

194
2 ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

*"EFECTOS DEL FLUOR A DIFERENTES CONCENTRACIONES
SOBRE CRANEO, MANDIBULA Y HUESOS LARGOS EN
RATONES CD-1"*

T E S I S

QUE PRESENTAN:

**GONZALEZ-PLATA RIVERA RICARDO
MARTINEZ CASTAÑEDA MANUEL**

Para obtener el título de:
CIRUJANO DENTISTA

DIRECTOR DE TESIS:
DR. JUAN CARLOS HERNANDEZ GUERRERO.

ASESORES:
**DRA. ARCELIA MELENDEZ OCAMPO
DR. MIGUEL DE ICAZA HERRERA**



MEXICO D.F.

1996



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*"Es buscando lo imposible como
el Hombre ha realizado siempre
y reconocido lo posible.
Y aquellos que "sabiamente" se han
limitado a lo que parecía posible
no han dado jamás un paso"*

MIJAIL BAKUNIN

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a todas las personas que intervinieron en la realización de éste trabajo.

En especial al Dr. Juan Carlos Hernández y a la Dra. Arcelia Meléndez por su gran apoyo y valiosos consejos.

De igual manera agradecemos a la Dra. Verónica García, Dr. Miguel de Icaza, Dr. Ricardo Pérez, Alfonso Pineda, Adrián Ramírez por su desinteresada ayuda.

Al Departamento de Materiales Dentales de la Facultad de Odontología y al Instituto de Física de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Indice General

1. Introducción	1
1.1 Absorción	5
1.2 Distribución	7
1.3 Excreción	10
1.4 Efectos Terapéuticos del Fluoruro	11
1.5 Mineralización	16
1.6 Toxicología	18
1.7 Efectos Tóxicos del Fluoruro	19
1.8 Mecanismos de los Efectos Tóxicos	21
2. Definición del Problema	24
3. Justificación	24
4. Objetivo General	25
4.1 Objetivos Específicos	25
5. Hipótesis	26
6. Metodología	26
6.1 Materiales y Métodos	26
6.1.1 Estudios Morfométricos	27
6.1.2 Estudios Fotográficos	28
6.1.3 Estudios Histológicos	29
7. Resultados	33
8. Discusión	43
Conclusión	50

Referencias Bibliográficas

Indice de Tablas y Figuras

Tabla 1.- Experimentos con Fluoruro en Ratones.....	13
Tabla 2.- Fases de Fluorosis Esquelética.....	20
Tabla 3.- Peso de Órganos.....	33
Tabla 4.- Peso de Tejidos Óseos.....	35
Tabla 5.- Medición Lineal de Tejidos Óseos.....	37
Tabla 6.- Relación de Espesores Corticales.....	39
Figura 1.- Casos de Envenenamiento por Fluoruro.....	2
Figura 2.- Porcentaje de Casos por Envenenamiento.....	3
Figura 3.- Distribución de Fluoruro en el Organismo.....	8
Figura 4.- Excreción de Fluoruro en el Organismo.....	12
Figura 5.- Medidas de Cráneo/Puntos de Referencia.....	32
Figura 6.- Medidas de Huesos Largos/Puntos de Referencia.....	32
Figura 7.- Peso de Órganos Vitales.....	34
Figura 8.- Peso Corporal de Ratones.....	36
Figura 9.- Peso de Tejidos Óseos.....	36
Figura 10.- Medidas de Cráneos.....	38
Figura 11.- Medidas de Huesos Largos.....	38
Figura 12.- Relación de Espesores Corticales.Control.1.....	40
Figura 13.-Relación de Espesores Corticales Experimental.4.....	40
Figura 14.- Relación de Espesores Corticales Control.3.....	41
Figura 15.- Relación de Espesores Corticales Experimental.3.....	41
Figura 16.- Cortes Histológicos de Cóndilo Femoral.....	42
Figura 17.- Cortes Histológicos de Cóndilo Femoral.....	42

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, muchos de los métodos de prevención factibles de aplicar en el proceso carioso de niños, proponen el uso de fluoruros. Estos, son aplicados directamente al diente a través de diferentes vías de administración. Estas vías pueden ser tanto tópicos (dentríficos, enjuagues, geles o soluciones) como sistémicas (tabletas, agua, gotas y sal) ¹.

Durante 50 años el fluoruro ha sido la substancia más utilizada y efectiva para la prevención y el tratamiento de la caries dental en todo el mundo ². Innumerables estudios publicados acerca de los efectos terapéuticos y tóxicos de este elemento en el diente, saliva y placa bacteriana han sido ampliamente discutidos a lo largo de los años ³⁻¹⁴.

Sin embargo, recientes estudios realizados en países desarrollados como Estados Unidos, Alemania, Japón, China y subdesarrollados como Sudáfrica e India han demostrado que la incidencia de la fluorosis dental y esquelética ha aumentado durante la década pasada ¹⁵⁻²³.

Esto nos evidencia que una ingestión excesiva de fluoruros por un período prolongado puede resultar en alteraciones de forma y función en el cuerpo humano; por ejemplo, la fluorosis esquelética, que puede ocasionar alteraciones neurológicas y mielopáticas con o sin radiolucidez en el hueso humano ¹⁸.

La Asociación Americana que incluye a los centros de control por envenenamiento en Estados Unidos, recopila anualmente los datos de los centros participantes que sirven aproximadamente al 50% de la población en Norteamérica ²⁴. Basados en estos datos se estimó que de 7700 casos en 1984 concernientes a envenenamientos por fluoruro, aumentaron hasta 11 600 casos en 1986 (*fig. 1*). Cerca del 90% de los casos reportados involucraron niños ^{25,26} (*fig. 2*).

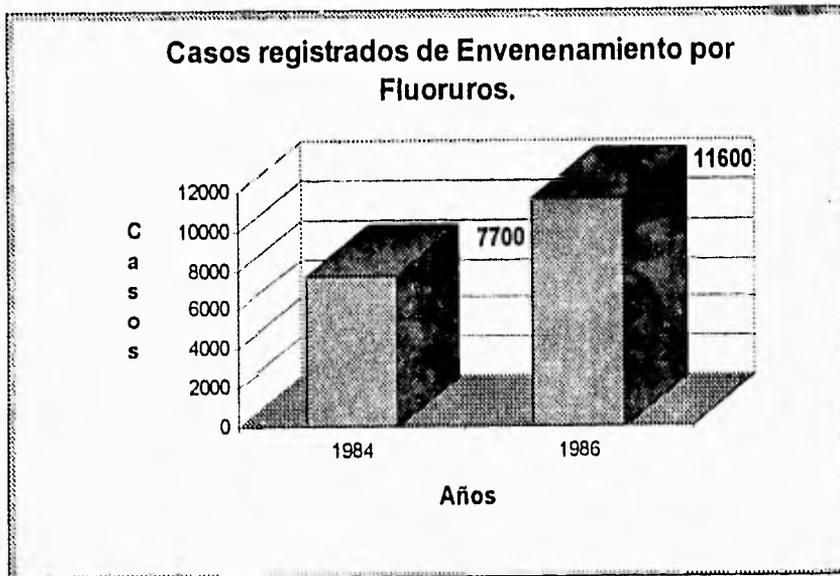


Figura 1.

El Instituto Nacional de las Ciencias de la Salud para el Ambiente en Estados Unidos (NIHSE) recientemente realizó un estudio referente a la toxicología y la carcinogenicidad del fluoruro de sodio en ratas y ratones, el cual fué desarrollado por el Programa Nacional de Toxicología (NTP) ^{27,28}. Este

estudio comparó grupos control contra grupos experimentales con fluoruro de sodio en el agua de beber a concentraciones de 25, 100 y 175 ppm. En los grupos experimentales a concentraciones medias y altas, se observó un desarrollo de cáncer en estructuras óseas (osteosarcomas).

Por otra parte, experimentos en Estados Unidos con ratas recibiendo 100 ppm de Flúor en el agua de beber, ha demostrado que el efecto del fluoruro a grandes dosis consiste en 3 efectos en las células óseas:

El primero es un incremento en el número de osteoblastos y en su actividad para secretar matriz ósea ²⁹. El segundo efecto fué retrasar la mineralización, incrementando el tejido osteoide ^{30,31}. El tercero fué un incremento en la resorción de la superficie endosteal, produciendo una cavidad medular más grande ³².

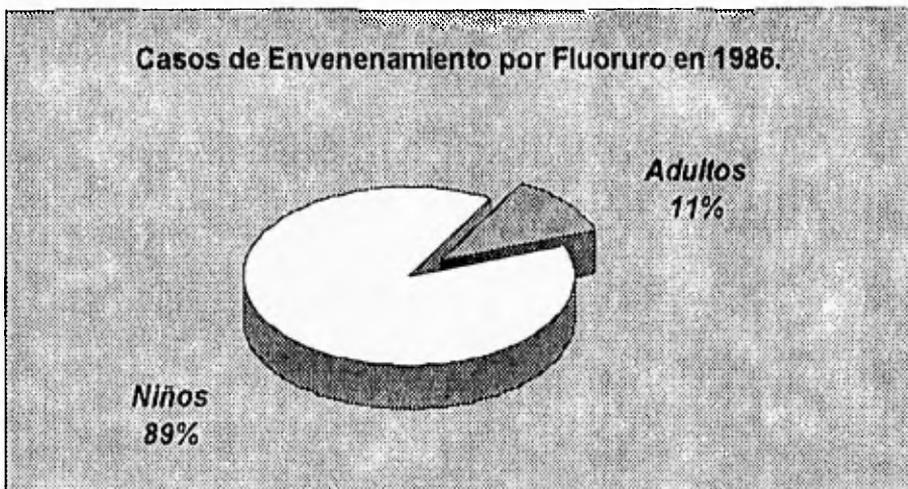


Figura 2.

Podemos decir que en el hueso, la cantidad total del fluoruro ingerido es el factor más importante en determinar el curso clínico de la fluorosis esquelética ^{33,34}. La severidad de los síntomas se relaciona directamente con el nivel y la duración de la exposición ³⁵.

Los cambios en el hueso observados en la fluorosis esquelética son estructurales y funcionales, por ejemplo, se observa una hiperosteosis y una radiopacidad aumentada en las trabéculas; además van acompañadas de: osteoclerosis, osteomalacia, hipertiroidismo secundario, etc. ³⁶.

Sin embargo, los requerimientos para desarrollar fluorosis esquelética invalidante en humanos, están principalmente en proporción al tiempo y a la cantidad ingerida ³³.

Todo esto no ha sido suficiente para que los investigadores tomen conciencia de la magnitud de ésta situación, es decir, pocos estudios se han realizado durante los últimos años con respecto al uso del fluoruro en el hueso esquelético.

Con esto observamos que el hueso humano es uno de los temas con más relevancia, pero menos estudiado actualmente. Podemos preguntarnos entonces: ¿Porqué existen tan pocos estudios referentes a efectos del fluoruro en el hueso, siendo que este elemento se utiliza en tratamientos contra la Osteoporosis, un padecimiento que afecta a más de 16,000,000 de habitantes en Estados Unidos actualmente?^{26,37} ¿Porqué no existen más estudios con respecto a éste tema si a

millones de niños en todo el mundo, incluyendo México, se les ha administrado algún tipo de fluoruro para la prevención y tratamiento contra la caries ³⁻¹⁴. Aún sabiendo que existen estudios demostrando los posibles efectos que puede tener el fluoruro sobre las estructuras óseas ³⁸⁻⁴².

Es por esto que hoy en día existe la necesidad de realizar estudios que involucren el uso de fluoruros. Estos deben ser enfocados a los efectos que causa este elemento en el organismo, principalmente en huesos y tejidos blandos, además de los ya conocidos en dientes. Este tipo de estudios son útiles para el desarrollo de sistemas de fluoración en México.

1.1 ABSORCIÓN

El término absorción puede ser definido como el transporte de sustancias desde el epitelio del tracto gastrointestinal hacia los capilares vasculares y linfáticos que a su vez los distribuyen a todo el organismo ⁴¹.

Estudios en animales y humanos han mostrado que el fluoruro ingerido sistémicamente, es absorbido rápidamente a través del tracto gastrointestinal ⁴³⁻⁴⁶. La absorción del fluoruro en humanos ha sido comprobada por 2 métodos: la medición de la cantidad de fluoruro en el epitelio gastrointestinal y por la medición de la cantidad de fluoruro en los niveles del plasma posterior a su ingestión ⁴³⁻⁴⁶. Resultados de estos estudios nos muestran que existe una rápida y

extensa absorción, con niveles que van del 90 al 100 % del fluoruro en el plasma dentro de los 30 a 60 min posterior a su ingestión, dependiendo de su vía de administración.

La teoría acerca de la absorción del fluoruro nos explica que el fluoruro en su forma de molécula no-asociada, ácido hidrofúrico (HF), es absorbida por difusión pasiva a lo largo del tracto gastrointestinal (sin indicio de algún tipo de mecanismo de transporte, es decir, no existe evidencia alguna para requerir de energía para realizar éste proceso ^{45,46}). Este proceso al ocurrir por difusión, es indirectamente proporcional al pH, por lo que los factores que promueven el incremento de la secreción gástrica, incrementan al mismo tiempo el nivel de absorción del fluoruro, y viceversa. Es decir, la absorción del fluoruro se acelera cuando el pH estomacal es ácido; ya que en el estómago se absorbe más fácilmente ácido hidrofúrico (HF) que no tiene iones libres de flúor, quienes principalmente tienen una carga negativa y un tamaño molecular grande ²⁶. Esto explica porqué el flúor, al contrario de varios nutrientes, es ampliamente absorbido por el estómago, donde el ácido clorhídrico estomacal (HCl) conduce a la formación de HF, que inmediatamente después, produce en el plasma niveles elevados de fluoruro.

Algunos estudios han demostrado cómo diversos factores metabólicos y/o materiales alteran el pH intestinal, disminuyendo la absorción gastrointestinal de fluoruro ⁴¹. Experimentos con ratas, en donde se les adicionó diversos

elementos en la dieta (calcio, magnesio aluminio, fósforo, etc), redujeron significativamente la absorción estomacal de flúor ^{47,48}.

1.2 DISTRIBUCIÓN

Una vez que el fluoruro es absorbido, este pasa al complejo sangre/plasma distribuyéndose a través de todo el cuerpo, para posteriormente excretarse parte de él (*fig. 3*). Podemos asegurar que la concentración de fluoruro en el plasma es variable, ya que está directamente en proporción con la cantidad ingerida y de varios factores fisiológicos ²⁶.

Esto es porque los niveles de fluoruro en el plasma no son regulados por la homeostasis en el organismo, por lo que los niveles de fluoruro en plasma pueden ser utilizados como indicadores de ingestión y cantidad de fluoruro ^{49,50}.

Tres estudios indican que el fluoruro no se adhiere a ninguna proteína plasmática en el plasma ⁵¹⁻⁵³, por lo tanto, se puede asumir que las concentraciones de fluoruro en el fluido intersticial y las concentraciones que se encuentran en el plasma son virtualmente idénticas.

Es por esto que en estudios acerca de la distribución de fluoruro en tejidos blandos, se utiliza el nivel de fluoruro en el plasma como referencia extracelular, en lugar de utilizar el fluido intersticial para medirlo ²⁶.

Numerosos estudios han demostrado que el flúor iónico o libre es la forma biológicamente activa del fluoruro que circula en el plasma ^{52,53}. La otra forma del fluoruro, el fluoruro orgánico o no iónico, ha sido poco estudiado. Poco se sabe de su importancia biológica (efectos, metabolismo, destrucción, etc), además no está relacionada con la ingesta normal de fluoruro ^{41,54}.

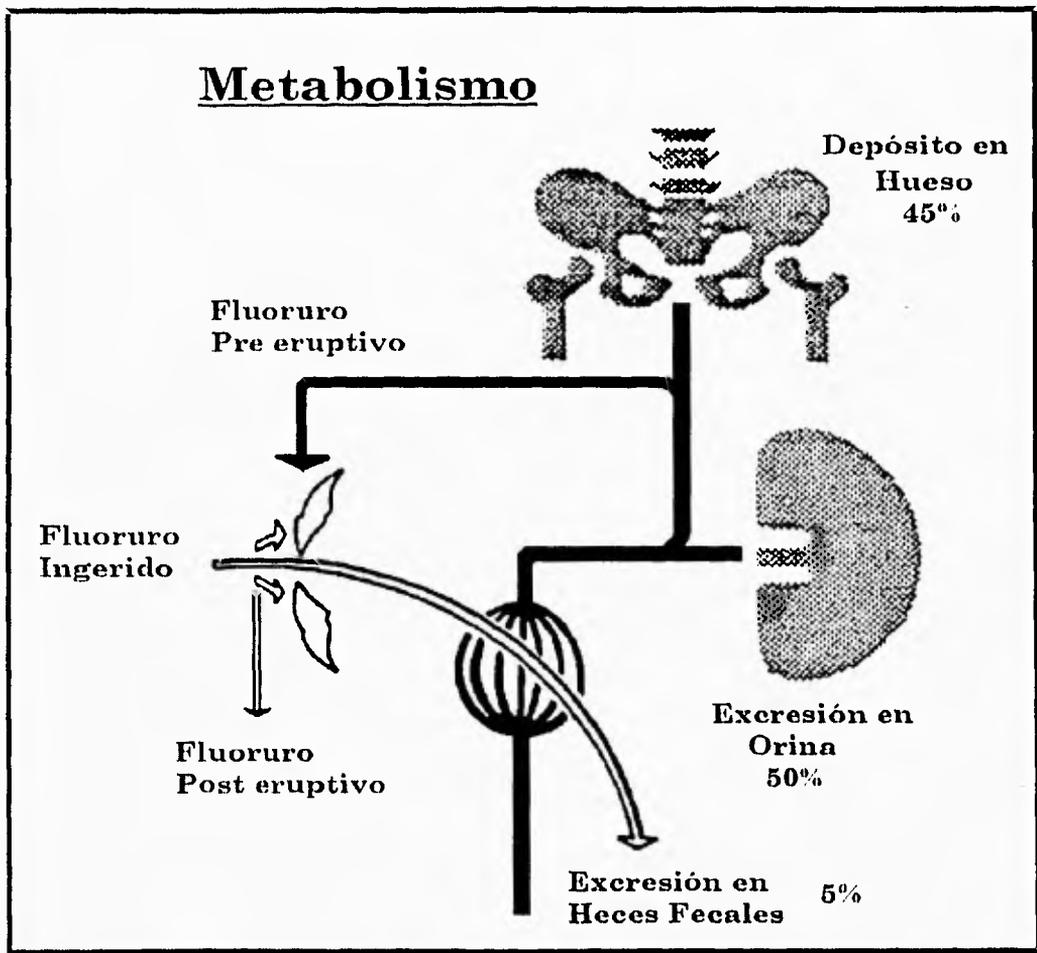


Figura 3.

El 45% del fluoruro retenido en el cuerpo se encuentra circulante en el plasma; éste entra a los tejidos calcificados (huesos y dientes) ya sea por sustitución del ion hidroxilo (OH^-) o del ion bicarbonato (HCO_3^-) en la hidroxiapatita del hueso o del esmalte para formar fluorapatita, especialmente en el hueso joven que tiene una gran afinidad por el fluoruro ^{55,56}. Aproximadamente el 1% del fluoruro absorbido sistémicamente es distribuido a los tejidos blandos del organismo. Se piensa que se éste se distribuye a los espacios intracelulares por difusión pasiva del ácido hidrofúorico (HF) ⁵⁷⁻⁵⁹. Se ha comprobado que el proceso es tan rápido que la proporción de las concentraciones en el plasma y en los tejidos blandos siempre es idéntica; dicho de otra manera, cuando los niveles en plasma del fluoruro bajan, los niveles intracelulares cambian simultáneamente y en la misma proporción, reflejando la continua fluctuación ⁶⁰.

Existen excepciones como por ejemplo en el riñón y el hueso, en donde los niveles de fluoruro exceden los niveles encontrados en el plasma. En el riñón, el fluoruro en el fluido tubular renal está mucho más concentrado que en el plasma. En el caso del hueso, tenemos que el fluoruro es un ávido buscador de hueso ^{26,41,60}.

Cuando los niveles de fluoruro en tejidos blandos exceden a los niveles encontrados en el plasma, debemos sospechar de una calcificación ectópica ²⁶.

Por otra parte tenemos al tejido adiposo y al cerebro. En éstos, se puede explicar los bajos niveles de fluoruro por el bajo contenido de agua en el tejido

adiposo y una relativa impermeabilidad en la barrera sangre-cerebro para el fluoruro ^{26,41,60}.

1.3 EXCRECIÓN

La eficiente remoción del fluoruro que se encuentra en el plasma es gracias a la excreción renal y al depósito de fluoruro en el hueso ²⁶. El riñón representa la principal vía de excreción del fluoruro del organismo. El 50% de todo el fluoruro absorbido diariamente por el tracto gastrointestinal en adultos es excretado en la orina ^{26,41}.

La eliminación total del fluoruro varía entre los individuos. Básicamente el ion es libremente filtrado del plasma en los capilares glomerulares hacia el espacio urinario de Bowman, en donde pasa por varias etapas de reabsorción tubular. No existe evidencia para la secreción tubular neta o total del fluoruro ²⁶.

El factor más importante que determina la eficiencia en la remoción del fluoruro es el pH urinario. Al igual que en el estómago, el índice de excreción es directamente proporcional al pH, es decir, cuando éste baja disminuye la excreción y cuando se eleva, aumenta la excreción de fluoruro ^{61,62}.

La explicación de la dependencia del fluoruro en cuanto al pH en el riñón es que el ion F⁻ se absorbe de los túbulos renales hacia la sangre como HF. Las células de los túbulos renales son altamente permeables a los ácidos no-asociados

(HF) y son virtualmente impermeables al fluoruro iónico F^- que tiene carga y está altamente hidratado ^{26,41}. Cuando el fluido tubular es relativamente alcalino, mucho del fluoruro que existe en la forma iónica permanecerá dentro del tubo para ser excretado, no así cuando el fluido tubular es ácido donde el HF se filtrará hacia los capilares rodeando a los túbulos y regresará a la circulación general ^{26,41,51,63} (*fig. 4*).

La rápida excreción en el organismo es uno de los factores protectores en envenenamientos severos por fluoruros ^{41,64}. En estos envenenamientos el período crítico es corto, ya que el fluoruro es rápidamente removido de la circulación por el riñón. Además, el depósito de fluoruro en el hueso es extremadamente rápido ⁶⁵.

Existen estudios acerca de el efecto que tiene la dieta en el pH urinario, en donde se muestra como la dieta tiene predominante efecto en cuanto al grado de acidez o alcalinidad en la orina y su relación con la absorción-excreción de fluoruro ^{56,63}.

1.4 EFECTOS TERAPÉUTICOS DEL FLUORURO

El fluoruro de sodio (NaF) fué utilizado por primera vez en 1961 para el tratamiento de la Osteoporosis, un padecimiento que afecta a 16 000 000 de ciudadanos en Estados Unidos ^{26,66}.

La idea de utilizar éste elemento fué por la observación de 2 cosas:

- 1- El incremento en la densidad osea del hueso trabecular en el organismo (lo que radiológicamente caracteriza a la fluorosis esquelética)⁶⁷.
- 2- La baja prevalencia de Osteoporosis en áreas con concentraciones moderadamente altas de fluoruro en el agua de beber ⁶⁷.

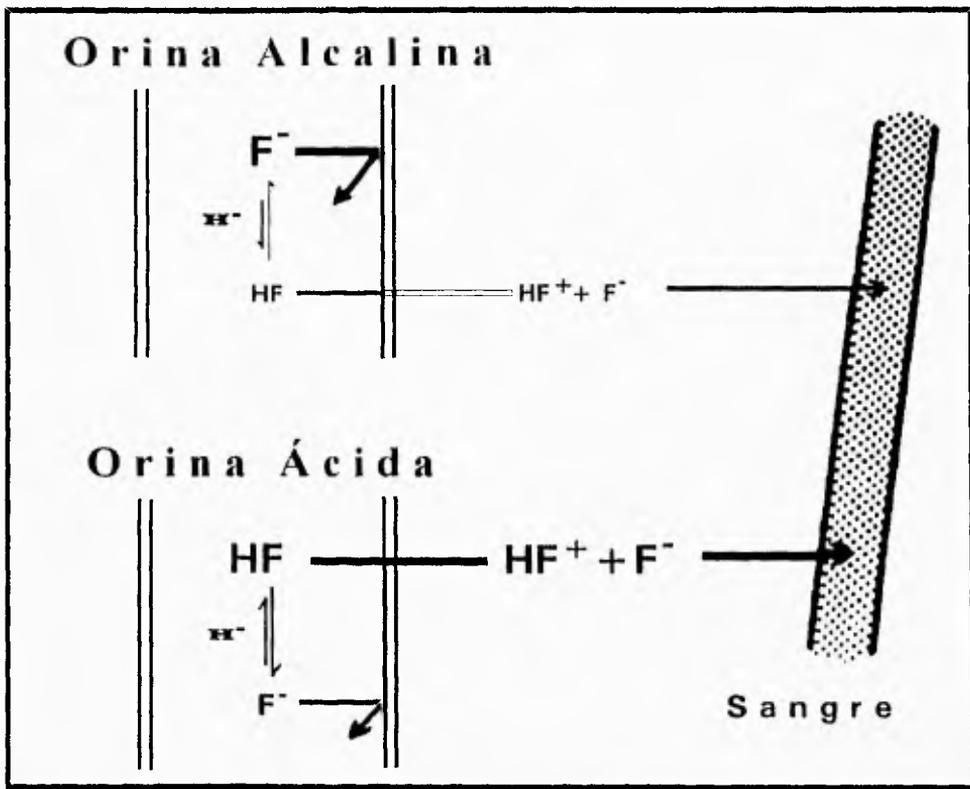


Figura 4.

En los pasados 27 años varios estudios han sido llevados a cabo (tabla 1), estos han variado con respecto a las dosis de fluoruro, los suplementos de calcio y/o vitamina D, los tiempos de tratamiento, etc. Todos estos estudios indican que

el NaF es un efectivo e indiscutible incrementador de masa ósea en la columna.

Esto se demostró primero por técnicas radiológicas ^{68,69}, después por estudios histomorfométricos en huesos iliacos ⁷⁰, y recientemente por mediciones de la densidad ósea en la columna vertebral (tomografía cuantitativa computarizada) ⁷¹.

A pesar de esto, la combinación de éstos elementos (Flúor + suplemento de Calcio) aún no ha sido aprobada por la Administración de Drogas y Alimentos en Estados Unidos (FDA); muchos pacientes con osteoporosis han sido tratados con preparaciones comerciales tales como suplementos preventivos para la caries dental ⁷².

Autor/año	Tipo de Organismo	Cantidad, métodos y tiempo de administración	Resultados
NTP 1990 ²⁷	ratas y ratones	0, 25, 100 y 175 ppm agua de beber/2 años	No existió evidencia de actividad carcinogénica.
Procter and Gamble 1990 ⁷³	ratas y ratones	0, 4, 10, 25 mg/kg/día dieta/1 año, 11 meses	-Disminución en el peso total, incremento de peso corporal en el hígado y nefritis intersticial. -Desarrollo de osteomas, hiperosteosis y osteoesclerosis
Singer & Armstrong 1964 ⁷⁴	ratas	0, 10, 30 y 50 ppm agua de beber/2 meses	Incremento en la concentración de Flúor en húmeros. Peso corporal sin cambio. No se observó un incremento de Flúor en el plasma.
Riggs & al 1990 ⁶⁸	Humanos	75 mg NaF tabletas/4 años	Densidad ósea aumentada en la columna, cuello del fémur y disminuída en el radio (hueso cortical). Efectos colaterales gastrointestinales
Sowers & al 1991 ⁷⁵	Humanos	4 mg/L Flúor agua de beber/5 años	Aumentó el índice de fracturas en muñecas, cadera y columna, el 100% en el grupo experimental.

Tabla 1.

Las agencias correspondientes de 8 países europeos han apoyado al fluoruro como tratamiento contra la osteoporosis ⁷⁶. En Francia en 1984, después de la autorización para el comercio de tabletas entéricas de NaF ("Osteofluor", Merck-Clevenot Lab.) para el tratamiento de osteoporosis primaria, el Ministro de Salud pidió al Instituto Nacional de Investigación para la Salud (INSERM) que coordinara en colaboración con los Centros de Vigilancia de Drogas (SDC) un estudio acerca del índice de riesgos y beneficios con respecto a la prescripción y administración de estas tabletas en la práctica profesional ³⁷. Por otro lado, un consenso reciente desarrollado en el Taller Internacional de Fluoruro y Hueso (IWFB) concluyó que los beneficios de la terapia con fluoruro parecían ser mayores para muchos pacientes con síndromes de fracturas vertebrales ⁷⁶.

En 1982 y 1990 se llevaron a cabo 2 estudios en Estados Unidos tratando de demostrar los beneficios de la combinación de fluoruro + un suplemento de Calcio ^{68,77}. En el primero se observó que la administración durante 4 años de fluoruro + el suplemento tuvo poco o ningún efecto terapéutico en contra de la osteoporosis, causando a veces efectos colaterales como: náusea, vómito y dolores ⁷⁷. En éste estudio encontraron que la administración de Calcio sin fluoruro redujo el índice de fracturas óseas a la mitad y cuando se combinó con fluoruro, éste índice cayó hasta el 10%.

En el segundo estudio se observó un incremento en la densidad ósea, disminuyendo el índice de fracturas en huesos de la columna, pero aumentando este índice en otros tipos de hueso ⁶⁸.

Además, algunas personas tuvieron efectos colaterales teniendo que reducir la dosis de fluoruro ⁶⁸. Los investigadores de éste estudio concluyeron que no podían apoyar el uso clínico de la combinación de F⁻ con Ca⁺ para el tratamiento contra la Osteoporosis, y que éste tratamiento debe ser investigado más a fondo.

Sin embargo podemos mencionar también diversos estudios en donde no se encontraron diferencias significativas a causa de la exposición por flúor en el hueso ⁷⁸. En América, por ejemplo, un estudio en 1954 entre 2 poblaciones (Bartlett y Cameron, Texas) reveló que no existían diferencias significativas entre las 2 poblaciones con distintas concentraciones de flúor en el agua de beber (8 y 0.5 ppm respectivamente). Estudios en sangre, orina y Rx mostraron que aún después de 10 años no existieron cambios que concluyeran la acción del flúor en las poblaciones ⁷⁸.

En otro estudio en 1956 se examinaron a niños consumiendo 1.2 ppm de Flúor por 10 años. Radiografías de la mano derecha, rodillas y área lumbar fueron tomadas. No existieron diferencias significativas ⁷⁹.

En 1963 se examinaron histológicamente las costillas de individuos que vivían en áreas donde el agua potable contenía 0.5, 0.8 y 1.9 ppm.

No se registraron diferencias en cuanto a la resorción del trabeculado, ni del hueso compacto entre los 3 grupos ⁸⁰.

1.5 MINERALIZACIÓN

La mineralización biológica puede definirse como un proceso durante el cual ciertos tejidos acumulan grandes cantidades de minerales y forman cristales complejos, lo que hace que tales tejidos (dientes y huesos) adquieran rigidez.

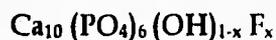
Todos los tejidos contienen minerales, pero existen 2 diferencias importantes entre los tejidos blandos y duros:

- 1) cantidad y clase de minerales
- 2) su disposición espacial

No sólo la cantidad sino también la forma de los minerales es diferente en ambos tipos de tejidos. En los tejidos blandos, los minerales están dispuestos en forma iónica y aleatoria en los líquidos del cuerpo además de las fases orgánicas. Sin embargo, en los tejidos duros, los minerales forman modelos cristalinos que, como ocurre en dientes y huesos, se caracterizan en apatitos. La palabra apatito, derivada del griego *apato* (engañar) se dió erróneamente a ciertos minerales que se pensó eran piedras preciosas ^{81,82}. La calcificación del hueso en formación, exige que se depositen sales cálcicas en la matriz neoformada. Estas sales deben obtenerse del líquido tisular que baña a la matriz orgánica del hueso, que a su vez proviene de la sangre circulante ^{81,82}.

El fluoruro tiene una fuerte afinidad por el apatito, esto es por su tamaño iónico y su carga electronegativa. Cuando el flúor se incorpora al trabeculado de los cristales, los iones de flúor reemplazan a los iones hidroxilo (OH). Esto resulta en una estructura más estable que la hidroxiapatita (HA), llamada fluorapatita (FA), porque su unión a los iones de Calcio adyacentes es más fuerte y forman una estructura cristalina más compacta, además la FA tiene significativamente menos solubilidad que la HA ⁸³.

Por otra parte, debido a la similaridad de las estructuras de la FA y la HA, continuos cambios con series de sólidos, teniendo características específicas, son llevados a cabo en los cristales. Estos sólidos llamados fluorohidroxiapatita (FHA), tienen la siguiente fórmula:



donde "x" es el grado de fluoración, que varía de 0 (HA) a 1 (FA). Datos nos indican que la solubilidad del FHA es menor que la HA en todos los niveles de fluoración y es menor aún que la FA para niveles arriba del 24%, alcanzando un nivel mínimo de 60% de fluoración. La estabilidad incrementada se explica por la unión de los iones OH⁻ y F⁻. De cualquier manera, a pesar de la baja solubilidad termodinámica del cristal, la FHA con alto contenido de fluoruro reemplaza las propiedades de la FA por la formación de la estructura sólida en la superficie ⁸³. El índice de disolución del mineral es directamente dependiente de los cristales.

Se ha visto que el índice de disolución del cristal puede ser disminuído por el fluoruro, aún cuando no exista una reducción en la solubilidad de la masa mineral.

Existen 2 tipos de adhesión de fluoruro:

- En la adhesión no-específica, los iones de flúor son absorbidos en la superficie del cristal sin reaccionar químicamente con él.
- En la adhesión específica, se observa el intercambio de iones, por lo que los iones se incorporan a la superficie del cristal.

El fluoruro no-específico posiblemente inhibe la disolución restringiendo la difusión de los iones del sólido hacia la solución y esto se ha propuesto como un mecanismo exclusivo. De cualquier manera existe evidencia de que los iones de F⁻ reaccionan con los cristales de la superficie por medio del intercambio con otros aniones, especialmente OH⁻.

La absorción del fluoruro con el subsecuente intercambio de iones, convierte en parte o totalmente la superficie del cristal en FA, mostrando una reducción en la solubilidad y un bajo índice de disolución en ambientes ácidos ⁸³.

1.6 TOXICOLOGIA

El primer caso de muerte reportado por envenenamiento dental fué descrito en 1976, en donde un niño de 3 años de edad falleció a causa de un tratamiento

profiláctico realizado por su dentista. Una combinación de pasta pomex y una solución de 4% (435 mg) de fluoruro de estaño fué suficiente para causar este efecto. Aparentemente el niño se tragó la solución y 5 minutos después vomitó cayendo en estado de Shock. El niño murió 3 hrs después⁸⁴.

Antes de esto, otro reporte nos dice que 1932 se describió una nueva enfermedad ocupacional llamada "osteoesclerosis" (dx radiográfico). Esto fué en trabajadores que manejaban minerales con alto contenido de aluminio-fluoruro en Copenhagen, Dinamarca⁸⁵. Algunos de los trabajadores sufrieron limitaciones en cuanto a la movilidad (en tórax y columna). Esta limitación a la larga se convirtió en un estado invalidante (fluorosis de tipo invalidante).

Sabemos actualmente que la exposición crónica diaria de fluoruro conteniendo de 100-200 mg causa anormalidades bien conocidas, especialmente en tejidos óseos, que se desarrollan lentamente dependiendo de la cantidad de fluoruro ingerido y del tiempo de exposición⁴¹.

1.7 EFECTOS TÓXICOS DEL FLUORURO

Los cambios tempranos detectables en el trabeculado del ser humano, a causa del Flúor, aparecen después de que el contenido de fluoruro en el hueso excede los 5000-6000 ppm, esto es mucho más que las 1000 ppm o menos que un individuo de 30 años sano no expuesto al flúor, tiene en su organismo³⁹.

En éste estudio se describieron 3 fases basándose en evidencia radiográfica del incremento en la mineralización ³⁸:

Fase I	Trabeculado poco definido en vértebras lumbares y pelvis
Fase II	Densidad radiográfica incrementada, estructuras borrosas y contornos sin definición.
Fase III	Imágenes blanco-difusas, especialmente en la pelvis, vértebras y costillas; trabeculado fusionado, lámina cortical de huesos largos se encuentra gruesa y densa, cavidad medular disminuída.

Tabla 2.

Acompañando éstas fases, se encontró hueso en el endostio y periostio con calcificaciones irregulares, tejido osteoide y ligamentos calcificados (evidencia indiscutible de fluorosis)³⁸.

Posteriormente en otro estudio se le añadió la fase IV, caracterizada por parálisis y muerte. El esqueleto fué excesivamente hipercalcificado y los sujetos desarrollaron hueso nuevo perióstico de poca calidad; las piernas se arquearon y las superficies articulares eran irregulares y dolorosas. Exostosis aparecieron extendiéndose a músculos, tendones y ligamentos. La mineralización se incrementó hasta el punto que los huesos largos y cráneos pesaron de 1.5 a 2.5 más de lo normal. Las vértebras y el hueso sacro pesaron de 5 a 6 veces lo normal. El cuerpo además se volvió rígido ^{39,40}.

Efectos como los anteriores se han encontrado en diversos países como Dinamarca, Sudáfrica, China e India, en donde las poblaciones fueron expuestas a períodos prolongados de fluoruros ya sea en el agua, aire o minerales ⁴¹.

Un estudio en Estados Unidos describió que en animales que fueron dosificados crónicamente con fluór se observaron hueso osteoide, osteomalacia, aposición de hueso en la lámina perióstica cortical y calcificaciones en tendones ⁴².

Estudios en roedores a quienes se les administraron cantidades excesivas de 100 ppm de fluoruro durante 8 meses mostraron una inhibición en la formación de hueso y desarrollaron osteomalacia ⁸⁶.

1.8 MECANISMOS DE LOS EFECTOS TÓXICOS

Experimentos en ratas recibiendo 100 ppm de Fluór en el agua de beber nos muestran que los efectos de esta dosis tan alta consiste en 3 acciones directamente en las células del hueso:

El primer efecto es un incremento en la actividad y en el número de osteoblastos, secretando así matriz ósea. Esto va acompañado de un aumento en la fosfatasa alcalina en el plasma, probablemente derivada de los osteoblastos ²⁹. También se ha encontrado que el fluoruro incrementa la incorporación del 3 H timidina al DNA de los osteoblastos; esto en cultivos de células óseas de pollos (efecto específico en osteoblastos, no se ha encontrado en células hepáticas o renales). El mecanismo de ésta estimulación es incierta. De igual manera el fluoruro estimula algunas enzimas incluyendo la adenilciclase que ha sido reportada en huesos de conejos con altas dosis de fluoruro ⁸⁸.

El segundo efecto del fluoruro en el hueso es retardar la mineralización, por lo que existe un incremento de tejido osteoide, siendo el efecto neto, un incremento en el tejido óseo con una mayor cantidad de tejido osteoide (sin mineralizar) que en el hueso normal ⁸⁷. Esto probablemente sucede porque la composición de aminoácidos de la colágena fué alterada (la prolina se encontraba en mayor cantidad y la hidroxiprolina en menor cantidad de lo normal, indicando un defecto en la hidroxilación de la prolina) y el número de cruces entre las 3 cadenas fué menor. Otra explicación puede ser que los niveles de Calcio y Fósforo son demasiado bajos para mineralizarlo, pero los niveles en plasma de Calcio y Fósforo no sufrieron variación alguna en este estudio ³⁰.

El tercer efecto fué un incremento en la resorción de las superficies del endostio, dando como resultado una cavidad medular más amplia, pero de igual manera este efecto es menor que el incremento de tejido óseo en el periostio. Tal vez el fluoruro estimula a la glándula paratiroides causando un incremento en la resorción y un depósito de hueso compensatoria en otro lugar. De cualquier manera el estímulo para la secreción de hormona paratiroidea (PTH), es una caída en plasma de los niveles iónicos de Calcio, pero esto no ha sido encontrado ni aún en las fluorosis más severas en animales experimentales. Esto fué descartado por el descubrimiento de que la concentración de F⁻ en ratas consumiendo 90 ppm de Flúor fueron idénticos aún después de practicárseles una paratiroidectomía ³².

Otra explicación del incremento de masa ósea por el fluoruro puede ser que el hueso con fluoruro es menos soluble que el normal y esto altera el equilibrio entre el depósito y resorción de hueso, en favor del depósito, pero nuevamente fué descartada ya que experimentos "*In Vivo*" demostraron que el hueso fluorado cultivado con PTH tuvo la misma resorción que los controles ³⁹.

2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

Hoy en día, en el área odontológica, existen un sinúmero de estudios referentes a la fluorosis dental a nivel mundial ^{15,17-19,21,23,26,34,90,91}. Pero poca ha sido la importancia que se le ha dado al estudio de los efectos que el flúor provoca en la estructura ósea. Es decir, los efectos indeseables del flúor en el hueso no han sido totalmente comprendidos ni analizados.

3. JUSTIFICACION

Aunque en la población mexicana existe una prevalencia de caries ⁹²⁻¹⁰³, pocos médicos y odontólogos conocen ampliamente los efectos del flúor en el hueso en altas concentraciones, tanto en su aspecto clínico como en el histopatológico.

Con tal sentido, si ya se conocen los efectos terapéuticos del flúor, es necesario conocer también los efectos tóxicos de este elemento en el organismo.

4. OBJETIVO GENERAL

Conocer los efectos del flúor en diferentes concentraciones sobre el desarrollo y crecimiento en cráneos, mandíbulas y huesos largos de ratones CD-1.

4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Conocer las variaciones en cuanto al peso corporal de los ratones a causa de la administración de diferentes concentraciones de flúor (10,16,20 y 50 ppm).
- Evaluar los cambios a nivel estructural en: cráneos, mandíbulas y huesos largos de ratones hembras CD-1 previamente dosificadas con 50 ppm de flúor en el agua de beber.
- Realizar estudios morfométricos en cráneos y huesos largos de ratones CD-1 dosificados con 50 ppm de flúor.
- Evaluar las variaciones de peso en cráneos, mandíbulas y huesos largos de ratones CD-1 dosificados con 50 ppm de flúor.
- Determinar las alteraciones histológicas de cóndilos femorales a causa de la exposición de fluoruro con 50 ppm.
- Observar las variaciones de peso de órganos vitales a causa de la administración de flúor con 50 ppm en el agua de beber.

5. HIPÓTESIS

H.I. Sí, existe una acción directa del flúor sobre el crecimiento y desarrollo de los cráneos, mandíbulas y huesos largos de ratones jóvenes expuestos a diversas concentraciones de flúor.

6. METODOLOGÍA

6.1 MATERIALES Y MÉTODOS

Para el presente estudio se utilizaron 32 ratones hembra jóvenes de cepa CD1 tomados del Bioterio de la Unidad de Posgrado e Investigación de la F.O. de la U.N.A.M. Estos se separaron en grupos de 4 ratones en cada jaula. Teniendo como resultado 7 cajas experimentales (Ex 1, Ex 2, Ex 3, Ex 4, Ex 5, Ex 6, Ex7) y una caja control (Co 1). A las cajas experimentales se les administraron las siguientes concentraciones:

- Ex 1 10 ppm
- Ex 2 16 ppm
- Ex 3 20 ppm
- Ex 4 50 ppm
- Ex 5 50 ppm
- Ex 6 50 ppm
- Ex 7 50 ppm
- Co 1 sin fluoruro

A todas las cajas Ex se les dió agua con fluoruro para beber todo el experimento y llevaron una dieta de alimento para ratones de laboratorio comercial "*ad libitum*", excepto al grupo control que se le administró agua natural para beber.

Después de 5 semanas de administrar el fluoruro, exclusivamente en las cajas Ex 1, Ex 2, Ex 3 Ex 4 y Co 1 se registró el peso de cada ratón cada tercer día (este estudio demostró las alteraciones en el peso corporal de los ratones a causa de la dosificación con fluoruro en diversas concentraciones (10, 16, 20 y 50 ppm)). Después de 20 días de registro, todos los especímenes fueron sacrificados por decapitación. Los ratones de las 4 primeras cajas experimentales fueron desechados.

En las cajas experimentales restantes y control se realizaron los siguientes estudios:

6.1.1 ESTUDIOS MORFOMÉTRICOS

Los órganos vitales fueron disecados y pesados para observar alguna posible variación a causa de la exposición al flúor. Los cráneos y huesos largos fueron excisionados, disecados y etiquetados. A continuación se llevaron a cabo los estudios de peso y medición. Posteriormente para su conservación se mantuvieron en formalina al 10 %.

Los cráneos se pesaron y midieron en sentido sagital (nación-occipital) y en sentido transversal (distancia intercigomática) (Fig 5). Los huesos largos se midieron en sentido longitudinal (de epífisis proximal a epífisis distal) (Fig 6). Para esto los cráneos y huesos largos fueron colocados sobre una película para radiografías dentoalveolares Kodak (Eastman Kodak), para radiografías de contacto, obteniendo una visión transversal de los cráneos y una visión lateral de los huesos largos. Las radiografías fueron tomadas a 75 Kv, 2.5 mA, a una distancia de 10 cm, durante 26 milisegundos en un aparato de radiografías de contacto Fuji (Fuji Co.). Las medidas lineales de huesos largos y cráneos se realizaron sobre las radiografías y sobre hojas milimétricas. Estas medidas y ésta técnica nos permitió estimar cuantitativamente cambios estructurales y de dimensión.

6.1.2 ESTUDIOS FOTOGRÁFICOS

De los grupos experimentales y control, se realizaron en los huesos largos, cortes longitudinales tomando un segmento de la parte media del hueso fémur de cinco especímenes. Esto a una distancia de 5 mm ($L/2$) partiendo desde la epífisis distal (Fig 6). Esta distancia fué medida con un vernier de uso dental. Posteriormente éstos cortes se mantuvieron en una solución de formalina al 10% para su conservación. Al transcurrir 24 hrs. estos cortes fueron vistos al

microscopio estereoscópico y se tomaron fotografías de estos. Los cambios en la estructura ósea se registraron por medio de un programa de computo para mediciones (*Canvas*). Los resultados fueron evaluados por medio de la fórmula descrita por *Barnett y Nordin* ¹⁰⁴ y *Exton-Smith y cols.* ¹⁰⁵ para determinar los cambios en el grosor de las estructuras óseas de los mismos.

6.1.3 ESTUDIOS HISTOLÓGICOS

Los especímenes descritos anteriormente se utilizaron para realizar estudios de tipo histológico. Cortes transversales de los cóndilos femorales se realizaron a una distancia de 2 micras. Estos cortes fueron descalcificados y teñidos según la técnica de Masson para tejidos mineralizados. Posteriormente se llevaron al microscopio óptico para su observación y comparación. Esto nos ayudó a observar los cambios a causa del fluoruro en centros de crecimiento.

UNIVERSO

Ratones jóvenes (3 semanas de edad) de laboratorio pertenecientes al bioterio de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología.

Muestra

32 ratones de laboratorio CD-1.

Variable Dependiente

Crecimiento y desarrollo en: cráneos, huesos largos y órganos vitales de ratones CD-1.

Variable Independiente

Concentraciones de flúor de 10,16,20,50 ppm.

Variables (escala de medición)

- Peso de órganos- El peso se registró en gramos de los grupos experimentales y control (corazón, hígado, pulmones, riñones, glándulas submaxilares, páncreas y ojos).
- Peso y medición de cráneos- El peso se registró en gramos, las mediciones se llevaron a cabo tomando las siguientes puntos como referencia: nasión-occipital, distancia intercigomática.

- **Peso y medición de huesos largos-** El peso se registró en gramos, las mediciones se llevaron a cabo en sentido longitudinal tomando los siguientes puntos como referencia: epífisis a epífisis de extremidades anteriores y posteriores.
- **Peso de mandíbulas-** El peso se registró en gramos (no se realizaron mediciones de ningún tipo).
- **Peso corporal de animales-** El peso corporal se registró en gramos cada tercer día después de 5 semanas de administración.
- **Estudios fotográficos-** Se registraron los diámetros intermedulares de huesos largos y mandíbulas en mm en grupos experimentales y control.
- **Pruebas de tipo estadístico-** A todos los resultados obtenidos se les aplicó la prueba de *Smirnov's*¹⁰⁶. Esto para obtener las diferencias significativas entre las variables.

Nota: El peso se registró en una báscula para laboratorio digital de marca ONKYO, las mediciones se registraron por medio de un vernier plástico de uso dental.

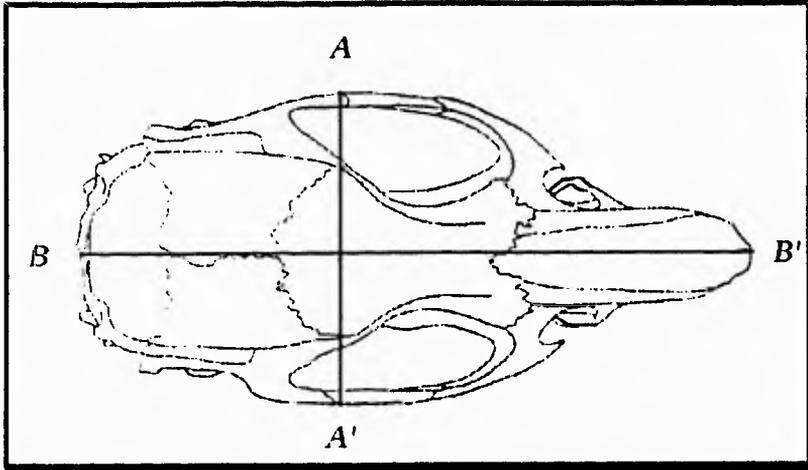


Figura 5.

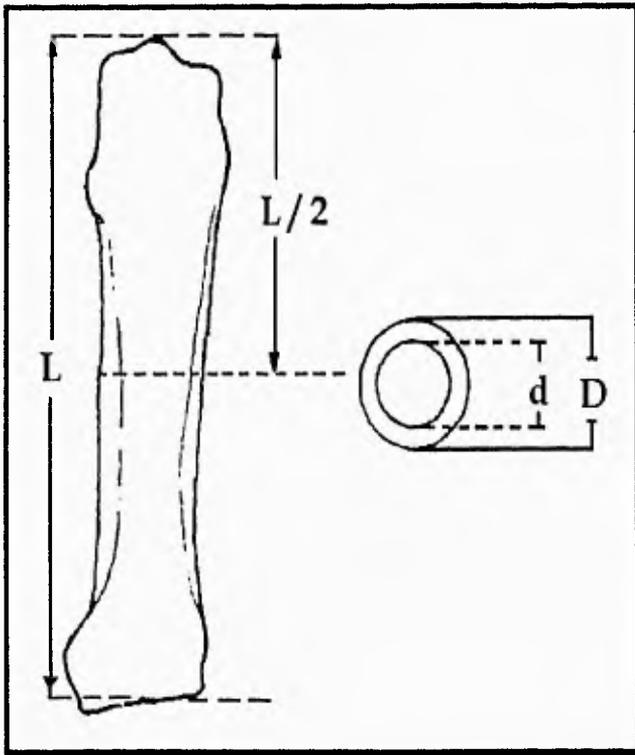


Figura 6.

Esquema de Mediciones
en Cráneo y Huesos
Largos.

Dibujos tomados de:
-Wenzel A, Kragstrup J
& Richards A. (1984)
-Hernández-Guerrero
JC. (1989)

7. RESULTADOS

Al final del estudio, no se registraron muertes de los especímenes a causa de la exposición por fluoruro. De igual manera no se observaron neoplasias de ningún tipo. El peso corporal de los animales dosificados con flúor a diferentes concentraciones se encuentra registrado en la figura 8. Todos los grupos experimentales mostraron diferencias significativas debido a la administración del fluoruro. El registro de los pesos netos de órganos vitales de los grupos dosificados con fluoruro y sin fluoruro se encuentra registrado en la tabla 3 y figura 7. Se observó que los órganos expuestos a concentraciones de fluoruro de 50 ppm, registraron casi en su totalidad un menor peso corporal, el páncreas fue la excepción. Únicamente los riñones obtuvieron diferencias significativas de $P < 0.0003$.

Tabla 3. Peso de Órganos.

	Experimental \bar{X}	Control \bar{X}
Corazón	0.17	0.19
Glándulas	0.22	0.23
Hígado	1.95	2.06
Ojos	0.05	0.05
Páncreas	0.14	0.12
Pulmones	0.21	0.22
Riñones *	0.44	0.66

* $P < 0.0003$

Peso de Órganos de grupos Experimentales y Control.

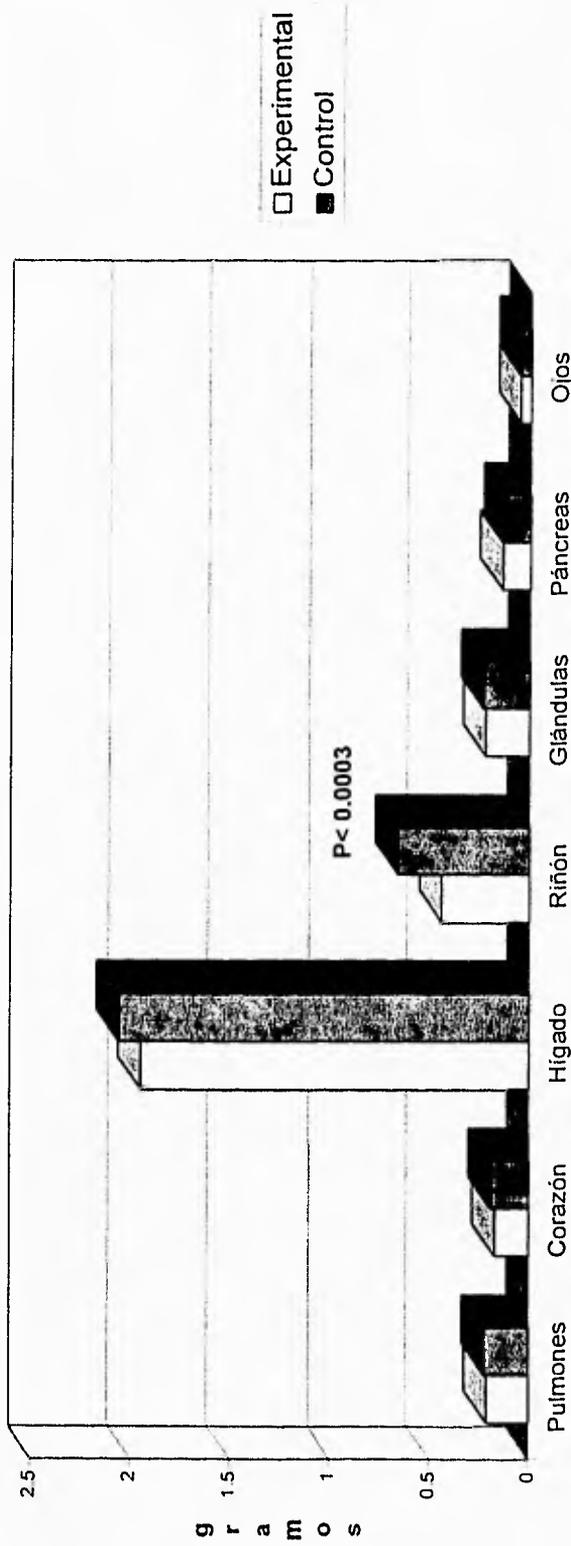


Figura 7.

Como era de esperarse, los tejidos óseos que fueron dosificados con fluoruro (cráneo y huesos largos), obtuvieron pesos corporales mayores que los controles (*tabla 4 y fig. 9*). Los cráneos obtuvieron diferencias de $P < 0.007$. Las mandíbulas experimentales, quienes a pesar de obtener pesos corporales menores a los controles, registraron diferencias significativas de $P < 0.06$.

Las mediciones de tipo lineal realizadas en los cráneos y huesos largos, mostraron que la mayoría de las estructuras con tratamiento a base de fluoruro obtuvieron diferencias significativas (*tabla 5, fig 10 y 11*).

Tabla 4. Peso de Tejidos Óseos.

	Experimental \bar{X}	Control \bar{X}
Cráneo	0.72 *	0.63
Mandíbula	0.12 **	0.14
Huesos Largos	0.93	0.86

* $P < 0.007$

** $P < 0.06$

Las mediciones longitudinales llevadas a cabo en cráneos dosificados con fluoruro registraron una diferencia significativa de $P < 0.001$. Los huesos largos experimentales registraron diferencias en: Radio ($P < 0.05$), Fémur ($P < 0.0003$) y Tibia ($P < 0.00001$). Notemos entonces que los medidas de las extremidades

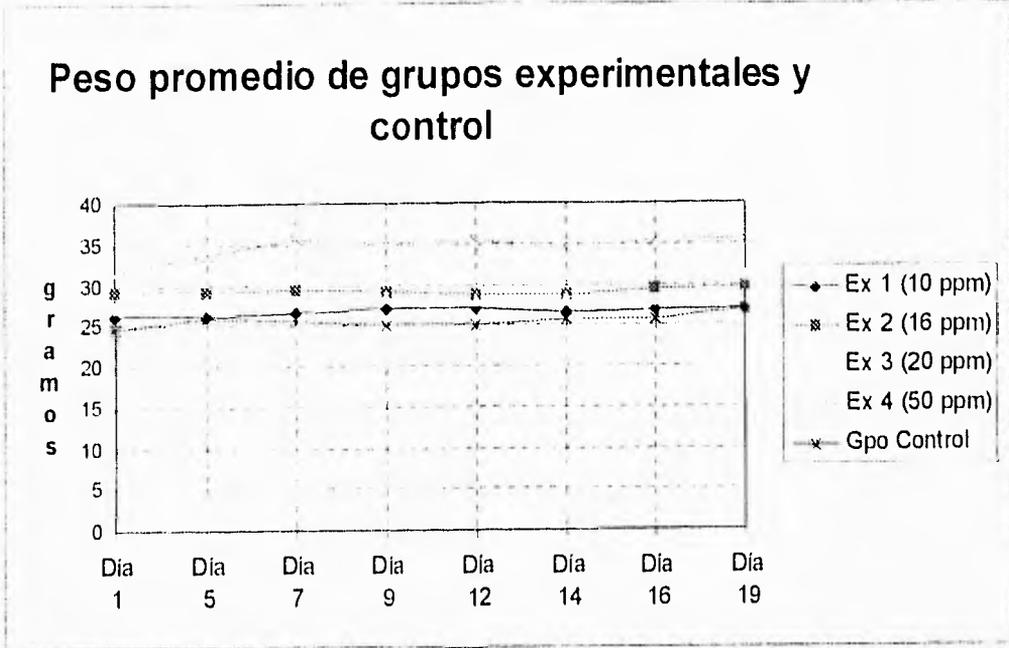


Figura 8.

10 ppm - $P < 0.0002$

20 ppm - $P < 1.3231e-07$

16 ppm - $P < 1.3231e-07$

50 ppm - $P < 7.7132e-12$

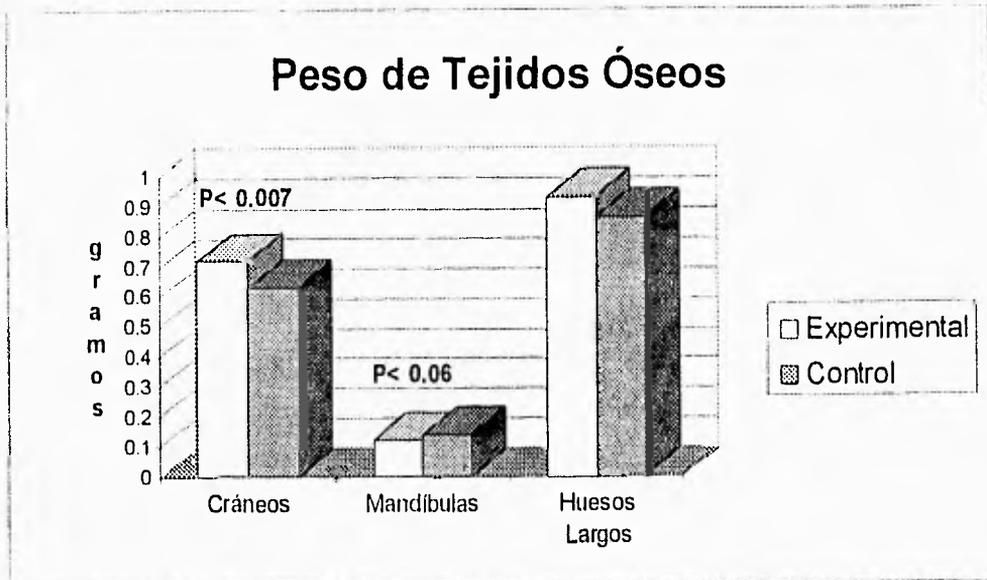


Figura 9.

delanteras experimentales fueron de mayor longitud que las extremidades traseras y sólo el Radio obtuvo diferencias significativas (fig 11).

En cuanto a las pruebas de tipo histológico, los ratones que recibieron en el agua de beber concentraciones de 50 ppm, mostraron en los cortes, grupos de células mesenquimatosas diferenciadas (condrocitos) organizadas en forma de matriz con espacios libres. Esto nos evidencia una ausencia notable de mineral, es decir, tejido hipocalcificado dentro de los centros de crecimiento del cóndilo. (fig 16 y 17)

Tabla 5. Medición Lineal de Cráneos y Huesos Largos

		Experimental \bar{X}	Control X
Cráneos	Longitudinal	23.42 *	26
	Transversal	12.72	13
Huesos Largos	Húmero	13.75	13.12
	Radio	16.25 **	15.62
	Fémur	15.62 ***	16.5
	Tibia	19.75 ****	22

* P<0.001 ** P<0.05 *** P<0.0003 ****P<0.00001.

De igual manera ésta concentración de 50 ppm, produjo cambios en el espesor de las láminas corticales del fémur. Estos cambios se muestran en la tabla 6. Los grosores de las corticales con fluoruro resultaron significativamente de

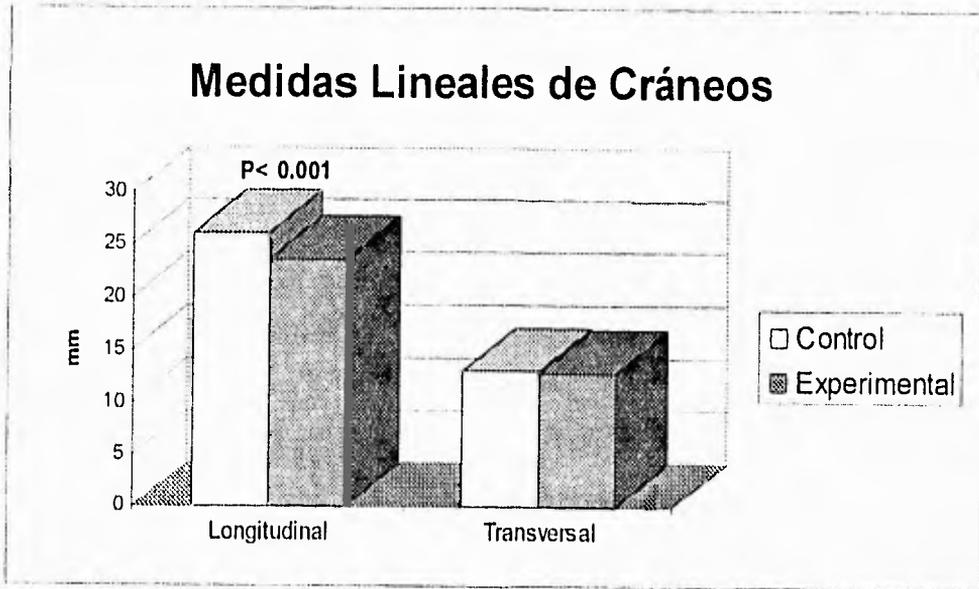


Figura 10.

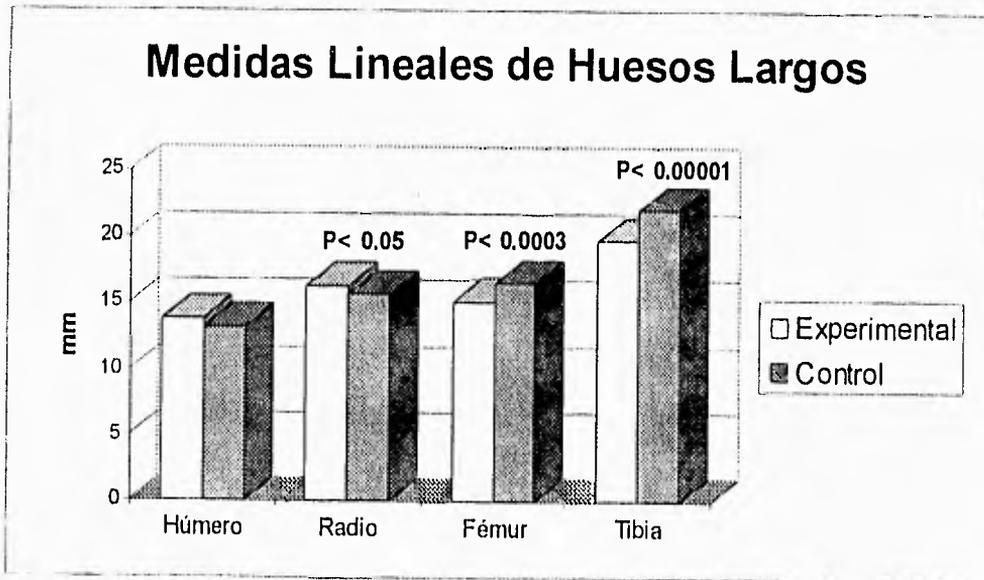


Figura 11.

menor espesor que las corticales sin exposición al fluoruro ($P < 0.06$). Esta diferencia fué posiblemente a causa de la cantidad de resorción que existió dentro de la cavidad medular, y a la mayor aposición perióstica en el hueso, alterando el equilibrio entre la resorción y la aposición en favor de la resorción, resultando en una superficie ósea de mayor diámetro pero de menor espesor en los huesos experimentales (figs. 12, 13, 14, 15).

Tabla 6. Relación de Espesores Corticales en el Fémur.

	L	D	d	$\frac{D-d}{L} \%$	$\frac{D^2-d^2}{D-L}$
<i>Experimental</i>					
Exp 1	15.5	7.161	5.009	30.0	0.235
Exp 2	16	6.773	4.992	26.2	0.193
Exp 3	15.5	6.826	5.151	24.5	0.189
Exp 4	16	6.033	4.475	25.8	0.169
\bar{X}	15.75	6.698 *	4.906 *	26.6	0.196
χ	16.6	5.350	3.486	34.7	0.187
<i>Control</i>					
Con 1	16	5.221	3.140	39.8	0.208
Con 2	16	5.468	3.545	35.0	0.198
Con 3	16.5	5.362	3.775	29.5	0.187

* $P < 0.06$

Longitud (L), Diámetro óseo (D), Diámetro medular (d) y Espesor cortical ($\frac{D-d}{D}$ %) y ($\frac{D^2-d^2}{DL}$).

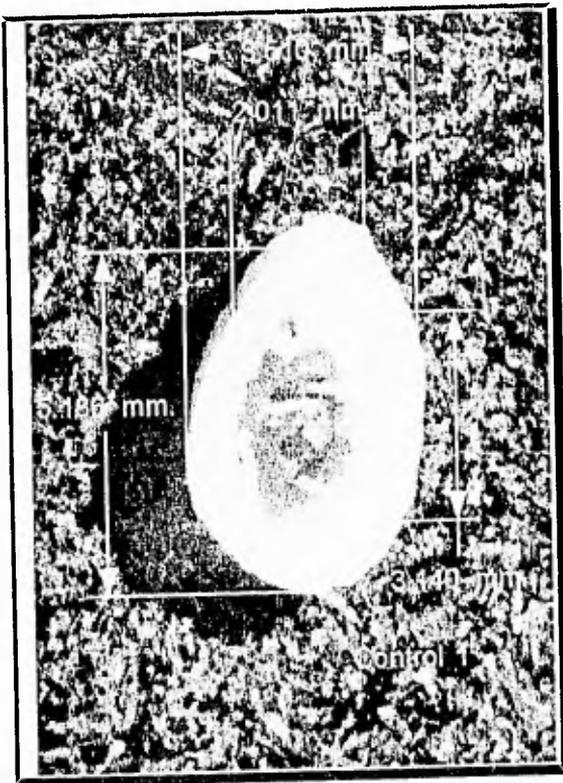


Figura 12

Relación de Espesores Corticales en el Fémur. Grupo Control.

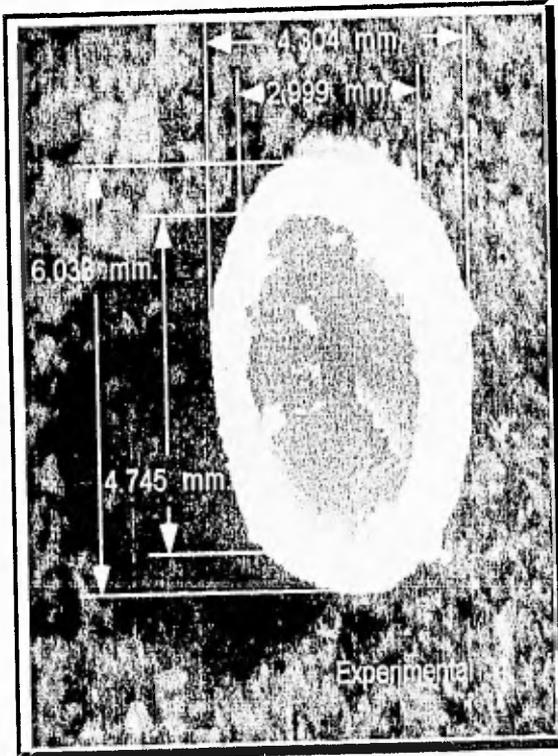


Figura 13

Relación de Espesores Corticales en el Fémur. Grupo Experimental.

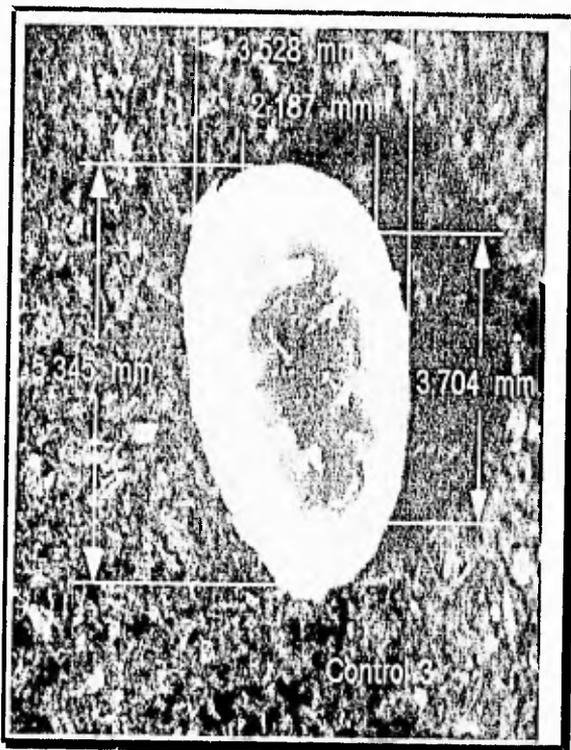


Figura 14

Relación de Espesores Corticales en el Fémur. Grupo Control.

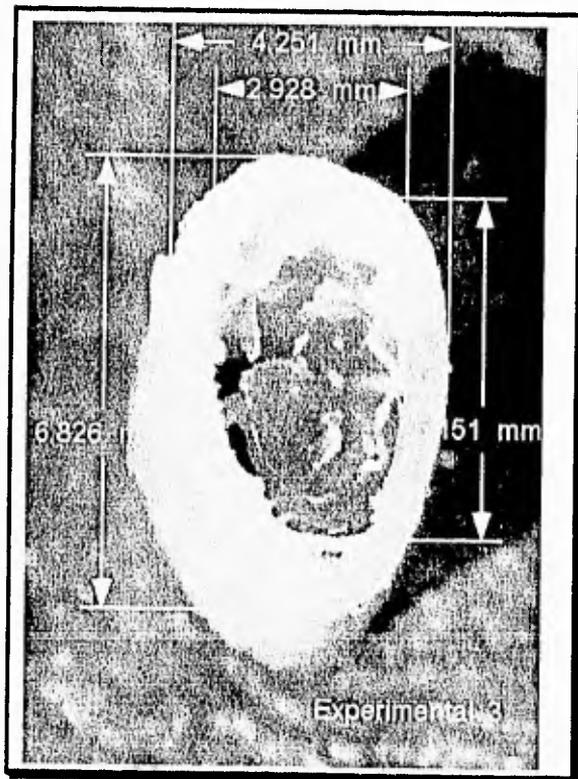


Figura 15

Relación de Espesores Corticales en el Fémur. Grupo Experimental.

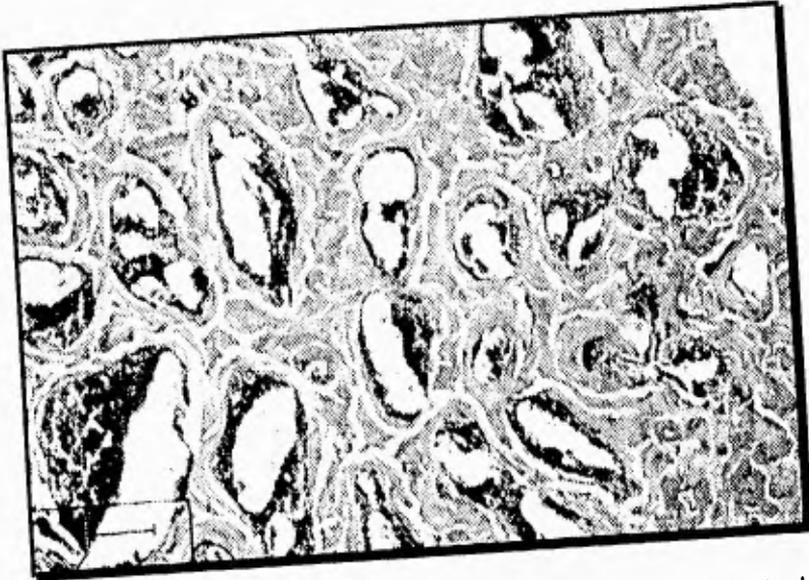


Figura 16. Grupo Control. Corte Histológico de la zona del cóndilo. No se observa ninguna alteración en la actividad celular del Hueso.

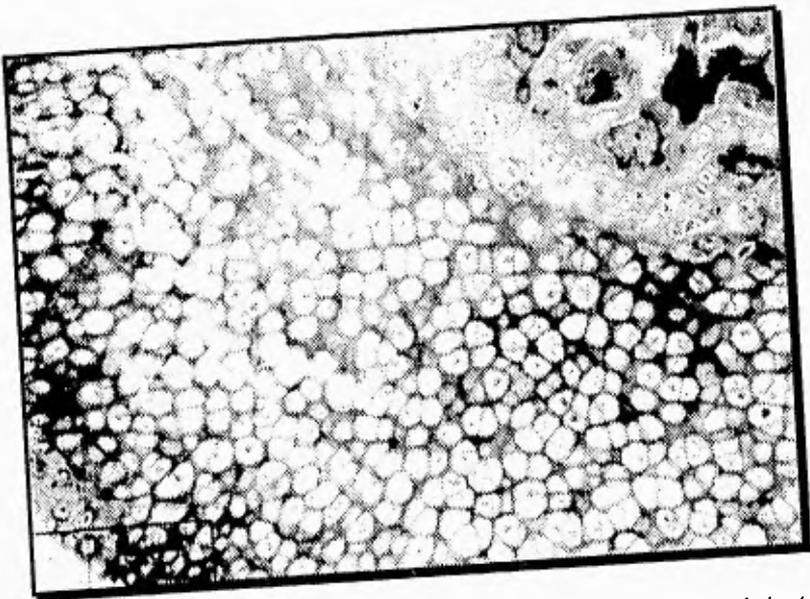


Figura 17. Grupo Experimental. Corte Histológico de la zona del cóndilo. Se observa una matriz de cartilago con poca o ninguna actividad osteoblástica.

8. DISCUSIÓN

Es probable que el tratamiento a base de fluoruro, en roedores expuestos a altas concentraciones, induzca alteraciones en el crecimiento y peso de los tejidos óseos de éstos.

Wolinski y cols. en 1972 ¹⁰⁷ observaron que la administración de 200 ppm en el agua de beber a ratas (*Wistar*) por un período de 2 semanas resultó en una notable disminución del peso corporal y una disminución en longitud del 10 % en el fémur de dichas ratas.

En otro estudio realizado, Penton (1968) ¹⁰⁸ observó las mismas disminuciones de peso en los animales, con la diferencia de que el fluoruro fué administrado durante 19 días en una concentración de 0.1 ml/10 mg de NaF por vía intraperitoneal.

Sin embargo Zipkin y cols. (1963) ¹⁰⁹ observaron que la administración de flúor a concentraciones de 10, 50 y 100 ppm durante 2 semanas daban como resultado un incremento del peso corporal de los huesos largos en los animales. Esto en ratas jóvenes (*Sprague-Dawley*) dosificadas en el agua de beber. De cualquier manera estos aumentos de peso no tuvieron diferencias significativas.

En adición a esto Wenzel en 1984 ¹¹⁰ realizó un estudio en donde observó que los animales (cerdos) aumentaban su peso a causa de la administración de fluoruro (2 mg F/kg) durante 6 meses. Al igual que los resultados de Zipkin y cols. no se registraron diferencias significativas entre los grupos experimentales y controles.

Nuestros resultados son similares a los encontrados por Zipkin y cols. (1963) y Wenzel (1984). En los 3 estudios el peso corporal de los animales se vió afectado produciendo un aumento de peso en los grupos experimentales. Podemos pensar que éstas variaciones de peso se debieron a los incrementos que existieron en las estructuras óseas, ya que estos muestran un aumento de peso considerable en cráneo y huesos largos y al mismo tiempo una disminución en las medidas lineales (tibia, fémur y cráneo). Además los pesos de órganos vitales no mostraron variaciones significativas de peso ni tamaño, descartando la posibilidad de calcificaciones ectópicas ²⁶.

Debemos hacer notar que todos los estudios anteriormente mencionados tienen una característica en común: todos ellos reportaron que el fluoruro estaba relacionado, de una u otra manera, en los procesos de mineralización de las estructuras óseas de los animales. Más aún, podemos observar que los efectos o resultados obtenidos en estos estudios estaban directamente en proporción con la dosis y cantidad administrada a dichos especímenes. Esto nos hace pensar que el efecto del flúor está directamente relacionado con los procesos de calcificación y

osificación en el organismo, afectando los pesos y el crecimiento de las estructuras óseas, y por consecuencia los pesos corporales de los animales en el experimento.

Como mencionamos anteriormente, en la actualidad se utilizan dosis terapéuticas de 1 ppm de fluoruro para la prevención de la caries dental en los humanos ¹¹¹, sin embargo en los tejidos óseos no se han podido definir parámetros terapéuticos exactos en cuanto a dosis-efecto en el organismo. Se observan datos en la literatura, en donde personas consumiendo grandes cantidades de fluoruro en el agua o en el ambiente, incrementaron su mineralización al punto en que sus huesos largos y cráneos fueron de 1.5 a 2.5 veces más pesados de lo normal ³⁹.

Por otra parte en este estudio observamos que el fluoruro administrado a 50 ppm inhibe la calcificación en la zona del cóndilo del fémur, uno de los principales centros de crecimiento en el hueso. Esta inhibición parece ser la causa probable del bajo crecimiento en estructuras óseas en animales tratados con fluoruro.

Estos resultados son similares con los encontrados nuevamente por Penton en su estudio de 1968 ¹⁰⁸ quién revisó los cartílagos costales de ratas jóvenes (*Sprague-Dawley*). Penton no encontró evidencia de calcificación alguna. Ni tampoco evidencia de que estos resultados hayan sido obtenidos por otra causa. Por lo que él concluye que la calcificación de los cartílagos costales se inhibió por la administración de fluoruro.

Tratando de explicar esto, se ha dicho que los posibles efectos del flúor dependen de la dosis ingerida y del tiempo de ingestión de éste elemento. Varios

estudios en ratas tienen evidencia de que el fluoruro produce alteraciones en la homeostasis del Calcio en el plasma ^{34,112-114}. Parece ser que el fluoruro produce grandes reducciones de éste elemento en el organismo después de haber sido administrado varias veces.

Además Bayless en 1985 ¹¹⁵ afirmó que una consecuencia seria de administrar grandes dosis de fluoruro es, que éste puede causar hipocalcemia, esto por la gran afinidad del fluoruro a los cationes del plasma.

Otra posible explicación es que en algunos estudios hechos en ratas se ha observado que existe gran cantidad de lípidos en zonas de intensa calcificación ¹¹⁶⁻¹¹⁸. Estos autores han postulado un mecanismo de calcificación en donde los lípidos actúan como un vehículo para el calcio. Ellos sugieren que el Flúor puede interferir con éste proceso, compitiendo por los lugares de adhesión de los lípidos.

Estas explicaciones parecen ser las más viables ya que hemos descartado los factores hormonales, en donde existen pruebas concluyentes de que la calcificación en presencia del flúor no es afectada ^{32,119}. De cualquier manera el mecanismo por el cual actúa el flúor en el proceso de calcificación no ha sido completamente entendido.

Por otro lado, algunos autores han asegurado que los cambios esqueléticos en humanos a causa de la exposición del fluoruro, únicamente son evidentes cuando la concentración de flúor es del orden de 5000-6000 ppm ^{38,41,120}.

Estas observaciones se hicieron por primera vez en 1937 por el Dr. Roholm quién observó alteraciones en las estructuras óseas de trabajadores que manejaban minerales con alto contenido de flúor.

En un estudio más reciente Wenzel y cols. (1984) ¹¹⁰ encontraron efectos a causa del flúor, en huesos largos de cerdos con concentraciones de flúor por debajo de las 2000 ppm. Esto nos evidencia que es posible que se produzcan cambios en las estructuras óseas aún con concentraciones más bajas que las anteriormente documentadas. Además existen diversos estudios que involucran los cambios lineales o estructurales producidos en huesos largos a causa de la exposición por flúor. Como se mencionó anteriormente, Roholm ³⁸ observó alteraciones en las estructuras óseas de huesos largos en trabajadores expuestos durante 6 meses a concentraciones de fluoruro mayores de lo normal (20-80 mg/F diariamente).

En adición a esto Czerwinski en 1978 ¹²¹ al igual que Roholm observó también que los trabajadores de aluminio expuestos a fluoruro atmosférico durante 18 años, aumentaron el grosor cortical en sus huesos largos. Sin embargo Spenser y cols. (1971) ¹²² no observaron diferencias significativas en los grosores de corticales (cúbito y radio) de cerdos dosificados con 1 mg de F/Kg durante 2 años.

En nuestros resultados se observa una disminución notable del grosor de las corticales en el fémur, esto en concentraciones de 50 ppm, que es una dosis mucho menor que la administrada por Wenzel en animales para producir cambios

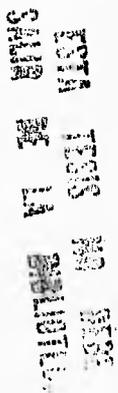
en las corticales de huesos largos ¹¹⁰. Nuestros resultados se asemejan con los encontrados por Liu y Baylink (1977) ³² en donde ratas de cepa "*Sprague-Dawley*" se les administró 90 ppm de Flúor en el agua de beber. En éste estudio se observó que el índice de formación de hueso en el periostio aumentó un 8 % más que el grupo control. Además de esto, en la cavidad medular, la formación de hueso se vió disminuída un 43 %. Más aún, el área de ésta cavidad se incrementó significativamente haciendo la cavidad medular más grande.

Podemos suponer entonces que el diámetro del hueso aumentó gracias a la aposición de hueso en el periostio. Esto hace a los resultados de Liu y Baylink y los nuestros muy semejantes, es decir, diámetro incrementado y cavidad medular más amplia. De cualquier manera es necesario mencionar que en ese estudio no se realizaron éstas observaciones.

Mamelle y cols. (1988) ³⁷, bajo condiciones de práctica médica ordinaria, observaron que una administración de 50 mg de NaF durante 2 años en pacientes que sufrían de osteoporosis, el fluoruro causó en éstos un incremento de la densidad ósea en la zona de la columna, pero disminución de las láminas corticales en otras partes del cuerpo.

Rüeggsegger en 1985 ¹²³ y Riggs en 1990 ⁶⁸, al igual que Mamelle y cols., encontraron una pérdida considerable de hueso cortical (4%) en pacientes con osteoporosis tratados con fluoruro de sodio. Estos resultados fueron obtenidos por medio de tomografías computarizadas.

Todos estos resultados sugieren que la terapia con fluoruro causa una posible redistribución del hueso en la zona cortical a la zona trabecular. Por lo que, al no haber suficiente calcio en el plasma para mineralizar la nueva matriz formada en el hueso trabecular, el mineral en la zona cortical es removido. De cualquier manera éste proceso no ha sido comprobado todavía por lo que aún quedan muchas dudas en cuanto a la utilización del flúor en estructuras óseas.



CONCLUSIÓN

Durante 50 años el fluoruro ha sido la sustancia más utilizada y efectiva para la prevención y el tratamiento de la caries dental en todo el mundo. Sin embargo recientes estudios han demostrado que la incidencia de fluorosis esquelética ha aumentado durante la década pasada. Pocos han sido los estudios acerca de los efectos del flúor en los tejidos óseos durante los últimos años.

En éste estudio observamos que el flúor en concentraciones de 50 ppm afecta directamente los procesos de mineralización y desarrollo de los tejidos óseos de ratones CD-1. Provocando un adelgazamiento de las corticales de los huesos largos y una notable ausencia de mineral en los centros de crecimiento del cóndilo. Siendo ésta, posiblemente la causa principal del bajo crecimiento de las estructuras óseas en los animales.

Sin embargo no ha sido posible determinar la dosis mínima capaz de producir efectos significativos en el tejido óseo, aún cuando observamos efectos con dosis menores que las documentadas anteriormente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.-SMITH GE. Fluoride and fluoridation. *Soc Sci Med* 1988;26(4):451-62.
- 2.-THYLSTRUP A. Clinical evidence of the role of pre-eruptive fluoride in caries prevention. *J Dent Res* 1990 (Spec Iss):742-750.
- 3.-BIRKELAND JM, BROCH L & JORKJEND L. Benefits and prognoses following 10 years of a fluoride mouth rinsing program. *Scand. J Dent Res* 1977;85:31-37.
- 4.-THYLSTRUP A, BILLIE L & BRUUN C. Caries prevalence in Danish children living in areas with low and optimal levels of natural water fluoride. *Caries Res* 1982;16:413-20.
- 5.-DRISCOLL WS, SWANGO PA, HOROWITZ AM AND KINGMAN A. Caries preventive effect of daily and weekly fluoride mouth rinsing in a fluoridated community findings after 30 months. *J Am Dent Assoc* 1982;105:1010-3.
- 6.-BRUNELLE JA & CARLOS JP. Changes in the prevalence of Dental Caries in U.S. Schoolchildren, 1961-1980. *J Dent Res* 1982;61(Spec Iss):1346-51.
- 7.-BILLIE J, HESSELGREN K & THYLSTRUP A. Dental Caries in Danish 7, 11 and 13 years old children in 1963, 1972 and 1981. *Caries Res* 1986;20:534-42.
- 8.-HODGE HC. The safety of fluoride tablets or drops In: Continuing evaluation of the uses of fluorides. E Johnsen, DR Taves and TO Olsen. Eds. *Bolden CO: West View Press* 253-6. 1979.
- 9.-HODGE HC & SMITH FA. Fluoride Toxicology. In: *Fluorides and Dental Caries*, E Newbrun De. *Springfield ILCC. Thomas* 1986:204-8.
- 10.-NEWBRUN E. Topical Fluoride Therapy. *J Dent Res* 1987;66:1084-6.
- 11.-BAKER DO, KUNZEL N & CARLOS JP. Caries preventive water fluoridation. *Caries Res* 1978;12 (Suppl 1):7-14.
- 12.-BINDER K, DRISCOLL WS & SCHUTZMANNISKY G. Caries preventive fluoride tablet program. *Caries Res* 1978;12(Suppl 1):22-30.
- 13.-BRUDEVOLD F & NAVJOKS R. Caries-Preventive fluoride treatment of the individual. *Caries Res* 1978;12 (Suppl 1):52-64.

- 14.-VON DER FEHR FR & MÖLLER IJ. Caries-Preventive fluoride dentifrices. *Caries Res* 1978;12 (Suppl 1):31-7.
- 15.-MANN J, TIBI M & SGAN-COHEN HD. Fluorosis and Caries prevalence in a community drinking above-optimal fluoridated water. *Comm Dent Oral Epid* 1987;15(5):293-5.
- 16.-RIPA LW. Topical fluorides: a discussion of risks and benefits. *J Dent Res* 1988;66(5):1079-83.
- 17.-SZPUNAR SM & BURT BA. Dental caries, fluorosis and fluoride exposure in Michigan schoolchildren. *J Dent Res* 1988;67(5):802-6.
- 18.-BRUNS BR & TYLLE T. Skeletal fluorosis. A report of 2 cases. *Orthopedics* 1988;11(7):1083-7.
- 19.-WOOLFOLK MW, FAJA BN & BAGLAMAN RA. Relation of sources of sistemic fluoride to prevalence of dental fluorosis. *J Publ Health Dent* 1989;49(2):78-82.
- 20.-RIORDAN PJ. Guidelines for the use of dietary fluoride supplements in Australia. *Aust Dent J* 1989;34(4):359-62.
- 21.-DAJEAN S & MENANTEU J. A western blotting study of enamel glycoproteins in rat experimental fluorosis. *Arch Oral Biol* 1989;34(6):413-8.
- 22.-WOLTGENS JH, ETTY EJ AND NIEUWLAND WM. Fluoride and mottled enamel. *Ned Tijdschr J* 1989;96(1):29-33.
- 23.-PENDRYS DG. The fluorosis risk index: a method for investigating risk factor. *J Publ Health Dent* 1990;50(5):291-8.
- 24.-LITOVITS TI & VELTRI JC. 1984 Annual report of the American Association of Poison Control Centers National Data Collection System. *Am J Emerg Med* 1985;3:423-50.
- 25.-LITOVITS TI, NORMAN SA & VELTRI JC. 1985 Annual report of the American Association of Poison Control Centers National Data Collection System. *Am J Emerg Med* 1986.
- 26.-WHITFORD GM. The physiological and toxicological characteristics of fluoride. *J Dent Res* 1990;69(Spec Iss):539-49.

- 27.-NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM. Toxicology and Carcinogenesis studies of Sodium Fluoride (Cas No. 7681-49-4) in F344/N Rats and B6C3F₁ Mice. Technical Report 363. 1990.
- 28.-NATIONAL INSTITUTE OF DENTAL RESEARCH. Long-Range Research Plan for the Nineties. *NIH Publications* 1990:21-7.
- 29.-BAYLINK DJ, WERGEDAL J & STAUFFER M. Effects of fluoride on bone formation, mineralization and resorption in the rat. In: Fluoride in Medicine (Ed. TK Vischer) Huber Berne 1970:37-69.
- 30.-WEATHERELL JA AND WEIDMANN SM. The skeletal changes of chronic experimental fluorosis. *J Pathol Bacteriol* 1959;78:233-41.
- 31.-SUSHEELA AJ & WEIDMANN SM. Certain facets of fluoride action on collagen protein in thyroparathyroidectomized rats. *J Dent Res* 1982;56:304-11.
- 32.-LIU CC AND BAYLINK DJ. Stimulation of bone formation and bone resorption by fluoride in thyroparathyroidectomized rats. *J Dent Res* 1977;56:304-11.
- 33.-KRISHNAMACHARI KA. Skeletal fluorosis in humans: a review of recent progress in the understanding of the disease. *Prog Food Nutr Sci* 1986;10(3-4):279-314.
- 34.-RICHARDS A. Nature and mechanisms of dental fluorosis in animals. *J Dent Res* 1990;69(Spec Iss):401-5.
- 35.-MAIWALD HJ, GOTTWALD E & FISCHERS. Long-Term use of fluoride lacquer in preventive care of schoolchildren in area of basic care. *Oral Prophylaxe* 1989;11(4):132-6.
- 36.-KROOK L & MAYLIN GA. Industrial fluoride pollution. Chronic fluoride poisoning in Cornwall Island Cattle. *Cornell-Vet* 1979;69(8):1-70.
- 37.-MAMELE W, DUSAN R & MARTIN LJ. Risk and benefits ratio of sodium fluoride treatment in primary vertebral osteoporosis. *Lancet* August 13, 1988:361-5.
- 38.-ROHOLM K. Fluorine Intoxication: A clinical-hygienic study with a review of the literature and some experimental investigations. London HK Lewis and Co. Ltd. 1937.

- 39.-SINGH A, DASS R & HAYREH SS. Skeletal changes in fluorosis. *J Bone Joint Surg* 1962;44b:806-15.
- 40.-SHORTT HE, MC ROBERT GR & BERNARD TN. Endemic fluorosis in the Madras Presidency. *Indian J Med Res* 1937;25:553-68.
- 41.-NEWBRUN T. Fluorides and Dental Caries. Charles C Thomas Publisher 1986. Third edition.
- 42.-JOHNSON LC. Fluorine Chemistry. Vol IV. JH Simmons (ed. New York 1965) Academic Press 424-44.
- 43.-SPENCER H & KRAMER L. Effect of calcium phosphorous, magnesium and aluminium in fluorides metabolism in man. *Ann NY Acad Sci* 1980;355:181-94.
- 44.-EKSTRAND J & KOCH G. Plasma fluoride concentrations in pre-schoolchildren after ingestion of fluoride tablets and toothpaste. *Caries Res* 1983;17(4):379-84.
- 45.-WHITFORD GM & PAHSLEY DH. Fluoride absorption, the influence of gastric acidity. *Calcif Tissue Int* 1984;36(3):302-7.
- 46.-SINGER L & OPHAUG R. Ionic and no ionic fluoride in plasma or Serum. *CRC Crit Rev Clin Lab Sci* 1982;8(2):111-40.
- 47.-MC CANN HG & BULLOCK FA. The effect of fluoride ingestion on the composition and solubility of mineralized tissues of the rat. *J Dent Res* 1957;36(3):391-8.
- 48.-STOOKEY GK, CRANE DB & MÖLLER JC. Role of skeleton and kidney in fluoride association in rat. *Proc Soc Exp Biol Med* 1963;113:366-70.
- 49.-SINGER L & ARMSTRONG WD. Regulation of human plasma fluoride concentration. *J Appl Physiol* 1960;15:508-10.
- 50.-WHITFORD GM & WILLIAMS JL. Fluoride absorption independence from plasma fluoride levels. *Proc Soc Exp Biol Med* 1986;181:550-4.
- 51.-CHEN PS JR., SMITH FA, GARDNER DF, O'BRIEN JA & HODGE HA. Renal clearance of fluoride. *Proc Soc Exp Biol Med* 1956;92:879-83.
- 52.-TAVES DR. Electrophoretic mobility of Serum fluoride. *Nature* 1968;220:582-3.

- 53.-EKSTRAND J, ERICSSON Y & ROSELL S. Absence of protein-bound fluoride from human blood plasma. *Arch Oral Biol* 1977;22:229-32.
- 54.-GUY WS. Inorganic and organic fluorine in human blood. In: Continuing evaluation of the use of fluorides. AAAS Selected Symposium II, E Johansen, DR Taves and TO Olsen, De. 1979, Boulder Co: Westview Press 124-7.
- 55.-NEUMAN WF & NEUMAN MW. The chemical dynamics of bone mineral. Chicago Univ. Chicago Press 1958;75-100.
- 56.-MURRAY JJ, RIGG-GUNN AJ & JENKINS GN. Fluorides in caries prevention. Third edition, Wright 1991.
- 57.-WHITFORD GM, SCHUSTER GS, PASHLEY DH & VENKATESWARLV P. Fluorine uptake by streptococcus mutans GF15. *Infect Immun* 1977;680-7.
- 58.-WHITFORD GM, PASHLEY DH & REYNOLDS KE. Mechanism of fluoride distribution across biologic membranes. *IADR Prog and Abst* 1978;57:no. 685.
- 59.-EISENBERG AD & MARQUIS RE. Enhanced transmembrane proton conductance in streptococcus mutans GS-5 due to ionophores and fluoride. Antimicrobs Agents. *Chemother* 1981;19:807-12.
- 60.-WHITFORD GM, PASHLEY DH & REYNOLDS KE. Fluoride tissue distribution: short-term kinetics. *Am J Physiol* 1979;236:F141-F148.
- 61.-WHITFORD GM & PASHLEY DH. The effect of body fluid pH on fluoride distribution toxicity and renal clearance. In: continuing evaluation of the use of fluorides., AAAS Selected Symposium II, E Hohansen, DR Taves and TO Olsen. Eds. Boulder Co: Westview Press 1979:187-221.
- 62.-WHITFORD GM, PASHLEY DH & REYNOLDS KE. Fluoride renal clearance: a pH dependent event. *Am J Physiol* 1976;230:527-32.
- 63.-CARLSON CH, ARMSTRONG WD & SINGER L. Distribution and excretion of radiofluoride in the human. *Proc Soc Exp Biol Med* 1960;104:235-9.
- 64.-EKSTRAND J, SPAK CJ & EHREBO M. Renal Clearance fluoride in a steady state condition in man: Influence of urinary flow and pH changes by diet. *Acta Pharmacol Toxicol* 1982;50:321-5.
- 65.-HODGE GC & SMITH FA. Biological properties of Inorganic fluorides. In: Fluorine chemistry. JH Simmons ed., New York: Academic Press 1965:1-42.

- 66.-RICH C & ENSICK J. Effect of sodium fluoride on calcium metabolism of human beings. *J Dent Res* 1961;191:1
- 67.-BERNSTEIN DS, SADOWSKY N & HESTED DM. Prevalence of osteoporosis in high and low fluorides arcuis in North Dakota. *JAMA* 1966;198:499-504.
- 68.-RIGGS BL, HODGSON SF & O'FALLON WH. Effect of fluoride treatment on the fracture rate in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 1990;322:802-9.
- 69.-CHLUD K. Zur Behandlung der Osteoporose mit einew protoheirt Wirksamen Natrium. fluorid-preparat, 2. *Rheumatol* 1977;36:129-39.
- 70.-BRIANCON D & MEUNIER PJ. Treatment of osteoporosis with fluoride, calcium and Vit D. *Orthop Clin N Am* 1981:629-48.
- 71.-RIGGS BL, HODGSON SF & MUHS J. Fluoride treatment of osteoporosis: clinical and bone densitometric responses. In: Christiansen C, Johansen JS, Riis BJ.,eds, Osteoporosis 1987 Copenhagen: Osteopress 1987: 857-9.
- 72.-GRODBERG MG. Transcripts of testimony separe advisory Committee meching. FDA, Rockeville Mol, August 18, 1978.
- 73.-**Review of Fluoride Benefits and Risks.** Report of the AD HOC subcommittee on fluoride Department of Health and Human Services 1991. Appendix D.
- 74.-SINGER L & ARMSTRONG WD. Regulation of plasma fluoride in ratas. *Proc Soc Exp Biol Med* 1964;117:636-9.
- 75.-**Review of Fluoride Benefits and Risks.** Report of the AD HOC subcommittee on fluoride Department of Health and Human Services 1991. pag 48.
- 76.-HEANEY RP, BAYLINK DJ & JOHNSTON CC JR. Fluoride therapy for vertebral crush fracture syndrome: a status report. *Ann Intern Med* 1989;11:678-80.
- 77.-RIGGS BL, SEEMAN E & HODGSON SF. Effect of the fluoride/calcium regimen on vertebral fracture ocurrence in postmenopausal osteoporosis: comparison with conventional Therapy. *N Engl J Med* 1982;306:446-50.
- 78.-LEONE NC, SHIMKIN MB AND ARNOL FA. Medical aspects of excesive fluoride in water supply. *Publ Health Rep* 1954;69:925-36.

- 79.-SCHLESINGER ER, OVERTON DE AND CHASE HC. Newburgh-Kingston caries-fluorine study, XIII, Pediatric Findings after 10 years. *J Am Dent Assoc* 1956;52:296-306.
- 80.-WEIDMANN SM, WEATHERELL JA & JACKSON D. The effect of fluorine in bone. *Proc Nutr Soc* 1963;22:105-110.
- 81.-MENAHER L. Bases biológicas de la caries dental. Salvat 3a edición. 1989.
- 82.-ROBINSON C & KIRKHAM L. The effect of fluoride on the developing mineralized tissues. *J Dent Res* 1990;69(Spec Iss):685-91.
- 83.-SHELLIS RP & DUCKWORTH RM. Studies on the cariostatic mechanism of fluoride. *Int Dent J* 1994;44:263-73.
- 84.-CHURCH LE. Fluorides: use with caution. *J Maryland Dent Assoc* 1976;19:106.
- 85.-MÖLLER PF & GUDJONSSON SV. Massive fluorosis of bone and ligaments during hemodialysis. *Am J Cardiol* 1932;51:901-2.
- 86.-QUI MC, LI SL ZHANG NX & BAI CJ. Is the severity of osteosclerosis of fluorosis is proportional to the dose of fluoride intake? *Chin Med J Engl* 1987;100(4):330-2.
- 87.-HARRISON JE, HITCHMAN AJ, HASANY SA, HITCHMAN A & TAM CS. The effect of diet calcium on fluoride toxicity in growing rats. *Can J Physiol Pharmacol* 1984;62(3):259-65.
- 88.-SINGH M & SUSHEELA AK. Adenylciclasa activity and cystic AMP levels following F ingestion in rabbits and human subjects. *Fluoride* 1982;15:202-8.
- 89.-RAISZ LG & TAVES DR. The effect of fluoride in parathyroid and responsiveness in the rat. *J Dent Res* 1967;1:219-228.
- 90.-MANJI F, FEJERSKOV O & BAEUM V. The nature and mechanisms of dental fluorosis in man. *J Dent Res* 1990;69:692-700.
- 91.-CUTRESS TW & SUCKLING GW. Differential diagnosis of dental fluorosis. *J Dent Res* 1990;69:714-20.
- 92.-SHEIHAM A. Dental caries in underdeveloped countries. *Cariology Today Int Congr Zurich* 1983;33-9. Karger, Basilea.

- 93.-ESCARZA-MESTAS M. Morbilidad bucal en escolares del D.F: Dirección General de Estomatología. SSA 1982. México D.F.14-6.
- 94.-STEIN-GMORA E, HUERTA-MENDEZ MT & BONILLA-RODRIGUEZ A. Estudio de la prevalencia de enfermedad periodontal y caries en una población infantil de 3 a 13 años. *Rev ADM* 1982;39(4):165-7.
- 95.-ESCARZA-MESTAS ME, INTRIAGO-SOTO Y, FERNANDEZ R & BELTRÁN L. Morbilidad bucal en escolares del D.F. (1980) Dirección General de Estomatología. SSA 1982 México D.F. pag. 26-7.
- 96.-JENSEN K & HERMOSILLO-JENSEN GG. Salud dental: problemas de caries dental, higiene bucal y gingivitis en la población marginada metropolitana de México. *Bol of Sanit Panam* 1983;94(6):587-602.
- 97.-PRUDENCIO-COSIO O & SOLLEIRO G. Estudio epidemiológico de caries dental en la población escolar de la jurisdicción de Tláhuac. *Rev Fac Odontol UNAM* 1985;2(1):9-15.
- 98.-SÁNCHEZ-PÉREZ L. Caries dental en el sur del D.F. *Prac Odontol* 1984;8(2)9:15-7.
- 99.-IRIGOYEN M, VILLANUEVA R & DE LA TEJA E. Dental caries status of young children in a suburban community of Mexico city. *Comm Dent Oral Epid* 1986;14(6):306-9.
- 100.-GONZÁLEZ M, CABRERA R, GROSSI SG FRANCO F & AGUIRRE A. Prevalence of dental caries and gingivitis in a population of Mexican schoolchildren. *Comm Dent Oral Epid* 1992;21(1):11-4.
- 101.-SÁNCHEZ-FLORES Y, RINCON-MEJÍA V, GÓMEZ-SALAS L & KUBODERA-ITO O. Diagnóstico de morbilidad bucodentomaxilar en escolares con dentición mixta en el municipio de Toluca. *Prac Odontol* 1989;10(9):35-44.
- 102.-DEL-RÍO-GÓMEZ Y. Dental caries and mutans estreptococci in selected groups of urban an native indian schoolchildren in Mexico. *Comm Dent Oral Epid* 1991;19:98-100.
- 103.-MAUPOMÉ-CARVANTES G, BORGES-YAÑEZ SA, LEDESMA-MONTES C & HERRERA-HECHIAURI. Prevalencia de caries en zonas rurales y peri-urbanas marginadas. *Salud Pública Mex* 1993;35:357-67.

- 104.-BARNETT E & NORDIN BC. The radiological diagnosis of osteoporosis. A new approach. *Clin Radiol* 1960;11:166-174.
- 105.-EXTON-SMITH AN, MILLARD PH, PAYNE PR AND WHEELER E. Patterns of development and loss of bone with age. *Lancet* 1969;29:1154-7.
- 106.-GNEDENKO V. Theory of probability. Ed. Chelsea, New York, N.Y. Séptimo capítulo. 1968.
- 107.-WOLINSKY I, SIMKIN A & GUGGENHEIM K. Effects of fluoride on metabolism and mechanical properties of rat bone. *Am J Physiol* 1972;223(1):46-50.
- 108.-PENTON ZG. Some effects of administration of fluoride on calcifying cartilage in rat. *Proc Soc Exp Biol Med* 1968;129:978-81.
- 109.-ZIPKIN I. The effect of fluoride on the citrate content of the bones of the growing rat. *Archs Oral Biol* 1963;8:119-26.
- 110.-WENZEL A, KRAGSTRUP L & RICHARDS A. Radiologic assessment of bone maturity and critical thickness in experimental osteo-fluorosis in the young pig. *Archs Oral Biol* 1984;29(10):745-9.
- 111.-MELLBERG RJ & RIPA WL. Flouride in preventive dentistry theory and clinical applications. *Quintessence Publishing Co.* 1983.
- 112.-SINGER L, ARMSTRONG WD & OPHAUG RH. Effects of acute flouride Intoxication on Rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1978;157:363-8.
- 113.-MONSOUR A, KRUGER BJ & SMID JR. Effects of a single intravenous dose of sodium flouride in plasma electrolytes and metabolites in Rats, Rabbits and Cockerels. *J Dent Res* 1985;64(11):1281-5.
- 114.-LARSEN MJ, MELSEN F & MOSEKILDE L. Effects of a Single dose of flouride en Calcium Metabolism. *Calcif Tissue Res* 1978;26:119-202.
- 115.-BAYLESS JM & TINANOFF N. Diagnosis and Treatment of acute flouride toxicity. *JADA* 1985;110:209-11.
- 116.-FEJERSKOV O, LARSEN MJ & JOSEPHSEN K. Effects of Long Term Administration of flouride on Plasma flouride and Calcium in relation to forming enamel and dentin in Rats. *Scand J Dent Res* 1979b;87:98-104.

- 117.-TRAVIS DF. In: Calcium in Biological Systems R.F. Sagunnaes, de. pag 94. *Am Assoc Advance Sci* Washington D.C. 1960.
- 118.-HOWEL DS. *Arthritis Rheumat* 1963;6:736.
- 119.-ANDERSEN L, RICHARDS A & CARE AD. Parathyroid Glands, Calcium and Vitamin D in Experimental Fluorosis in Pigs. *Calcif Tissue Int* 1986;38:222-6.
- 120.-SMITH FA & HODGE HC. Flouride Toxicity. In: Flourine and Dental Health (edited by Muhler JC and Hine MK) pp 15-20. Univ. Press, Bloomington Indiana.
- 121.-CZERWINSKI E. Morphometric measurements in the diagnosis of fluorotic changes in the long bones. Part I The forearm. *Fluoride* 1978;11(2):46-50.
- 122.-SPENSER GR, EL-SAYED FI & KROENING GH. Effects of flouride, calcium and phosphorous on porcine bone. *Am J Vet Res* 1971;32:1751-74.
- 123.-RÜEGSEGGER P, RÜEGSEGGER E, ITTNER J & DAMBACHER M. Natural course of osteoporosis and flouride therapy-a longitudinal study using quantitative computed tomography. *J Compu Assist Tomogr* 1985;9:626-7.