

LA PROTEOLISIS-QUELACION Y LA CARIES

por los

DRES. ALBERTO SCHATZ, JOSÉ J. MARTÍN y VIVIAN SCHATZ (1)

Chelación

Los mecanismos de las reacciones *chelación*, *secuestración* y *compleción*, así como otras *no ácidas*, son responsables de la solubilización y transporte de las sustancias minerales ordinariamente insolubles. Estas sustancias juegan un papel preponderante en geología, en la química del suelo, en los fertilizantes fosfatados, en la descomposición bioquímica de las rocas y de los minerales por los líquenes, en la disolución de los compuestos carbonatados y de apatita pertenecientes a los organismos marinos, así como en otros campos. Estas reacciones tienen lugar en el metabolismo microbiano, en el crecimiento de las plantas superiores y, en fin, en la vida animal. *Estas reacciones son indispensables para todos los sistemas de vida, sin ellas la vida no puede concebirse.* Por lo tanto, su aplicación al problema de la carie no constituye ninguna novedad sensacional. *Al contrario, hemos de pensar que en la cavidad bucal tendrán lugar fenómenos que en condiciones análogas aparecen en todas partes en la naturaleza.*

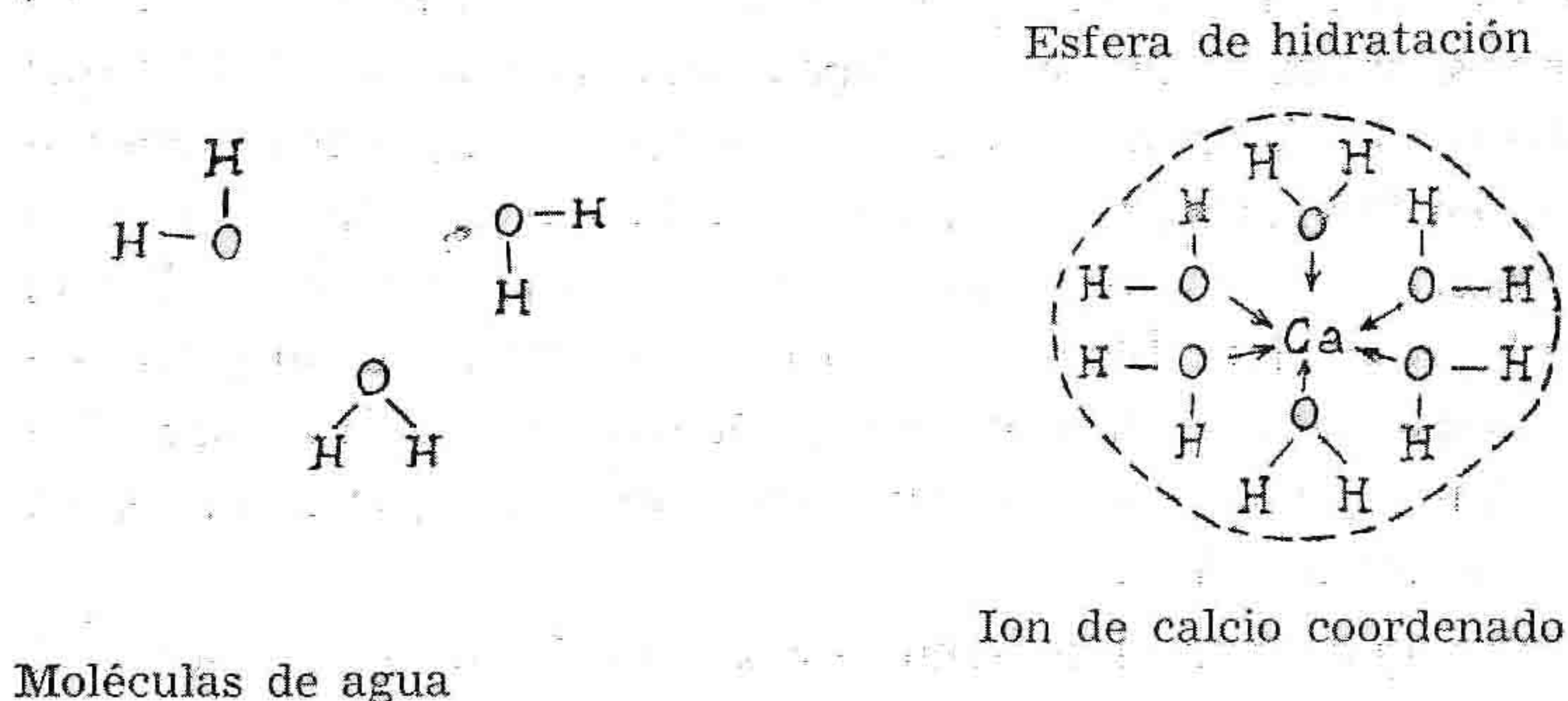
Es probable que hasta el presente «la acción de los ácidos sobre el esmalte dental no ha sido completamente dilucidada», ello debido al tópico injustificado de la concentración de iones de H, es decir del pH, dejando en olvido la propiedad específica de los aniones ácidos de formar complejos. Todavía algunos investigadores estiman que las bacterias bucales son incapaces de producir sustancias susceptibles de chelatar el calcium, a pesar del hecho de que el ácido láctico da lugar precisamente a esta reacción. Otros ácidos formados durante la degradación fermentativa del azúcar por la flora bacteriana salivar son asimismo capaces de formar complejos con el calcio. Del estudio sobre la facultad, inherente a numerosos ácidos orgánicos, de disolver los fosfatos cálcicos

(1) Trabajo remitido por el Dr. Alberto Schatz, de 1101 Edann Road, Oreland, Penna, USA.

aparece que «la concentración de iones de H no constituye el factor determinante». Este estudio revela la importancia del mecanismo de chelación. Puesto que la chelación es un hecho, se trata menos de saber si las bacterias bucales elaboran las sustancias capaces de chelatizar el calcio que:

- a) de determinar los agentes más importantes de estos complejos;
- b) determinar su procedencia, y
- c) en fin, examinar los medios susceptibles de inhibir su producción y su actividad específica chelatrizante.

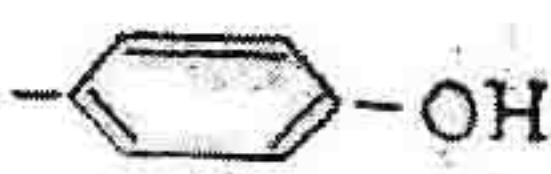
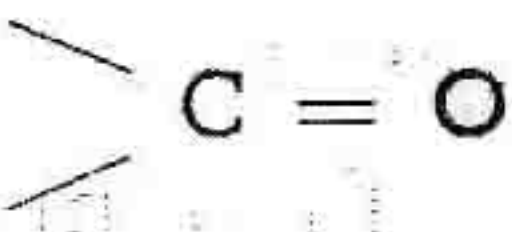
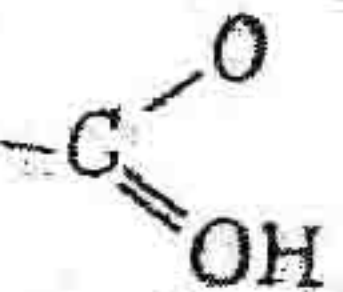
La *chelación* y de manera general la *química de los compuestos de coordinación* sólo excepcionalmente se cita en los textos de odontología. Es el colmo esta laguna en lo que se refiere al calcio. En su estado iónico común, el calcio es bivalente y esta forma es típica para los compuestos, tales como el CaCl_2 , el $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ y el $\text{Ca}(\text{OH})_2$. No obstante, el *número de coordinación* del calcio es de 4 ó 6, lo que significa que en una solución acuosa el ion calcio está presente en la forma esquemática representada aquí:



En este estado, la mayor parte, si no la totalidad, de moléculas de agua del solvente están coordinadas al ion metálico. Este término designa la manera en que las moléculas acuosas están unidas al metal; en este caso por intermedio de *engranaje de coordinación covalencial*. En esta alternativa cada átomo de oxígeno lleva sobre el Ca central los dos electrones que unen con ella las moléculas de agua. Esquemáticamente este tipo de ligadura valencial está representado por las flechas partiendo de los átomos de oxígeno y dirigiéndose hacia el Ca central.

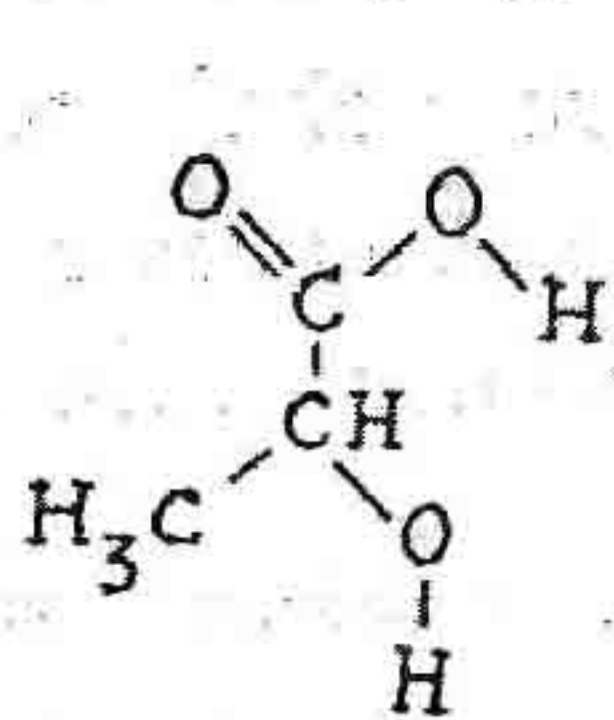
Ahora bien, numerosas sustancias poseen la facultad de sustituir las moléculas de agua de la *esfera de hidratación* del cation metálico. El mismo amoníaco puede realizar tal sustitución, razón por la cual ciertos compuestos amoniacaes disminuyen la solubilidad de los fosfatos cálcicos.

cos. Mientras que sustancias no acuosas producen *ligaduras de coordinación covalenciales* con iones metálicos, esta reacción da lugar a los complejos, procesos designados con el término *complexación*. El N, el S, el O son las tres *ligaduras* más importantes. Esto proviene del hecho de que pares de electrones residuales forman *ligaduras coordinadas covalenciales* con el calcio y otros metales. A excepción del carbono, los elementos no-metálicos más importantes presentes en los sistemas biológicos (N, O, S y P) contribuyen a la formación de las *ligaduras*. El H forma puentes, ligaduras o uniones hidrogenadas que se comportan como metal complejo; los grupos químicos enumerados más abajo representan los elementos funcionales biológicos más importantes en relación a sus posibilidades de servir de ligadura o fijación de átomos distintos:

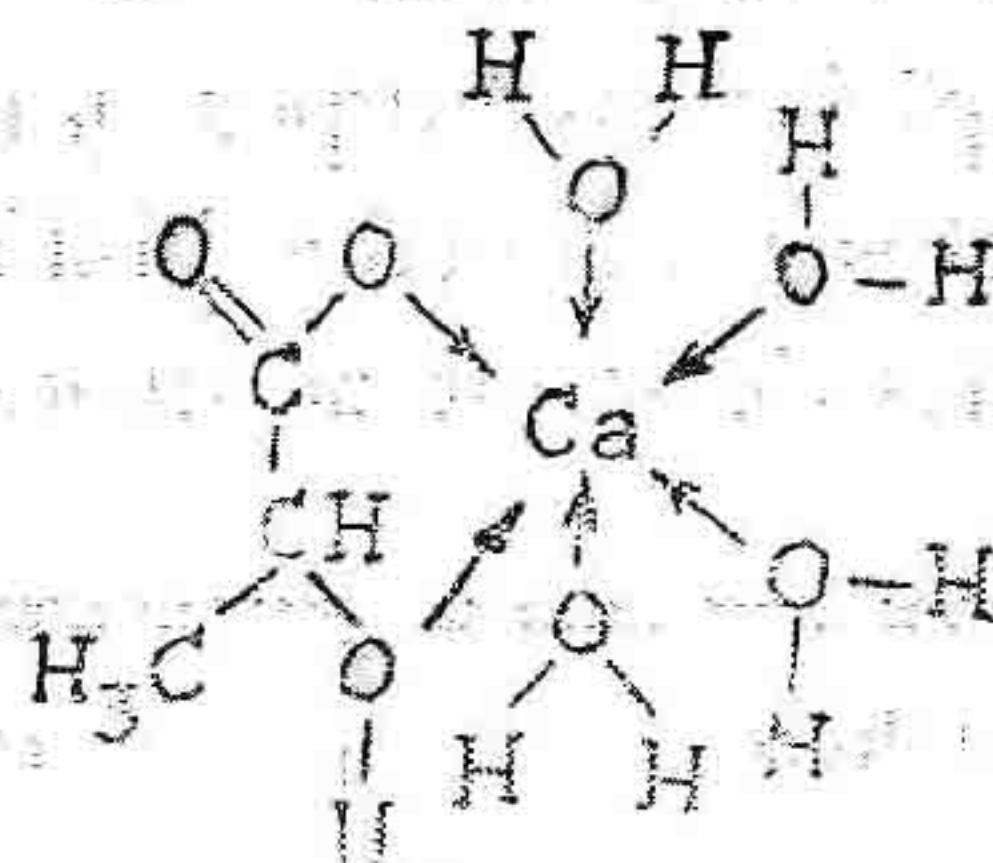
Alcólico — OH	Amina primaria — NH ₂	Thioetherética — S —
Fenólica 	Amina secundaria 	Sulfidrilo — SH
Carbonila 	Amina terciaria 	Sulfonato — SO ₃ H
Carboxila 	Amina terciaria cíclica 	Fosfonato — PO ₂ (OH)

Mientras que una molécula aislada fije varios pares coordinadores, se le designa como *bidentada*, *tridentada*, *cuatridentada*, etc. En el caso que una molécula fije un catión metálico con la ayuda de dos o más ligaduras o valencias, el complejo que resulta presenta una estructura circular o cíclico. Los *complejos cíclicos* constituyen un grupo particular

y son designados con el término de *complejos chelatizados* o *chelates*; las reacciones que le dan nacimiento son *reacciones chelatrices* o *reacciones de chelación*. El término «chelate» se deriva del griego «Chele» y significa *garra*, pinza (en los crustáceos: *Quelonio*, tortuga. Coraza ósea o queratinizada). Mientras que el ácido láctico reacciona con el calcio se forma un complejo, en el que la estructura chelatizada es probablemente la siguiente:



Acido láctico



Complejo lacto-cálcico

Durante la reacción, dos de sus seis moléculas de agua, originariamente coordinadas con el catión metálico, son sustituidas por una molécula láctica, la cual está unida al ion cálcico de dos maneras diferentes:

- Por intermedio del grupo carboxilo, y
- con ayuda de una ligazón covalencial, representada por la flecha que parte del O del grupo hidróxilo y se dirige hacia el calcio.

Los chelates son complejos solubles o insolubles. El término *secuestración* define la formación de complejos metálicos *solubles* en presencia de agentes químicos que habitualmente precipitarían el metal en solución *acuosa*. La importancia de los «chelates» proviene de su extraordinaria estabilidad dependiente de su estructura cíclica. Es por esta razón que el ácido etilenodiamido-tetraacético disuelve los tejidos calcificados, habitualmente insolubles, tales como el hueso y los dientes. Como regla general, el calcio no está fuertemente chelatizado, pues los cationes alcalino-térreos «no producen fácilmente complejos estables.» Esta puede ser la razón por la que las estructuras minerales extendidas por el organismo animal están calcificadas, pues se trata en general de carbonatos o de fosfatos cálcicos. Todos los organismos vivos están literalmente llenos de numerosas variedades de chelatores y las reacciones de complexación son indispensables para la buena marcha del metabolismo. Aun cuando esto

parezca extraño, es cierto que nuestros dientes serían infinitamente menos estables y más susceptibles a la disgregación si fueran compuestos de hierro, manganeso, níquel, cobre o cromo—elementos transitorios—en lugar del fosfato cálcico. La razón es que estos elementos son chelatisados más intensamente y por una variedad mayor de chelates de origen biológico, que no lo es calcio. La naturaleza hace bien las cosas, puesto que al seleccionar el fosfato de calcio para edificar el esmalte de nuestros dientes ha elegido el mineral más durable posible.

Relaciones entre la proteolisis y la quelación

«Después que Smith y sus colaboradores propusieron una teoría según la cual en muchos polipéptidos los iones metálicos serían chelatisados simultáneamente por la proteína enzimática y por el sustrato (2), la naturaleza de ligadura entre los metales y las proteínas ha llegado a ser un problema tan importante como interesante. En lo que concierne a la caries dental es necesario precisar que no importa qué sistema proteolítico sea, es *ipso facto* un sistema complejo y frecuentemente un sistema quelator más o menos específico. *No se puede, pues, comprender completamente la proteolisis sin conocer estas reacciones, que forman parte integral.* En lo que concierne al calcio existe una amplia literatura describiendo su facultad de estabilizar y de proteger diferentes enzimas, así como otras proteínas formando complejos. Un mecanismo análogo es probablemente responsable de la activación cálcica de la colagenasa, enzima que parece jugar cierto papel en la caries de la dentina.»

Como regla general, «las enzimas degradan las proteínas en ácidos aminados por hidrólisis, provocando al mismo tiempo un aumento de la solubilidad del calcio», y lo mismo hacía el fosfato cálcico. Se sabe igualmente que las proteínas y sus derivados complejos completan y solubilizan de esta manera la apatita; no obstante las dificultades que se encuentran para conseguir datos precisos sobre este tipo de reacción. Parece que los péptidos o los ácidos aminados forman complejos cálcicos por su potencial de atracción electrostática de su grupo carboxilo. Pese

(2) Se puede explicar el papel del ion metálico en un sistema enzimático por una interacción del ion metálico, de una parte, con el sustrato, y de otra, con la proteína. En otros términos, los iones metálicos forman compuestos de coordinación, que aseguran la continuidad de los complejos enzimas-sustrato... Es posible que la facultad inherente a los enzimas de hidrolizar las ligaduras o valencias péptidas descansa sobre la formación quelatizada con el ion metálico.

a que los ácidos son normalmente incapaces de reunir cantidades apreciables de calcio en condiciones fisiológicas, en ciertas condiciones la naturaleza del fosfato cálcico puede llegar a apreciarse. La facultad inherente de ciertos ácidos aminados y otros derivados proteicos de disolver el $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, los dientes de origen bovino y del tiburón, marfil del elefante y los huesos de pescado es muy conocido. La disolución se efectúa aparentemente gracias a la formación de carboxilatos carbominados, reacción que ciertamente podría asimismo efectuarse en la película y en las cavidades dentarias.

Aplicación de la proteolisis-chelación a la caries

Que se quiera o no, el hecho es que numerosas sustancias producidas por las bacterias bucales chelatinizan el calcio y que de este hecho son capaces de disolver la apatita en unos amplios límites reaccionales. Es un hecho evidente que la proteolisis está asociada a los procesos de complejón y de quelación y que las reacciones pueden provocar la disolución del fosfato de calcio. Como consecuencia, si se puede demostrar que el esmalte normalmente calcificado es *susceptible de* ser atacado por la flora microbiana proteilizante de la cavidad bucal, de la misma manera que «el día sucede a la noche», será necesario tener en cuenta el hecho de que la proteolisis-chelación es un mecanismo que representa un papel en el proceso de la caries dental.

Es asimismo evidente que las bacterias bucales pueden disgregar las partes orgánicas del esmalte, de la dentina y del hueso, sin que estos tejidos tengan que sufrir una desmineralización previa. Es por esto sorprendente leer la afirmación de Burnett y Scherp: «La matriz colágena de la dentina no está preparada para la digestión enzimática antes de que el tejido se haya desmineralizado.» Hace tres años los mismos investigadores observaron que «bacterias proteolíticas, que no eran acidogénicas, y ciertamente incapaces de provocar cualquier tipo de descalcificación, causaban no obstante una pérdida de peso ligeramente superior al 5 por 100» al ser la dentina intacta incubada durante veintiún días (3) en caldo de cultivo glosado a un pH medio de 7,44. Los resultados obtenidos en sus experiencias con la dentina, así como los nuestros con

(3) Su pérdida de 5,2 por 100 de sustancia dentaria, orgánica o mineral, es característica, particularmente en condiciones alcalinas. *In vivo* una destrucción de 5,2 por 100 en veintiún días corresponde a un desarrollo extremadamente rápido de la lesión de caries.

huesos, no pueden lógicamente ser atribuídos sino al mecanismo de la proteolisis-chelación. Es verdaderamente paradójico que Burnett y Scherp, que han estudiado profundamente la proteolisis, no hayan tenido en cuenta la facultad de los sistemas enzimáticos de fijar los metales (complexer, complexing). Asimismo la mayor parte de los que estudian los ácidos han olvidado la capacidad quelatriz de los aniones. En lo que concierne a la proteolisis, Burnett y Zenewitz han señalado recientemente que el tratamiento del esmalte y de la dentina con glico-etileno-KOH, producto de la digestión de la parte orgánica y de la libertad simultánea de sales minerales. Desde el punto de vista químico, el sistema glico-etileno-KOH es análogo a la proteolisis-chelación, representando este último un mecanismo biológico que realiza un trabajo esencialmente idéntico.

La afirmación de Roth según la cual «la dentina no decalcificada no ha sido alterada por ninguno de los organismos estudiados» es sorprendente, pues sus indicaciones en el mismo trabajo (pág. 1.110) muestran un efecto positivo con cepas de *nocardia dentocariosus* en una experiencia que ha sido realizada con dentina no decalcificada. Los cultivos de *staphilococcus aureus* y de *proteus* atacaron la parte glicoproteica de los tejidos dentales intactos. Otras bacterias disgregaron las partes orgánicas y minerales de la dentina y quizás del esmalte en un pH superior a cinco. Este pH representa el nivel de acidez que Stephan considera como crítico para el desarrollo de la caries. Hurst y sus colaboradores afirman que varios organismos pueden penetrar en el esmalte durante su desarrollo y aun en condiciones no ácidas. Hemos discutido este fenómeno y hemos sugerido la destrucción tanto de la parte orgánica como de la inorgánica para penetrar en el esmalte. En cultivos polivalentes de productos proteolizantes de origen bucal son capaces de digerir simultáneamente las partes orgánicas e inorgánicas del tejido óseo de la rata. Estudios parecidos realizados en el esmalte indican que la parte mineral estimula la proteolisis, la cual, a su vez, contribuye a la disgregación de la apatita.

El empleo que nosotros hacemos de cultivos polivalentes ha provocado una tempestad de protestas de parte de ciertos investigadores dentales, que ponen en duda las investigaciones sobre la caries que no se hayan realizado con cepas puras. Hemos expuesto de manera detallada la dificultad, por no decir la imposibilidad, de explorar ciertas reconditeces de la proteolisis-chelación utilizando microorganismos aislados. Los

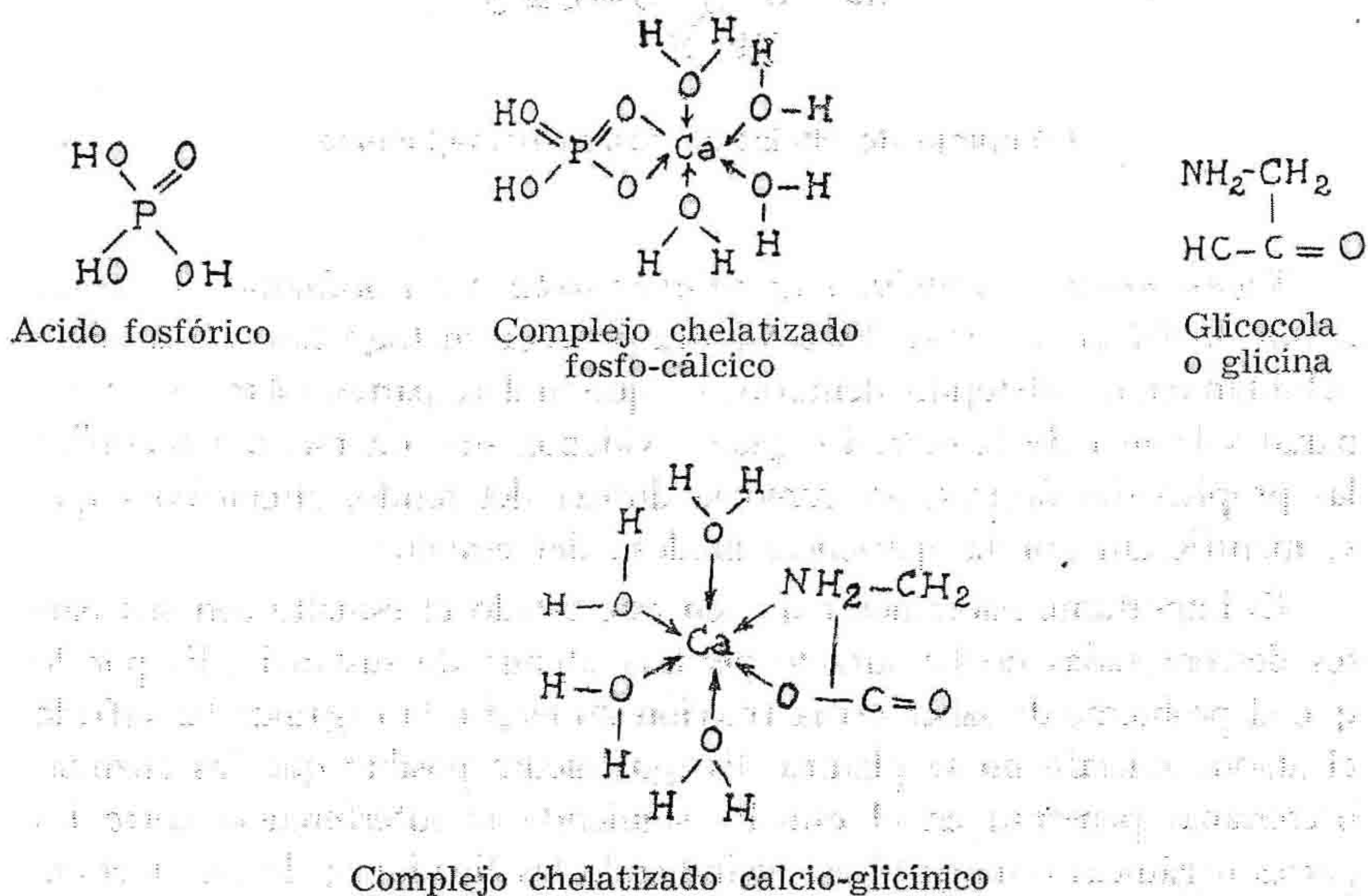
fetichistas de las cepas puras en microbiología se exponen a complicaciones inextricables, pues hemos de acomodarnos al hecho de que las cepas puras no pueden en ningún caso ser consideradas como homogéneas. Desde el punto de vista bioquímico, el cultivo de cepas puras es un mito, demasiado estrecho para servir como definición.

La bioquímica comparada nos revela un hecho extremadamente interesante: ciertas algas elaboran polipéptidos susceptibles de formar complejos metálicos solubles y disolver de esta manera el carbonato y fosfato cálcico. Es posiblemente este mecanismo idéntico a aquel que permite a ciertas talofitas invadir los dientes y el hueso maxilar de peces y desmineralizar estas estructuras en reacción alcalina. Es evidente que no se trata de saber si los microorganismos pueden atacar las partes orgánicas de los tejidos calcificados, puesto que esta reacción es archiconocida, sino:

- a) De definir los organismos que efectúan este trabajo;
- b) dilucidar las condiciones óptimas para su actividad destructora;
- c) precisar las reacciones bioquímicas que tienen lugar; y
- d) en fin, advertir los medios de que disponemos para prevenir tales destrucciones.

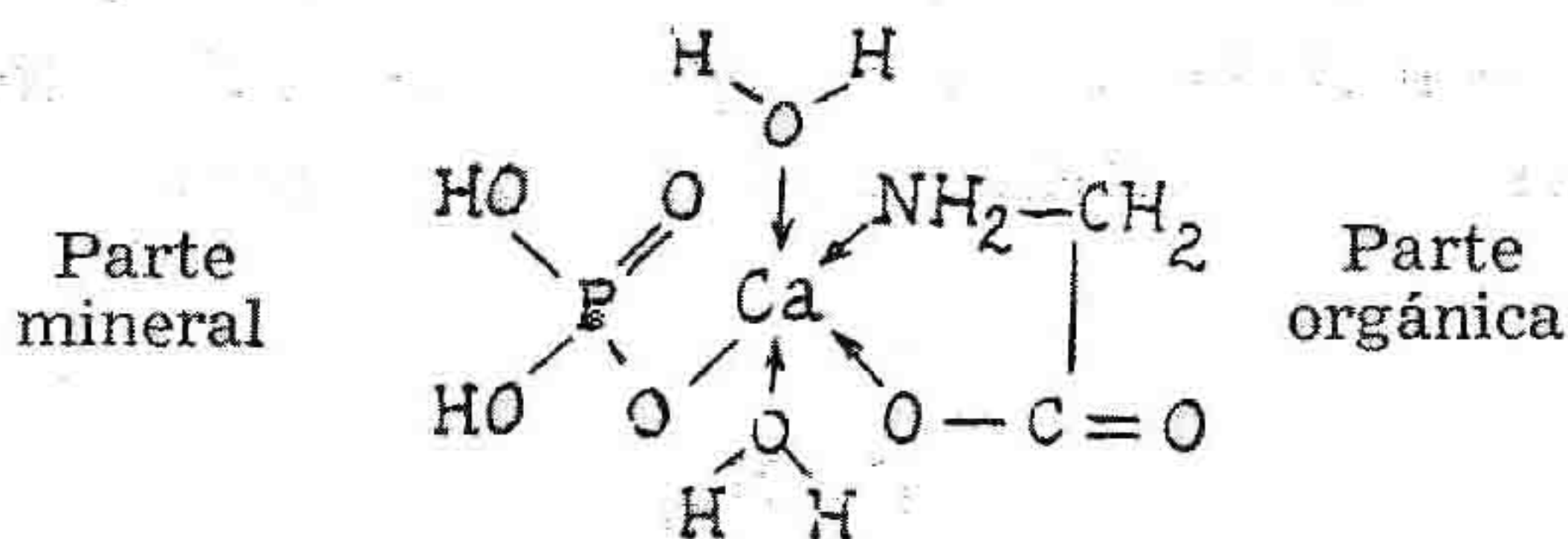
La proteolisis-chelación concibe la caries bajo un ángulo diametralmente opuesto a las concepciones convencionales de los ortodoxos. Por ejemplo, nosotros consideramos el esmalte como una estructura esencialmente orgánica, asociada a importantes cantidades de materia mineral destinada principalmente a satisfacer las exigencias mecánico-funcionales. Este aspecto contrasta evidentemente con la concepción usual del esmalte considerado como una entidad esencialmente mineral, conteniendo indicios de materia orgánica, constituyendo el recuerdo de la amelogénesis. De este hecho, y por analogía a lo que ocurre en otras enfermedades infecciosas, nosotros pensamos que la caries dental equivale al ataque de una estructura corporal orgánica, es decir, al esmalte. Todas las infecciones destruyen el equilibrio mineral, tanto local como general; en consecuencia, el ataque de los compuestos orgánicos en el curso de la caries se desorganiza la parte mineral. El esmalte es el tejido más fuertemente mineralizado de nuestro organismo, aun cuando es el más fuertemente afectado en su parte inorgánica. Desde este punto de vista, la caries no es una excepción y constituye una enfermedad análoga a muchas otras.

Nosotros consideramos el esmalte como una macromolécula, como un complejo metálico. De este hecho el dilema se presenta en el sentido de saber si la decalcificación *ácida* precede a la proteolisis, o inversamente, no existe. En efecto, teóricamente, lo mismo que prácticamente, esta concepción es inaplicable a un sistema que implique la quelación tanto como a un sistema en el cual los *dos* componentes, la porción inorgánica y la orgánica, son disgregadas simultáneamente, como postula la proteolisis-quelación. Examinemos este último punto con mayor amplitud. De acuerdo con el esquema siguiente, el ácido fosfórico y la glicina (glicocola) forman quelatos con el calcio. Los ácidos aminados del esmalte reaccionan probablemente de la misma manera:



En ciertas condiciones, un complejo tal como el que se representa es susceptible de existir. En realidad no se trata de saber si existe realmente o no, sino considerarlo como el más simple prototipo de relaciones entre la apatita de los prismas adamantinos, de una parte, y la materia orgánica interprismática, de otra. A este propósito es interesante notar la acumulación de ligaduras, fijaciones o valencias de estructura entre las partes orgánicas y las minerales. Es, pues, evidente que el esmalte no está constituido de dos fases, una inorgánica y la otra orgáni-

ca, estrictamente separadas. En realidad se trata de una macromolécula única, en la que la estructura y la composición interna son heterogéneas (4). Supongamos ahora que agentes cualesquiera, proteasas bacterianas habilitadas para efectuar este trabajo, por ejemplo, provocaran la ruptura de las ligaduras o fijaciones entre las partes orgánicas e inorgánicas; esta escisión se efectuaría según la línea punteada del esquema inferior:



Complejo de quelación fosfo-calcio-glicínico

Según nuestra opinión, esta ruptura debe ser considerada como la lesión inicial de la caries. Esta ruptura provoca en todo caso un sensible debilitamiento del tejido dentario, ya que ambas partes están ahora separadas la una de la otra. Es, pues, evidente, que tal escisión modifica las propiedades ópticas, así como la dureza del tejido, alteraciones que se manifiestan por la apariencia gredosa del esmalte.

Es importante hacer notar que en este estado el esmalte con sus partes desconectadas no ha sufrido pérdida alguna de sustancia. Es por lo que el problema de saber «si la fracción mineral o la orgánica ha sufrido el ataque inicial» no se plantea. Es igualmente posible que las enzimas bacterianas penetran en el esmalte siguiendo la interferencia entre las partes orgánicas e inorgánicas, incendiando las ligaduras; de esta manera se rompe literalmente el tejido en partes de glicocola-fosfo-cálcica. En esta alternativa igualmente es imposible de precisar cuál es la parte, orgánica o inorgánica, que sufre el ataque inicial. De todas formas, los dos mecanismos que acabamos de sugerir no son concebibles sino con la ayuda de la teoría proteolisis-chelación.

(4) En lo que concierne a las relaciones entre la estructura del esmalte y la resistencia a la caries, el lector encontrará en la pág. 240 de esta misma publicación un resumen de las concepciones del Dr. Ch. Leimgruber.

Esta nueva teoría concierne esencialmente al mecanismo de la caries y tiende a elucidar de qué manera los dientes son destruídos. Se basa:

a) En el hecho de los quelatores cálcicos, derivados del metabolismo de las protistas y capaces de disolver la apatita, y habitualmente presentes en la cavidad bucal.

b) Algunas de estas sustancias constituyen los productos de disgregación de las partes orgánicas del diente.

c) El ataque microbiano de esta parte orgánica no exige la previa desmineralización del tejido dentario.

Las proteínas no constituyen el substrato único de la proteolisis-chelación; se aplica a todas las partes orgánicas del esmalte y de la dentina y comprende todas las reacciones de posibles complejidades. *Constituye la primera teoría capaz de explicar la degradación simultánea de las partes orgánicas e inorgánicas del esmalte gracias a un mecanismo fundamental y general, no dependiendo necesariamente del pH.*

Admitimos que tres años de investigación no hayan proporcionado mayores pruebas indiscutibles de esta nueva concepción que un siglo de investigación, que no trajo mayores apoyos a la teoría acidogénica clásica. En lo referente al mecanismo de la caries es evidente que queda todavía mucho por hacer antes de que podamos evaluar definitivamente las posibilidades o los límites de la proteolisis-chelación. Estos trabajos futuros necesitarán contestar el porqué de las siguientes cuestiones o interrogantes: 1) influencia general del organismo; 2) maduración del esmalte; 3) resistencia y afinidad; 4) métodos de prevención, etcétera, cuestiones éstas que hemos tratado en este trabajo.

(Sigue una relación de 108 citas bibliográficas, que ofrecemos a nuestros lectores que nos lo soliciten.)