndolos a un determinado factor de la dieta, pero distintos autores creen que en determinadas condiciones la vitamina D puede ejercer una acción protectora. McBeath y Verlin (101) han encontrado que esta adición de vitamina D a la dieta de un grupo de niños dió lugar a una disminución de la caries. La vitamina D₃ ofreció mejor protección que la D₂. Brodsky, Schick y Vollmer (102) administraron una dosis masiva simple de A y D a niños que padecían tuberculosis o habían estado expuestos a ella, aduciendo una reducción de la caries que perduraba durante un año. East (103, 104) y Dunning (105) han hecho estudios de grandes grupos en distintas localidades (geográficamente), hallando que aquellos individuos pertenecientes a regiones con grandes períodos de sol muestran menos caries que aquellos otros en los que el sol brilla poco. Nuevamente la sugestión de la diferencia del mecanismo productor de la caries puede explicarse por sus efectos, si se acepta que la vitamina D, de alguna manera, retarda estos progresos.

La afirmación de que la vitamina K inhibe la producción de ácido por las bacterias orales (106) ha sido confirmada, pero ha sido demostrado que el efecto era debido a la acción bacteriostática de los quinones y no específicamente debida a la actividad de ninguna vitamina (107).

Fluor.—Parece indudable de que la aplicación tópica de fluoruro sódico en solución en el diente reduce la posibilidad de caries (108, 109, 110). El mecanismo de su acción está todavía en período de pruebas. Biby (111) cree que el primer mecanismo consiste en la reducción de la solubilidad del esmalte tratado con fluor, por los ácidos. Dicho autor ha iniciado un nuevo e interesante estudio sobre

el efecto de varios iones, que pueden formar la estructura de apatita del esmalte, como lo hace el fluor, y alterar su solubilidad. Cree que las sales de plomo y especialmente el fluoruro reducen la solubilidad del esmalte en un grado mucho mayor que ninguna otra solución estudiada (112). El efecto de esta sustancia en el tratamiento clínico debe ser todavía precisado.

El otro posible mecanismo es la reducción de la actividad bacteriana por envenenamiento de la fosfatasa y otras enzimas de las bacterias orales. Jay y Arnold (113) informan que el número de lactobacilos en individuos que han sido expuestos a la acción del fluor ha sido grandemente reducido. El hecho de que el iodoacetato reduce la incidencia de caries (114) también puede ser explicado por este mecanismo, dado que parece improbable que el iodoacetato reduzca la solubilidad del esmalte.

El poder atribuido al equilibrio calcio fósforo en la reducción de caries (115) ha sido demostrado por McClure (116) su no existencia.

La caries y los organismos proteolíticos.—Recientemente se ha enunciado una teoría muy significativa sobre el mecanismo de la caries, en oposición o adición a la clásica teoría de Miller. Ha sido reconocido que la matriz de proteína del diente debe ser destruida por la caries, así como la sustancia inorgánica, y que en ello deben estar presentes, por lo tanto, las bacterias proteolíticas. A este hecho se ha atribuido en el pasado poca importancia.

En 1942 Hinds (117) sugirió que las bacterias podrían entrar en las vainas de los prismas del esmalte, que son de naturaleza proteínica, y Gottlieb y Hinds (118) han señalado que el pigmento amarillo que usualmente se encuentra en la caries era debido a la acción proteolítica de las bacterias. Este pigmento tiene relación directa con la melanina (119). En este aspecto, las bacterias proteolíticas son seguidas por los organismos acidógenos que completan el trabajo de destrucción de la estructura del diente (120). Confirmación de esta teoría la tenemos en los trabajos de Pincus (121), el cual ha demostrado la existencia en la boca de bacterias que atacan las proteínas anaerobiamente; así como también en el trabajo histológico de Frisbie, Nuckolls y Saunders (6), que acaban de mostrarnos microfotografías de las bacterias invadiendo los prismas. Estas bacterias lanzan enzimas proteolíticas que limpian el camino, hacia la unión dentina-esmalte, en donde se difunden para producir caries ocultas y penetrar en la dentina. Gottlieb (122) acaba de señalar que este tipo

de caries puede ser identificado por el pigmento amarillo que produce, mientras el tipo clásico de caries puede ser advertido por los rayos X. Esta nueva hipótesis sobre el mecanismo de la caries puede dar lugar a importantes consecuencias teóricas y prácticas sobre la caries en el futuro.

Otros factores en la caries.—La falta de relación entre la prenatalidad y la decalcificación o caries ha sido nuevamente puesta en consideración (123, 124, 125).

Se ha sugerido el que haya una relación directa entre la acción diastásica de la saliva y la caries (126), la cual ha sido parcialmente confirmada por unos (127) y rotundamente negada (128) por otros.

La observación de que la urea y el dimetilbenzilamonio-cloro alcalino utilizado en los enjuagatorios disminuye la incidencia de la caries (129) ha sido relacionada a la teoría de Kesel, O'Donnell y Kirch (130) según la cual el amonio libre, el cual puede desprenderse de los compuestos ureicos o por la desaminación de los aminoácidos libres de los organismos de la boca, es un inhibidor específico del desarrollo de los lactobacilos.

En conclusión, debe prestarse atención a las técnicas últimamente aplicadas, independientemente del empleo del microscopio electrónico para el estudio de la microestructura del diente (131, 132). No obstante, no han sido hechas conclusiones algunas, esperándose mucho de este método en el futuro.

(per Ann. Rew. Biochem., Stanford Univ., P. O., California; vol. XV.)

REFERENCIAS

- (1) Koehne y Bunting, "Ann. Rev. Biochem.", 3, 441 (1934).
- (2) Armstrong, D., "Ann. Rev. Biochem.", 11, 441 (1942).
- (3) Glock, Mellanby, Murray y Thewlis, J., "J. Dental Research", 21, 183 (1942).
- (4) Nuckolls, J.; Saunders y Frisbie, "J. Am. Coll. Dentists", 10, 241 (1943).
- (5) Saunders, Nuckolls, J., y Frisbie, "J. Am. Coll. Dentists", 9, 107 (1942).
- (6) Frisbie, Nuckolls y Saunders, "J. Am. Coll. Dentists", 11, 243 (1944).
- (7) Applebaum, E., "J. Dental Research", 22, 7 (1943).
- (8) Weinmann, Wessinger y Reed, G., "J. Dental Research", 21, 171 (1942).
- (9) Deakins, "J. Dental Research", 21, 429 (1942).
- (10) Deakins y Burt, R., "J. Biol. Chem.", 156, 77 (1944).
- (11) Wasserman, F., "J. Dental Research", 22, 209 (1943).
- (12) Engel y Furuta, "Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", 50, 5 (1942).

- (13) Gomori, G., "Am. J. Path.", 19, 197 (1943).
- (14) Gottlieb, B., "J. Dental Research", 20, 549 (1941).
- (15) Horowitz, "J. Dental Research", 21, 519 (1942).
- (16) Boyle y Wesson, "Arch. Path.", 36, 243 (1943).
- (17) Gutman y Gutman, "Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", 48, 687 (1941).
- (18) Gutman, Warrick y Gutman, "Science", 95, 461 (1942).
- (19) Roche, J., y Mourgue, "Compt. Rend. Soc. Biol.", 136, 325 (1942).
- (20) Id. id., 211, 809 (1942).
- (21) Kuyper, "Biol. Chem.", 159, 411 (1945).
- (22) Id. id., 159, 417 (1945).
- (23) Lund y Armstrong, "J. Dental Research", 21, 513 (1942).
- (24) Id. id., "Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", 50, 363 (1942).
- (25) Smith y Light, "J. Dental Research", 24, 53 (1945).
- (26) Irving, J., "Nature", 154, 363 (1943).
- (27) Lawrenz, M., y Mitchell, "J. Nutrition", 22, 91 (1941).
- (28) Irving, "Dental Research", 22, 447 (1943).
- (29) Id., "Nature", 154, 149 (1944).
- (30) Grinstein, J., "Sermana Méd.", 2, 925 (Buenos Aires, 1941).
- (31) Hoffman, Schuck y Furuta, "J. Dental Research", 21, 157 (1942).
- (32) Fuller, H., y Fiehler, O., "Arch. Exp. Path. Pharmacol", 199, 179 (1942).
- (34) Norvold, Inglis y Armstrong, "J. Dental Research", 20, 232 (1941).
- (35) Volker, Bonner, J., y Brudevold, "J. Dental Research", 22, 228 (1943).
- (36) Armstrong, "J. Dental Research", 24, 192 (1945).
- (37) Souder, W., y Schoonover, "J. Am. Dent. Assoc.", 31, 1.579 (1944).
- (38) Bibby, "J. Dental Research", 23, 202 (1944).
- (39) Restarski, Gortner y McCay, "J. Am. Dent. Assoc.", 32, 668 (1945).
- (40) Becks, H., y Furuta, "Om. J. Orthodonties Oral Surg.", 28, 1 (1942).
- (41) Id. id., "J. Dental Research", 22, 215 (1943).
- (42) Gagnon, Schour, I., y Patras, "Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", 49, 662 (1942).
- (43) Weinmann, "J. Dental Research", 22, 210 (1943).
- (44) Wessinger y Weinmann, "Am. J. Physiol.", 139, 223 (1943).
- (45) Chornock, Guerrant y Dutcher, "J. Nutrition", 23, 445 (1942).
- (46) Fitzhugh y Meiller, "J. Pharmacol.", 72, 15 (1941).
- (47) Wilson, De Eds y Cox, "J. Pharmacol.", 71, 222 (1941).
- (48) Ginn y Volker, "Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", 57, 189 (1944).
- (49) Burn, Orten y Smith, "Yale J. Biol. Med.", 13, 817 (1941).
- (50) Moore, "Biochem. J.", 37, 112 (1943).
- (51) Irving, "Dental Record", 63, 281 (London, 1943).
- (52) Irving, "J. Physiol.", 103, 9 (1944).
- (53) Zickin, Gibson, Skarka y Bellows, "J. Dental Research", 22, 457 (1943).
- (54) Becks, "J. Am. Dental Assoc.", 29, 1947 (1942).
- (55) Id., Morgan, Collins y Freytag, "J. Dental Research", 24, 193 (1942).
- (56) Morgan, Becks, Collins y Axelrod, "J. Dental Research", 24, 199 (1945).
- (57) Ziskin, Stein, Gross y Runne, "J. Dental Research", 23, 132 (1944).
- (58) Kuether, Telford y Roe, "J. Nutrition", 28, 347 (1944).
- (59) Bourne, "J. Physiol", 102, 319 (1943).
- (60) Irving, "Nature", 150, 122 (1942).
- (61) Granados, H., y Dam, H., "Science", 101, 250 (1945).
- (62) Dam, H., y Granados, H., "Science", 102, 237 (1945).
- (63) Granados, H.; Mason y Dam, H., "J. Dental Research", 24, 197 (1945).
- (64) Granados, H., y Dam, H., "Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", 59, 295 (1945).
- (65) Id., "J. Dental Research", 24, 137 (1945).
- (66) Goldman, H. M., "Am. J. Orthodontis Oral Surg.", 29, 665 (1943).
- (67) Vedani, L. G., "Revista Med. Cienc. Afines", 4, 14 (Buenos Aires, 1942).
- (68) Sarnat y Schour, I., "J. Am. Dental Assoc.", 28, 198 (1941); 29, 67 (1942).
- (69) Sheldon y Bales, M. S., "J. Dental Research", 23, 220 (1944).
- (70) Id., Bibby, B. G., y Bales, "J. Dental Research", 24, 109 (1945).
- (71) Kreshover, "J. Dental Research", 21, 27 (1942).
- (72) Id. id., 23, 231 (1944).
- (73) Bauer, "Amj. Path.", 20, 297-314 (1944).
- (74) Gersh, I., y Restrarski, J. S., "Anat. Record", 90, 191 (1944).
- (75) Hodge, Gavett y Thomas, "J. Dental Research", 22, 200 (1943).
- (76) Id., Koss, Ginn, Falkenheim, M.; Gavett, F.; Fowler, Thomas, I.; Bonner y Des-sauer, "Biol. Chem.", 148, 321 (1943).
- (77) Johansson, Folkenheim y Hodge, "J. Biol. Chem.", 159, 129 (1945).
- (78) Velker y Sognnaes, "J. Dental Research", 20, 471 (1941).

- (79) McCauley y Gilda, "J. Dental Research", 22, 200 (1943).
- (80) Vebelender y Amler, "J. Dental Research", 24, 45 (1945).
- (81) Gilda, McCauley y Johansson, "J. Dental Research", 22, 200 (1943).
- (82) Bodecker, "Dental Research", 22, 281 (1945).
- (83) Arnold, "U. S. Pub. Health Repts", 57, 1,599 (1942).
- (84) Dale, Keyes y Lazanski, "Dental Research", 23, 209 (1944).
- (85) Keyes, "J. Dental Research", 24, 198 (1945).
- (86) Dale y Keyes, "J. Dental Research", 24, 198 (1945).
- (86) Dale y Keyes, "J. Dental Research", 24, 194 (1945).
- (87) Shaw, Schweigert, McIntire, Elvehjem y Phillips, "J. Nutrition", 28, 333 (1944).
- (88) Id., Elvehjem y Phillips, "J. Dental Research", 23, 417 (1944).
- (89) Id., Schweigert, Phillips y Elvehjem, "Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.", 59, 89 (1945).
- (90) Schweigert, Shaw, Elvehjem y Phillips, "Pro. Coc. Exptl. Biol. Med.", 59, 44 (1945).
- (91) Shaw, Elvehjem y Phillips, "Dental Research", 24, 129 (1945).
- (92) Cox, "Vitaminx and Hormones", 2, 245 (1944).
- (93) Boyd, "J. Am. Dietet. Assoc.", 18, 211 (1942).
- (94) Id., "Am. Diseases Children", 66, 394 (1943).
- (95) Id., "Am. Dental Assoc.", 30, 670 (1943).
- (96) Id., "Am. Dental Assoc.", 30, 1,344 (1943).
- (97) Id., "Am. J. Diseases Children", 67, 278 (1944).
- (98) Howe, White y Elliot, "Am. Dental Assoc.", 29, 38 (1942).
- (99) Day, "Brit. Dental J.", 76, 115 (1944).
- (100) Id. id. id., 76, 143 (1944).
- (101) McBeath y Verlin, "J. Dental Assoc.", 29, 1,393 (1942).
- (102) Bordsky, Schick y Vollem, "Am. J. Diseases Children", 62, 1,183 (1941).
- (103) Fast, "Am. J. Pub. Health", 32, 1,242 (1942).
- (105) Dunning, "U. S. Naval Med. Bull.", 43, 895 (1944).
- (106) Calandra y Fosdick, "J. Dental Research", 22, 199 (1943).
- (107) Armstrong y Knutson, "Proc. Soc. Exptl. Med.", 52, 307 (1943).
- (108) Biboy, "Am. Dental Assoc.", 31, 317 (1944).
- (109) Knutson y Armstrong, "U. S. Pub. Health Repts.", 60, 1,085 (1945).
- (110) McClendon y Capousis, "J. Dental Research", 24, 199 (1945).
- (111) Biboy, "J. Am. Dental Assoc.", 31, 228 (1944).
- (112) Buonocore y Bibby, "J. Dental Research", 24, 103 (1945).
- (113) Jay y Arnold, "J. Coll. Dentist", 12, 54 (1945).
- (114) Dale y Powell, "J. Dental Research", 22, 33 (1943).
- (115) Taylor, "J. Am. Dental Assoc.", 29, 438 (1942).
- (116) McClure, "J. Am. Dental Assoc.", 31, 1,091 (1944).
- (117) Hinds, "J. Dental Research", 21, 457 (1942).
- (118) Gottlieb y Hinds, "J. Dental Research", 21, 317 (1942).
- (119) Deakins, "J. Dental Research", 20, 39 (1941).
- (120) Gottlieb, "J. Dental Research", 23, 141 (1944).
- (121) Pincus, "Brit. Dental J.", 76, 231 (1944).
- (122) Gottlieb, "J. Am. Coll. Dentists", 12, 73 (1945).
- (123) Deakins y Looby, "Am. J. Obstet. Gynecol.", 46, 265 (1943).
- (124) Id., "J. Dental Research", 22, 198 (1943).
- (125) Dragiff y Karsham, "J. Dental Research", 22, 261 (1943).
- (126) Florestano, Faber y James, "J. Am. Dental Assoc.", 22, 1799 (1941).
- (127) Fodick y Rapp, "Dental Research", 23, 85 (1944).
- (128) Bergeim y Barnfield, "J. Dental Research", 24, 141 (1945).
- (129) Stephan y Miller, "Procd. Soc. Expm. Méd. Biol.", 55, 101 (1944).
- (130) Kesel, O'Donnell y Kirch, "Science", 101, 230 (1945).
- (131) Cerould, "J. Dent. Resch.", 23, 239 (1944).
- (132) Richards y Thomassen, "J. Am. Dent. Ass.", 31, 772 (1944).