

EDITORIAL

LO QUE EL ESPECIALISTA EN OSTEOLOGÍA DEBE SABER SOBRE EL FLÚOR, AUNQUE NO LO INDIQUE A SUS PACIENTES

Agradecemos al Director de **Actualizaciones en Osteología** la invitación para componer este número. “Actualizaciones” es importante como foro científico donde se puedan analizar y discutir los avances en todas las áreas de la Osteología.

Un concepto sólidamente establecido en salud ambiental es que los efectos de agentes tóxicos producen un gradiente de cambios biológicos, extendiéndose entre efectos imperceptibles en los niveles más bajos de la exposición al daño de salud severo en las dosis muy altas. El primer efecto perceptible de la exposición un agente puede ser un cambio bioquímico sutil, tal como la disminución de la actividad de una enzima. En dosis más altas, los cambios en algunas funciones fisiológicas pueden tener una magnitud importante, que no siempre se asocia a los síntomas o a los efectos adversos. Con dosis aún más altas, los efectos adversos comienzan a aparecer. Éste es el caso del flúor.

Investigadores clínicos de India y China, países donde la fluorosis alcanza dimensiones de problema nacional, tienen una mirada más abarcadora sobre la importancia de síntomas articulares frecuentemente exhibidos por los pacientes y la asociación con la exposición al flúor.

Los efectos del flúor en la salud humana tienen una amplitud sorprendente. El apasionamiento (a favor o en contra) de los grupos de investigación es un carácter distintivo de este área del conocimiento, probablemente porque el flúor es un elemento de amplísima difusión en la naturaleza, por el volumen de dinero que moviliza la fluoración del agua potable y porque sus efectos sobre la salud humana son imposibles de evitar.

La prevalencia de fluorosis esquelética es desconocida en nuestro país.

Para los investigadores en ciencias básicas, el fluoruro es un recurso muy atractivo porque ha demostrado ser un mitógeno de las células óseas (ver artículo 15 en este número) y ha permitido desentrañar mecanismos moleculares involucrados en la biología de las células óseas. El efecto mitogénico dilatará en el tiempo (pero no impedirá) la aparición de los síntomas adversos, porque la fracción de flúor no excretada estimulará la formación de un emuntorio adicional: mayor volumen de tejido óseo. Nuestro laboratorio comenzó a investigar el metabolismo del flúor en 1988, cuando advertimos sus ventajas desde los puntos de vista analítico (se puede medir con gran precisión) y metabólico (se deposita en el esqueleto o se excreta intacto por vía urinaria, sin transformación ulterior).

Al ser consultados por personas aparentemente sanas, los clínicos deberían considerar la ingesta espontánea de flúor como causa de dolores articulares (ver artículo 14) o productora de valores elevados de la densidad mineral ósea (ver artículo 8). Y tener en cuenta que la enfermedad renal acelera la acumulación del elemento en los tejidos blandos y el esqueleto (ver artículo 12).

RODOLFO C. PUCHE

Laboratorio de Biología Ósea,
Facultad de Ciencias Médicas,
Universidad Nacional de Rosario
Correo electrónico: rodolfopuche@ciudad.com.ar



1. EL FLÚOR ALREDEDOR NUESTRO

RODOLFO C. PUCHE, ALFREDO RIGALLI*

Laboratorio de Biología Ósea, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario

Resumen

Este artículo contiene definiciones destinadas a unificar el lenguaje de esta revisión. Describe las formas de ingreso del flúor al organismo y el contenido de este elemento en los alimentos. Informa sobre la fluoración del agua potable en la Rca. Argentina y la compara con la situación en los Estados Unidos de América.

Palabras clave: flúor, agua potable, fluoración del agua

THE FLUORIDE AROUND US

Summary

This article reviews the forms and routes of access of fluorine into the organism as well as the fluorine contents of foods. It also reviews the fluoridation of tap water in Argentine and exposes the situation in the USA.

Key words: fluoride, drinking water, water fluoridation.

Sobre el lenguaje empleado en esta revisión

Cuando se discuten efectos farmacológicos, la especie activa es el anión fluoruro. Se llama fluoruro al anión del ácido fluorhídrico o de sus sales, como el fluoruro de sodio. Los compuestos minerales que contienen flúor en su composición (monofluorofosfato, fluorapatita, fluorita), después de su absorción, terminan disociándose en sus componentes y dando lugar a la aparición del anión fluoruro en el espacio extracelular.

Cuando se comparan diferentes compuestos es conveniente referirse al "contenido en flúor elemento".

No existen las "sales de flúor". Los halógenos (cloro, bromo, yodo y flúor) producen ácidos. El fluoruro de sodio es la sal de sodio del ácido fluorhídrico. En términos generales, conviene utilizar la expresión "sales con flúor".

La abreviatura "ppm" significa "partes por millón" y es equivalente a "miligramos por litro" o "miligramos por kilo".

Dado que el fluoruro de sodio es una droga de referencia, será útil incluir las siguientes relaciones:

$mg \text{ de flúor} \times 2,2 = mg \text{ de fluoruro de sodio}$
 $mg \text{ de fluoruro de sodio} \times 0,45 = mg \text{ de flúor}$

Tipos de compuestos con flúor

Los compuestos con flúor se pueden clasificar en tres grupos:

A. *Solubles*, como el fluoruro de sodio, monofluorofosfato de sodio, ácido fluorhídrico. Estos compuestos se disocian instantáneamente en agua, dando lugar al aumento en la concentración de fluoruro.

B. *Relativamente insolubles*, como la criolita (flúor-aluminato de sodio) ó la flúorapatita. Estos compuestos producirán fluoruro después de absorberse y disociarse en sus constituyentes.

C. *Con flúor en enlace no dissociable*, como el flúorborato de potasio, que si se lo ingiriera, no liberará flúor en el organismo.

Formas de ingreso de flúor al organismo

Leche materna. El valor de flúor hallado naturalmente en leche materna es de 0,01 ppm. Ekstrand y col.¹ observaron que después de la administración oral de 1,5 mg de flúor elemento a madres que amamantaban sus hijos, la leche materna no modificó sus niveles basales de flúor, no obstante el pico de flúor claramente discernible en plasma. Estos autores postulan la existencia de una barrera plasma-leche que protege a los bebés.

Nutrición infantil. Según la Food and Nutrition Board, Committee on Nutrition, la ingesta segura "estimada" de F, expresada en mg/d es:²

0-6 meses	_____	0,1-0,5
6-12 meses	_____	0,2-1,0
1-3 años	_____	0,5-1,5
4-6 años	_____	1,0-2,5
7-10 años	_____	1,5-2,5
> 11	_____	1,5-2,5
Adultos	_____	1,5-4,0

¿Cuánto flúor contienen los alimentos?

Los alimentos frescos o sin preparación contienen 0,01 a 1,0 ppm de flúor. Los alimentos preparados (desde pastas hasta la leche reconstituida, de uso

* Dirección postal: Cátedra de Química Biológica, Facultad de Ciencias Médicas. Santa Fe 3100, (2000) Rosario, SF, Argentina. Correo electrónico: arigalli@fmedic.unr.edu.ar.

infantil o adulto) tendrán el contenido de flúor del agua empleada para su preparación. Las principales excepciones a lo antedicho son los mariscos (salmón, sardina, camarón, etc.) y el té. Los mariscos contienen entre 6 y 27 ppm de flúor (y más si se consumen con esqueleto, como las conservas de sardinas).³ Las hojas secas de té contiene hasta 400 ppm y su infusión 6-10 ppm, dependiendo de la calidad del té, del contenido de flúor del agua con que se prepare y del tiempo de preparación.⁴ A diferencia del té, las hojas de yerba mate no concentran el flúor (mediciones de nuestro laboratorio). La costumbre del mate aumenta la ingesta de flúor si el agua lo contiene y como consecuencia del aumento del consumo de agua.

Impacto de la higiene dental en la ingesta diaria de flúor

Diversos estudios^{5,6} revelan que un 25% del flúor colocado en la boca es ingerido. Los dentífricos contienen actualmente 1.500 ppm de flúor. Como la dosis diaria de pasta dental es de aproximadamente 1 gramo, se ingieren entre 0,5-1,0 mg de flúor por cada higiene bucal.⁷

¿Nos hemos aproximado a una exposición crítica al flúor?

La figura 2 muestra el promedio de ingesta diaria de F, segregado en sus contribuyentes, y para tres niveles de flúor en el agua de bebida.

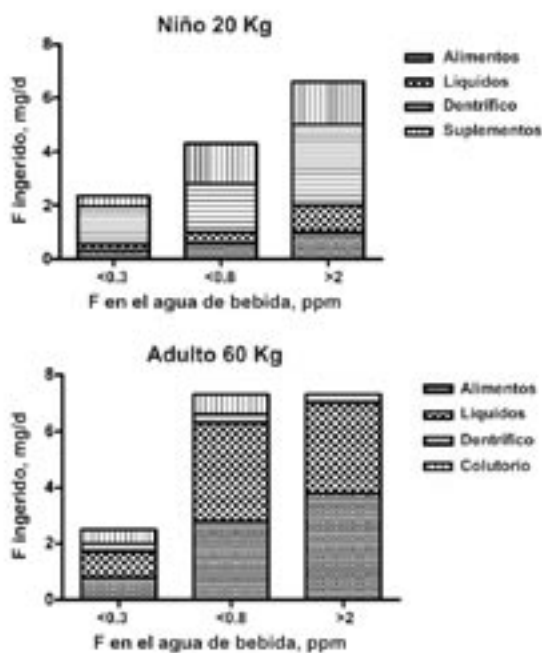


Figura 1. Ingesta diaria estimada de Flúor, mg/d para tres niveles de concentración de flúor en el agua de bebida. Redibujado de <http://fluoridation.com>⁷

Lo más importante de destacar es que, por kilo de peso, un niño puede recibir varias veces la dosis de un adulto. Y esto explica la acumulación de este elemento en el mineral óseo.

Concentración de flúor en aguas de segunda napa en la Argentina

El mapa de la Figura siguiente ha sido confeccionado con datos obtenidos por Obras Sanitarias de la Nación. El informe en el que se basa no cubre toda la superficie del país.⁸ La exploración se concentró en áreas pobladas.

El área marcada en negro indica concentraciones superiores a 3 ppm y revela el ingreso del mar en el territorio actual en épocas prehistóricas. En gris se marca el área con concentraciones entre 1 y 3 ppm. Los valores varían entre 0,1 ppm (en localidades cercanas a ríos de agua dulce) y 100 ppm (en algunos lugares de La Pampa y Santiago del Estero). El litoral argentino, que recibe agua de lluvia de la cuenca del Mato Grosso, tiene los niveles más bajos. La información referida a la Patagonia es escasa.

En Rosario, el agua potable contiene 0,2 ppm de flúor (15 micromoles/litro) (Figura 2).



Figura 2. Distribución geográfica del contenido de flúor en aguas de segunda napa en la República Argentina. En negro: > 3 mg F/L; gris: 1-3 mg F/L; blanco: < 1 mg F/L.

Fluoración del agua en la Argentina

En Argentina la fluoración artificial de las aguas para consumo humano, con el objetivo de proteger los dientes de los niños, está prevista en la ley nacional 21.172 (Boletín Oficial del 7 de noviembre de 1975). Lamentablemente el flúor también es un material de riesgo, y no siempre se puede garantizar que la dosis distribuida sea inofensiva.

En Argentina la cantidad permitida de flúor en el



agua varía según la temperatura de la región. En los lugares más fríos se recomienda 0,9 ppm como límite inferior y 1,7 ppm como límite superior. En los lugares más cálidos el límite inferior debe ser 0,6 ppm y el límite superior 0,8 ppm. Estos límites son establecidos por el Art. 1 (ex Art. 982), Resolución MS y AS n° 494 del 7 de julio de 1994.

La situación en Estados Unidos de América. Criterios en revisión

En 1975, la *National Academy of Sciences* estimó que la ingesta media de flúor (“óptima”) en 1950, para los adultos, era de 1,0 a 1,5 mg/d. Sin embargo, reconoció que algunas subpoblaciones podrían superar holgadamente esa cifra: atletas, embarazadas, trabajadores de la construcción y bebedores habituales de varias tazas de té por día (hasta 14 mg F/día).

Actualmente en los EUA, para un adulto de 45 a 100 kg de peso, la ingesta espontánea de flúor se estima de 9,1 a 36,4 mg/día.

En marzo de 2006, *The National Academies (N.A. of Sciences, N.A. of Engineering, Institute of Medicine, National Research Council [NRC])*, después de revisar la investigación efectuada en los últimos 10 años sobre los efectos del flúor en la salud, expuso que los estándares de la Environmental Protection Agency (EPA) no son adecuados. La mayoría de los informes analizados concluyen que las personas que toman agua con 4 mg de F/litro probablemente tengan aumentado el riesgo de fracturas.⁹

Los estándares de la EPA respecto del flúor en el agua potable son los siguientes:

MCLG (maximum contaminant level goal): El nivel contaminante máximo es la concentración de F con el que no se esperan efectos adversos y los márgenes de seguridad son “adecuados”.

MCL (maximum contaminant level): El nivel contaminante máximo es el estándar aplicable por ley y tan próximo al anterior como fuere posible, teniendo en cuenta factores tales como la tecnología del tratamiento del agua potable y los costos.

Para el flúor, MCLG y MCL son 4 mg/litro.

SMCL (secondary maximum contaminant level): Para el proceso de agua de bebida usada con objetivos estéticos o cosméticos.

Para el flúor, SMCL es 2 mg/litro.

El 6 de mayo de 2003 la EPA realizó un debate público sobre la fluoración como parte de su Foro de Ciencias, en Washington DC. Paul Connett (NRC) presentó argumentos contra la fluoración, pero pese a seis semanas de esfuerzo, la EPA no pudo encontrar ninguna persona en los Estados Unidos que presentara argumentos a favor de la fluoración.

La Oficina de Agua de Bebida de la EPA, en Estados Unidos, requirió al NRC que revisara la nueva evidencia científica sobre la toxicidad del flúor como parte de su revisión de los estándares seguros para agua de bebida. La primera reunión se efectuó los días 12 y 13 de agosto de 2003. Las conclusiones aparecieron en el 2006 y se resumen más abajo.

INFORME DEL CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE 2006 ESTADOS UNIDOS: FLUORURO EN EL AGUA POTABLE¹⁰

El informe reciente de un comité de 12 miembros del NRC de los EUA examinó las bases científicas para la determinación del nivel máximo de contaminación (MCLG) del fluoruro en agua potable promulgada en 1985 por la EPA.

Debido a la sesgada dirección por la gerencia de EPA que solicitó el informe, el comité del NRC identificó en 1985 solamente los efectos adversos del F conocidos con certeza total sobre la salud. Esto contrariaba la intención del Acta del Agua Potable Segura (SDWA), que requería que la EPA determinase “si algunos efectos nocivos podían ser anticipados razonablemente aunque aún no estuvieran enteramente demostrados”. El sesgo adicional de la EPA consistió en no identificar un nuevo MCLG. En otras palabras, no determinar un nivel seguro del fluoruro en agua potable, y no discutir o investigar cuán seguros eran los flúor-silicatos (silicofluoruros),** utilizados en la mayoría de las

** Los estudios que pretendieron comprobar la seguridad y eficacia de la fluoración en la prevención de las caries comenzaron en 1945 utilizando el fluoruro de sodio. En marzo de 2002, aproximadamente dos tercios de los abastecimientos de agua de EUA enriquecen la misma con flúor. Actualmente es habitual el uso de compuestos de flúor más baratos: ácido fluosilícico (H₂SiF₆) y flúorsilicato de sodio (llamados en conjunto “silicofluoruros ó “SiFs”). De los abastecimientos de agua aludidos, 91% y 9% utilizan SiFs y fluoruro de sodio, respectivamente. En EUA el consumo de SiFs es de 200.000 toneladas/año. Estos productos derivan de la fabricación de fertilizantes con fosfato y son captados de los efluentes de desecho. Estos productos contienen contaminantes (p.ej. arsénico, plomo) ausentes en el fluoruro de sodio de grado farmacéutico. La tesis de Westendorf J (*The Kinetics of Acetylcholinesterase Inhibition and the Influence of Fluoride and Fluoride Complexes on the Permeability of Erythrocyte Membranes. PhD Dissertation in Chemistry, U. of Hamburg, Germany – 1975*) no ha circulado en EUA.¹⁰ Roger D. Masters y Myron Coplan, de la universidad de Dartmouth, han observado en una muestra de 280.000 niños que el tratamiento de aguas con silicofluoruros aumenta la incorporación celular del plomo.

ciudades para fluorar el agua potable.

A pesar de estas restricciones, el NRC amplió el horizonte de discusión al establecer que el estándar vigente de 4 mg F/L en agua potable no protege contra fracturas del hueso o fluorosis dental severa. Y aconsejó estudios adicionales sobre los efectos de los flúor-silicatos sobre la salud.

La revisión del NRC incluye extensa información sobre otros efectos posibles del fluoruro sobre la salud, tales como efectos sobre glándulas endocrinas y el cerebro. En base de esta información y de la interpretación apropiada del SDWA, los siguientes son los efectos adversos sobre la salud: la fluorosis dental moderada, la esquelética en la etapa I (artritis con dolor y endurecimiento de las articulaciones), disminución de la función tiroidea, y efectos perjudiciales sobre el cerebro, especialmente en conjunto con el aluminio.

La cantidad de fluoruro necesaria para causar estos efectos a los miembros susceptibles de la población es igual o inferior a la dosis de flúor recibida por la fluoración del agua. La meta máxima recomendada del nivel del contaminante (MCLG) para el fluoruro en agua potable debe ser cero.

Algunas notas de interés

- 1) Actualmente sólo 6 países proveen de agua artificialmente fluorada a más del 50% de su población: Estados Unidos, Australia, Nueva Zelanda, Irlanda, Colombia y Singapur.
- 2) La mayor parte de los países discontinuaron el uso del flúor o nunca lo utilizaron. El 9 de abril de 2003 las autoridades de la ciudad de Basilea (Suiza) suspendieron la fluoración del agua potable después de practicarla durante 41 años consecutivos. En aquellos países en los que no es desusado que los ciudadanos le hagan juicio al Estado, la fluoración del agua potable ha ido en retroceso porque los gobiernos han perdido los juicios correspondientes.
- 3) La fluoración fue debatida en la Cámara de los Comunes en Gran Bretaña el 8 de septiembre de 2003. El gobierno de Tony Blair propuso que se indemnice a las compañías que agregan flúor al agua para uso público ante posibles acciones futuras por daños. En el momento de redactar esta revisión se desconoce el resultado de la iniciativa.
- 4) En Argentina uno de los debates más recientes

sobre los efectos negativos de la fluoración tuvo lugar en la ciudad de Formosa. La Fundación Mundo Mejor de esa ciudad, conjuntamente con FUNAM y Greenpeace, iniciaron una rica y positiva discusión pública. En 1997 AIDIS Argentina y DIAGUA organizaron un seminario internacional sobre fluoración en Buenos Aires. Aunque calificado de internacional sólo hubo pocos disertantes de otros países (por ejemplo Thomas Reeves de Estados Unidos), y no estuvieron presentes aquellos investigadores que demostraron los efectos negativos del flúor sobre la salud humana. El encuentro, técnicamente sesgado, reafirmó "la conveniencia de la fluoración de las aguas".

Referencias

1. Ekstrand J, Boreus LO, de Chateau P. No evidence of transfer of fluoride from plasma to breast milk. *British Med J* 1982; 283: 761-2.
2. Food and Nutrition Board, 1980, USA, Committee on Nutrition. *Pediatrics* 1972; 49: 456.
3. Muhler JC. Fluoride and Human Health, pp. 32-40. WHO; Geneva, 1970.
4. Cremer HC, Buttner W. Fluoride and Human Health, pp. 75-9. WHO; Geneva, 1970.
5. Ericsson Y, Hellstrom I, Jared B, Stjernstrom L. Investigations into the relationship between saliva and dental caries. *Acta Odontol Scand* 1960; 18: 263.
6. Ericsson Y, Forsman B. Fluoride retained from mouthrinses and dentifrices in preschool children. *Caries Res* 1969; 3: 290-9.
7. <http://fluoridation.com>. Revisado 20/12/2006
8. Trelles RA. Química de las aguas en la República Argentina. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ingeniería. Instituto de Ingeniería Sanitaria. No. 12, 1972.
9. National Academies. Report in brief. March 2006. <http://dels.nas.edu.best> Revisado 20/12/2006
10. Carlton RJ. Review of the 2006 United States National Research Council Report: Fluoride in drinking water. *Fluoride* 2006; 39: 163-72, 2006.



2. METABOLISMO DEL FLÚOR

RODOLFO C. PUCHE, ALFREDO RIGALLI*

Laboratorio de Biología Ósea, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario.

Resumen

Este artículo pasa revista al metabolismo del flúor. Define los conceptos de fluoremia basal o en ayunas, el destino del elemento después de su absorción, la incorporación al mineral óseo y la importancia de la función renal en la eliminación del elemento. Se revisa la literatura sobre la capacidad del mineral óseo en secuestrar el flúor y el efecto que tiene esta incorporación sobre el desempeño del tejido.

Palabras clave:

flúor, metabolismo, hueso, función renal

METABOLISM OF FLUORINE

Summary

This article reviews the metabolism of fluorine. Alter stating the concept of basal (or fasting) fluoride plasma levels, we review the metabolic fate of the element after its absorption and emphasize the importance of renal function in its excretion. The ability of bone mineral to incorporate fluoride and the effect of this incorporation on the mechanical performance of the tissue are reviewed.

Key words: fluoride, metabolism, bone, renal function

Fluoremia. A diferencia de las concentraciones del calcio o sodio en plasma, la concentración de fluoruro no está regulada metabólicamente. En consecuencia es preferible hablar de *fluoremia basal* o *fluoremia en ayunas*. La fluoremia en ayunas de las personas depende de su edad y la ingesta espontánea de flúor con la que su organismo está en equilibrio. Los "valores normales" dependen del grado de exposición al flúor de la población.

La fluoremia basal no es constante a lo largo de la vida. Las observaciones de Husdan y col.¹ demuestran que la fluoremia aumenta con la edad (Figura 1). El aumento de la fluoremia con el progreso de la edad se explica por la acumulación espontánea de flúor en el esqueleto.² Según Ericsson y col.³ la fluoremia basal de sujetos expuestos espontáneamente está en equilibrio con la masa de flúor acumulada en el esqueleto.

La fluoremia basal de las mujeres adultas es un poco más elevada que la de los hombres adultos (Figura 1), pero la diferencia no es significativa.¹ La diferencia a favor de las mujeres podría estar relacionada con el déficit de estrógenos en la posmenopausia y el consecuente aumento del recambio óseo.

Al cabo de varios meses de exposición al flúor las personas se encuentran "en equilibrio" con la ingesta de este

elemento. En Rosario, por ejemplo, donde el agua potable contiene 0,2 ppm de flúor, la fluoremia en ayunas es muy baja, habitualmente inferior a 1,5 μM (29 $\mu\text{g/L}$).

La afirmación de que las concentraciones plasmáticas de fluoruro no están reguladas metabólicamente se basan en las siguientes observaciones: la fluoremia está relacionada con la ingesta previa del anión y en equilibrio con el depósito óseo, los clearances de fluoruro y creatinina están positiva y significativamente correlacionados (es decir, la fluoruria depende directamente de la fluoremia) y los niveles circulantes de hormona paratiroidea (endógena o exógena) se asocian con fluoremias por encima de lo normal.⁴ Esto explica la asimetría de la distribución de las fluoremias basales. La Figura 2 muestra la distribución de las fluoremias de 50 estudiantes ingresantes a la Facultad de Ciencias Médicas de Rosario en 1989. El 85% de las mismas fue inferior a 1,5 μM .

Los sujetos "expuestos espontáneamente" son aquéllos que no recibieron fluoruro en dosis o con objetivo terapéutico.³ La fluoremia basal de los sujetos en tratamiento con flúor depende de la droga empleada, la dosis, el éxito del tratamiento y el número de horas entre la última dosis y la extracción de sangre. Sobre este punto volveremos en el artículo 11.

Los niveles plasmáticos que se pueden encontrar después de la ingesta de flúor dependen de la dosis. Una a dos horas después de una dosis terapéutica habitual (aproximadamente 15 mg de flúor/dosis), la concentración en suero puede oscilar entre 5 y 20 μM (Figura 3). En sujetos expuestos espontáneamente, la fluoremia basal no difiere de la del almuerzo ni con la del estado posprandial.¹ (Ver Figura 4)

El flúor es un fármaco que actúa por mantenimiento de una determinada concentración de fluoruro en el citoplasma de las células blanco. Esta concentración no ha sido definida, pero parece evidente que debe ser muy baja, ya que sus efectos se ven sin grandes modificaciones de la fluoremia basal. Los comprimidos slow release extienden el período de presencia de fluoruro en el intestino, no producen un pico de fluoremia que sólo se eleva a valores normales-altos y no obstante, producen aumento de la masa ósea.

¿Qué destino metabólico tiene el flúor?. Aproximadamente 50% del fluoruro que ingresa al organismo será excretado en las 24 horas siguientes. Después de la ingesta de flúor, la concentración de fluoruro aumentará

* Dirección postal: Cátedra de Química Biológica, Facultad de Ciencias Médicas. Santa Fe 3100, (2000) Rosario, SF, Argentina. Correo electrónico: arigalli@fmedic.unr.edu.ar.

transitoriamente durante las 2-3 horas siguientes, retornando a los niveles basales, por efecto simultáneo de la excreción urinaria y el secuestro por el esqueleto. La Figura 5 muestra la estrecha relación entre fluoremia y fluoruria en sujetos normales (círculos vacíos). Los insuficientes renales exhiben fluoretrias más elevadas en relación con la excreción urinaria del anión. Más del 99% del flúor corporal se encuentra en el esqueleto como fluorapatita y su movilización depende del recambio del tejido óseo.

La Figura 6 muestra la relación entre los clearances de creatinina y de fluoruro. El *clearance* de fluoruro es un tercio del de creatinina, lo que estaría indicando reabsorción tubular. Este proceso no ha sido estudiado en profundidad. El proceso de acidificación urinaria convertiría una fracción del fluoruro tubular en ácido fluorhídrico, que es liposoluble. La retención corporal de fluoruro en sujetos expuestos espontáneamente al flúor se hace evidente (por aumento de la fluoremia) cuando el *clearance* de creatinina es inferior a 25 ml/min.

Mecanismo de inclusión del flúor en el mineral óseo. Existe consenso en aceptar que la inclusión del flúor en el mineral óseo es el resultado de 3 reacciones:⁵

1) *Intercambio en la superficie del cristal de hidroxilapatita: el anión fluoruro se intercambia o reemplaza al anión hidroxilo.*

2) *El crecimiento de los cristales de hidroxilapatita en el seno de la matriz colágena incluye fluoruro, aun en capas profundas de mineral.*

3) *Remodelación ósea: durante el proceso de reabsorción ósea el fluoruro es liberado y reingresado a la circulación general de modo que vuelve a ser disponible para los procesos 1) y 2). La remodelación ósea, que no se detiene nunca, explica la expresión de "entrar en equilibrio" con la ingesta (alimentaria o terapéutica) de fluoruro.*

El mecanismo de inclusión del flúor en el mineral del esmalte dental durante la formación de la matriz dental debe operar conforme a los procesos 1 y 2, indicados anteriormente. La inclusión de flúor en el esmalte adulto depende de la concentración de fluoruro en contacto con el diente. Las concentraciones en plasma nunca alcanzan a superar los 50-100 μM durante el pico de absorción. Las soluciones de fluoruro para aplicación tópica contienen 10-20 gramos de fluoruro de sodio por litro (250-500 mmoles por litro) y los colutorios unas 5 veces menos. Con estas concentraciones, el fluoruro reemplaza al fosfato dando lugar a una película protectora de fluoruro de calcio. Y algo semejante es presumible que ocurra con el flúor de la pasta dental (unos 700 μmoles por litro de agua de la pasta dental), aunque el tiempo de contacto es muy breve.⁶

Bone seeker (que podría traducirse como "buscahue-

so"), es una expresión que identifica a los elementos químicos (como el fluoruro) con gran afinidad por el mineral de ese tejido. Estos elementos se incluyen durante el proceso de mineralización y son reenviados a la circulación por las células óseas, cuando el tejido se remodela.

La literatura científica registra las observaciones de Largent,⁸ que midió la fluoruria de los habitantes de una ciudad que redujo abruptamente el contenido de flúor del suministro de agua. La pérdida urinaria del flúor esquelético permitió estimar la vida media del proceso de recambio del esqueleto: 120 semanas para los adultos y 7-16 semanas en niños, en concordancia con estudios modernos utilizando trazadores radioactivos.

¿Qué capacidad tiene el esqueleto de secuestrar el flúor ingerido?

Aún no se ha determinado el límite de la capacidad del esqueleto de acumular flúor. La saturación teórica con flúor, esto es el reemplazo de toda la hidroxilapatita por fluorapatita se estima en 35.000 ppm, valores que nunca se han encontrado. Perros intoxicados con tetrafluoruro de uranio durante un año tuvieron hasta 17.000 ppm, sin efectos aparentes en su salud. En obreros de la industria del aluminio, expuestos permanentemente a la criolita, se han medido concentraciones óseas del orden de 6.000-7.000 ppm.⁷

Es posible que esos perros no tuvieran ninguna manifestación tóxica del flúor porque el anión estimula la síntesis de tejido óseo, con lo que mejora la capacidad y actividad del organismo para "eliminarlo" del espacio extracelular y depositarlo en el mineral bajo la forma de un compuesto muy poco soluble.

Se puede plantear el interrogante de la actividad farmacológica del flúor de la fluorapatita. No hay información categórica al respecto. Es muy probable, sin embargo, que como la fluorapatita es insoluble, ese flúor no sea activo. No obstante, en adultos expuestos durante toda su vida al flúor, la fluoremia basal puede ser relativamente elevada porque el flúor del esqueleto está permanentemente en intercambio con el líquido extracelular.⁸

La "dosis tóxica probable" del flúor para los seres humanos, deducida de una serie de accidentes e intentos de suicidios es de 5 mg/kg, igual a 100 veces la ingesta espontánea diaria y 10 veces la dosis terapéutica habitual (15-30 mg de flúor elemento por día).⁹

¿Qué efectos tiene la transformación de hidroxilapatita en fluorapatita?

La introducción de fluoruro en reemplazo de hidroxilo permite un empaquetamiento más apretado de los átomos y por ello el cristal de fluorapatita es ligeramente más pequeño y más insoluble que la hidroxilapatita. Este empaquetamiento de los átomos, sin embargo, reduce la elasticidad de la matriz calcificada. Un hueso con matriz mineralizada con fluorapatita será frágil, porque el mejor empaquetamiento de los átomos aludido anteriormente produciría un conjunto poco elástico.



Referencias

1. Husdan H, Vogl R, Oreopoulos D, Gryfe C, Rapoport A. Serum ionic fluoride: normal range and relationship to age and sex. *Clin Chem* 1976; 22: 1884.
2. Zipkin I, Likins RC, McClure FJ, Steere AC. Urinary fluoride levels associated with use of fluoridated waters. *Public Health Rep* 1956; 71: 767-72.
3. Ericsson Y, Gydell K, Hammarskjold Th. *Int Res Commun Sys* 1973 (August): 35.
4. Waterhouse C, Taves D, Munzer A. Serum inorganic fluoride: changes related to previous fluoride intake, renal function and bone resorption. *Clin Science* 1980; 58: 145-52.
5. Neuman WFD, Neuman MW, Main ER, O'Leary J, Smith FA. The surface chemistry of bone. II. Fluoride deposition. *J Biol Chem* 1950; 187: 655-61.
6. Ericsson Y, Forsman B. Fluoride retained from mouthrinses and dentifrices in preschool children. *Caries Res* 1969; 3: 290-9.
7. Roholm K (1937), citado por Hodge HC. Fluoride. En: *Mineral Metabolism* (Comar CL, Bronner F, eds.). New York; Academic Press, 1964 (Vol. IIA, p. 573).
8. Largent EJ. Rates of elimination of fluoride stored in the tissues of man. *Arch Ind Hyg Occup Med* 1952; 6: 37-42.
9. Whitford GM. The metabolism and toxicity of fluoride. Basel; Karger, 1989.

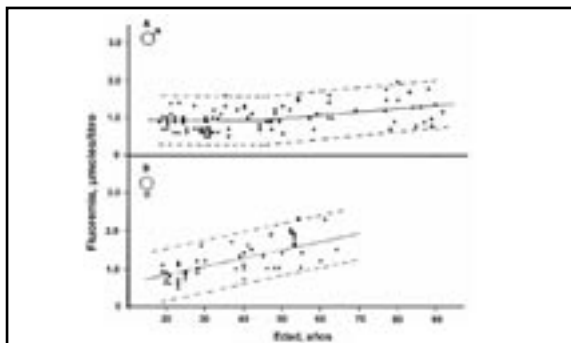


Figura 1. Relación entre la fluoremia y la edad de sujetos de una población expuesta espontáneamente al flúor. Redibujado de Husdan y col.¹

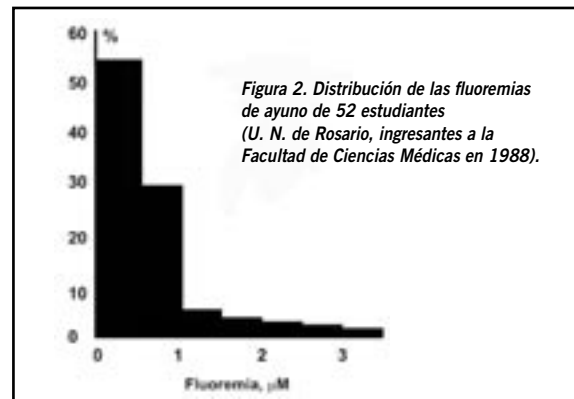


Figura 2. Distribución de las fluoremias de ayuno de 52 estudiantes (U. N. de Rosario, ingresantes a la Facultad de Ciencias Médicas en 1988).

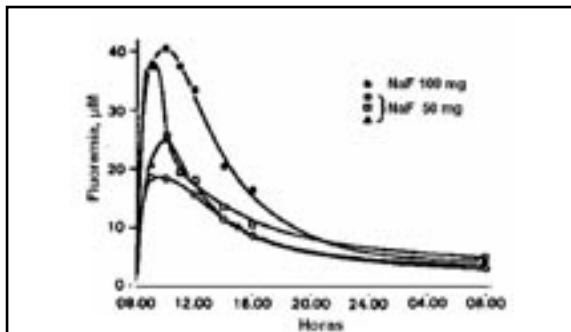


Figura 3. Curvas de fluoremia después de una dosis oral de 50 ó 100 mg de fluoruro de sodio (Redibujado de Waterhouse y col.⁴).

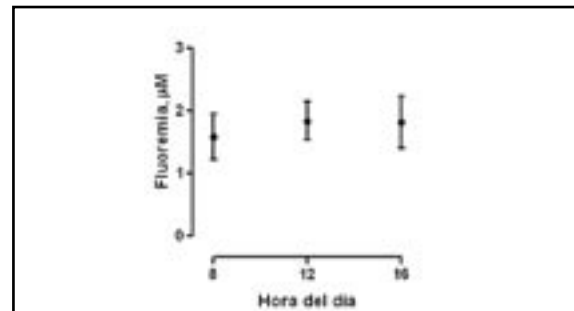


Figura 4. Fluoremias de ayuno (8 hs), coincidentes con la ingesta (12 hs) y posprandiales (16 hs) de 6 sujetos normales de una población expuesta espontáneamente.

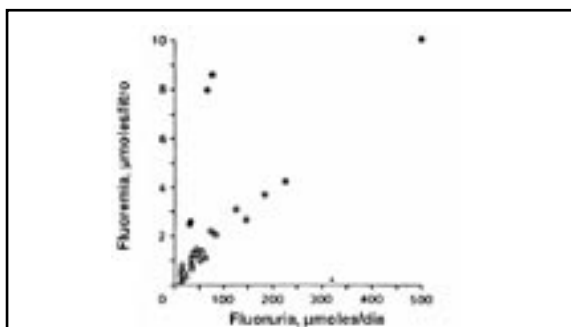


Figura 5. Relación entre la fluoremia y fluoruria de 22 sujetos sanos (círculos abiertos) y 5 insuficientes renales (círculos llenos).

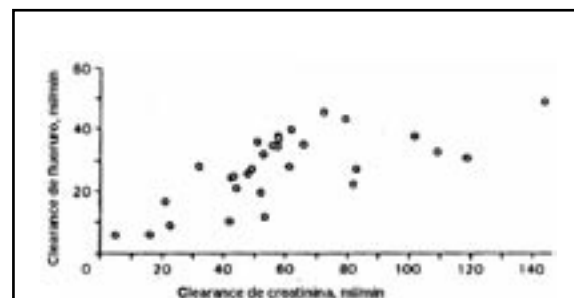


Figura 6. Relación entre los clearances de creatinina y fluoruro en 30 sujetos normales de una población expuesta espontáneamente.

3. SOURCES OF FLUORIDE INTAKE AND RISK OF DENTAL FLUOROSIS

MARÍLIA AFONSO RABELO BUZALAF,* CLAUDIA AYUMI NAKAI KOBAYASHI

Department of Biological Sciences, Bauru Dental School, University of São Paulo, Brazil

Abstract

Although the predominant beneficial effects of fluoride occur locally in the mouth, the adverse effect, dental fluorosis, occurs by the systemic route. Caries incidence and prevalence has decreased significantly over the last two decades due to the widespread use of fluoride. However, simultaneously, an increase in the prevalence of dental fluorosis has been reported both in communities with fluoridated and non-fluoridated water. The increase in fluorosis prevalence prompted numerous studies on risk factors for fluorosis. This review describes the main sources of fluoride intake that have been identified until now: fluoridated drinking water, fluoride supplements, fluoride toothpaste, infant formulas and other manufactured infant foods and beverages. Recommendations on how to avoid excessive fluoride intake from these sources are also given.

Key words: fluoride, intake, fluorosis

ORÍGENES DEL FLUORURO INGERIDO Y RIESGO DE FLUOROSIS DENTAL

Resumen

Los efectos beneficiosos del fluoruro sobre la dentadura ocurren por su acción local, sin embargo su principal efecto adverso, la fluorosis dental, ocurre por vía sistémica. La incidencia y prevalencia de caries ha decrecido significativamente en las pasadas dos décadas debido al amplio uso del fluoruro. Sin embargo, simultáneamente ha aumentado la prevalencia de fluorosis dental, no sólo en comunidades con agua fluorada, sino también en aquellas comunidades con bajos niveles de fluoración en el agua de bebida. Este incremento en la prevalencia de fluorosis dental ha dado origen a numerosos estudios de factores de riesgo predisponentes para la instalación de la fluorosis dental. Esta revisión describe las principales fuentes de ingesta de fluoruro identificadas hasta el momento, como son: aguas fluoradas de consumo humano, comprimidos con fluoruro, pastas dentales, preparaciones para el uso de niños, alimentos y bebidas. Se describen también medidas destinadas a evitar la excesiva ingesta de fluoruro proveniente de las fuentes mencionadas.

Palabras claves: fluoruro, ingesta, fluorosis

Fluoride plays a key role in control of dental caries. In the middle of the previous century it was generally believed that, to exert its maximum protective effect, fluoride had to become incorporated into dental enamel during development. Thus, it was considered unavoidable to have a certain prevalence and severity of fluorosis in a population to minimize the prevalence and severity of caries among children.¹ By 1981, a paradigm shift was proposed concerning the cariostatic mechanisms of fluorides.¹ This considered that the predominant, if not entire, explanation for how fluoride controls caries lesion development lies on its topical effect on de- and remineralization processes taking place at the interface between the tooth surface and the oral fluids. This concept gained wide acceptance²⁻⁵ and brought the possibility of obtaining maximum caries protection without a significant ingestion of fluorides. Having this in mind, researchers in the whole world turned their attention toward controlling the amount of fluoride intake, which associated with the increase in fluorosis prevalence in both fluoridated and in non-fluoridated areas.⁶⁻¹¹

The most important risk factor for fluorosis is the total amount of fluoride consumed from all sources during the critical period of teeth development.¹²⁻¹⁵ The permanent maxillary central incisors are of greatest cosmetic importance and they appear most at risk of fluorosis between ages of fifteen and twenty-four months for males and between twenty-one and thirty months for females.¹⁶ However, a meta-analysis of the risk periods associated with the development of dental fluorosis in maxillary permanent central incisors has shown that the duration of excessive fluoride exposure throughout amelogenesis, rather than specific risk periods, would seem to explain the development of dental fluorosis.¹⁷ Therefore, one should concern about fluoride intake for children up to 3 years of age, in order to prevent fluorosis in upper incisors, which are the most relevant teeth from an aesthetic point of view.

The maximum daily fluoride intake dose, above which the risk of dental fluorosis increases, is

* Dirección postal: Al. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75. Departamento de Ciências Biológicas/Bioquímica. Bauru-SP, Brasil 17012-901. Correo electrónico: mbuzalaf@fob.usp.br



not precisely defined yet. Some authors regard to 0.1 mg F/kg body weight per day as the exposure level above which dental fluorosis occurs,¹⁸ although other authors have found dental fluorosis with a daily fluoride intake of less than 0.03 mg F/kg body weight per day from water.¹⁹ In the latter study, however, the teeth were dried in order to detect the mildest forms of fluorosis. Despite its dubious genesis, based on empirical evidences, a daily fluoride intake between 0.05 and 0.07 mg/kg body weight per day is generally regarded as optimum for control of dental caries and to avoid aesthetically concerning dental fluorosis.^{20,21} Other factors that may increase the susceptibility of individuals to dental fluorosis are altitude,^{22, 30} renal insufficiency,³¹⁻³⁴ and malnutrition.^{30, 35} Some of these factors, however, can produce enamel changes that resemble dental fluorosis in the absence of significant exposure to fluoride.

Recent data show a prevalence of dental fluorosis of 8.56% in 12-year-old Brazilian children.³⁶ However, previous Brazilian studies have shown that the prevalence for dental fluorosis changes across the communities, ranging from zero³⁷ to 97.6%.³⁸ For the few studies that referred to the major cases of severity, it was attributed to endemic fluorosis and was due to high levels of fluoride in the naturally fluoridated drinking water. Concern with the increase in the prevalence of fluorosis has led many investigators to evaluate the fluoride concentration of potential sources, as well as to estimate the fluoride intake from all sources, especially in children.³⁹⁻⁵⁶ These studies have identified four major risk factors: use of fluoridated drinking water, fluoride supplements, fluoride dentifrice, and infant formulas.¹⁵ Some manufactured infant foods and drinks may also be important contributors to total daily fluoride intake.⁵⁵⁻⁶² The purpose of this review is to summarize the recent literature on the risk factors for dental fluorosis, describing multiple sources of fluoride intake identified until now, as well as some measures that should be adopted to reduce the fluoride intake. This information is of fundamental interest to clinicians that deal with children, in order that an adequate counseling regarding fluoride intake can be done to their parents.

Fluoridated drinking water

Fluoridation of community drinking water is recognized as one of ten great public health achievements in the world.⁶³ Although other fluoride-containing products are available, water fluoridation remains the most equitable and cost-effective method of delivering fluoride to all members of most commu-

nities, regardless of age, educational attainment, or income level. Mean water fluoridation costs are around US\$ 0.72 per person per year in USA⁶⁴ and R\$ 1.00 (=US\$ 0.45) in Brazil.⁶⁵

Since 1942, Dean et al.¹² stated that some 10% of children in optimally fluoridated (1.0 ppm) areas were affected by mild or very mild fluorosis in the permanent teeth and that less than 1% were so affected in low-fluoride areas. These degrees of prevalence were recorded prior to the availability of fluoridated dental products, when fluoridated drinking water was the only significant source of fluoride intake. In addition, current studies support the view that dental fluorosis has increased in both fluoridated and non-fluoridated communities.^{11,66} In North America, the prevalence of dental fluorosis now ranges between 7.7% to 69% in fluoridated communities, and from 2.9% to 42% in non-fluoridated communities. The studies done after the 1980s have shown the highest prevalences.¹⁵ The studies by Spuznar, Burt⁶⁷ and Riordan⁶⁸ are in agreement that the risk of fluorosis in areas where the water fluoride concentration is 0.8 ppm is four times higher than in non-fluoridated communities.⁶⁷⁻⁶⁹ In a systematic review of 214 studies on water fluoridation, McDonagh et al.⁷⁰ estimated that at a fluoride level of 1 ppm in the drinking water, 12.5% of exposed people would have fluorosis that they would find of esthetic concern, a prevalence much higher than that reported by Dean¹² who found virtually no cases of moderate or severe fluorosis. However, in fluoridated areas with more than 1 mg F/L, dental fluorosis risk is higher than in sub-optimally fluoridated areas.^{71, 72}

Of special interest when analyzing the impact of water fluoride on dental fluorosis are the studies that take advantage of breaks on water fluoridation to assess dental fluorosis on different birth cohorts. In this sense, Burt et al.⁷³ assessed the impact of an unplanned break of 11 months in water fluoridation and concluded that enamel fluorosis is sensitive to even small changes in fluoride exposure from drinking water, and this sensitivity is greater at 1 to 3 years of age than at 4 or 5 years. However, in a subsequent study the prevalence of enamel fluorosis, that was expected to increase in the next cohort examined due to the resumption of fluoridation, remained stable.⁷⁴ Buzalaf et al.⁷⁵ analyzed the effect of a 7-year interruption in water fluoridation on the prevalence of enamel fluorosis in Jaú, state of São Paulo, Brazil. The authors found a lower prevalence of enamel fluorosis in the maxillary central incisors of children that were 36, 27 and 18

months old when water fluoridation ceased when compared to children that were born 18 months after fluoridation was interrupted. These results suggest that the fluoridated water is not an important risk factor for enamel fluorosis, since the prevalence of enamel fluorosis was lower when fluoridated water was used.

The present-day prevalence of fluorosis indicates that some young children are ingesting fluoride from sources in addition to that in drinking water. A recent study estimated the total daily fluoride intake of 1-3-year-old children from diet and dentifrice. The constituents of the diet were divided into solids, water plus milk and other beverages, which were analyzed for fluoride separately. The dentifrice alone was responsible for 81.5% of the daily fluoride intake in average, while among the constituents of the diet, water and milk were the most important contributors and were responsible for around 60% of the total contribution of the diet.⁵¹ However, since diet has a low contribution to the total fluoride intake (less than 20%), water fluoride probably has its greatest impact on fluorosis prevalence indirectly, through its use in the processing of infant formulas, and other children's foods and beverages.²¹ Taking into account the risks and benefits of public water fluoridation, as well as the prevalence and severity of dental fluorosis found today, it is completely unjustifiable to stop water fluoridation in order to avoid dental fluorosis, especially in countries like Brazil, where many people do not have access to other fluoride sources, such as dentifrices.

In order to minimize the possible impact of water fluoridation on dental fluorosis, some measures are necessary. One of them is the external control over water fluoridation. In Bauru, São Paulo, Brazil, fluctuations in public water fluoride levels had been reported, with values ranging from 0.01 to 9.35 ppm,⁵³ which is completely unacceptable. In order to contribute to the improvement of the quality of public water fluoridation, a program of external control was implemented by Bauru Dental School, University of São Paulo, in 2004. As part of this program, every month, in random days established by drawing, samples are collected in 60 points of water supply, covering the entire city. The results obtained 1 year after the implementation of this program indicated a significant improvement in the quality of water fluoridation in the city. Around 85% of the samples collected were classified as acceptable (0.55-0.84 ppm F). Thus, the external control is an important measure to assure the quality control of water fluoridation and programs like this

should be implemented in all cities that artificially fluoridate their public water supplies.⁷⁶

Another important measure is to avoid the use of fluoridated water (around 1 ppm) to dilute powdered milk, juices, and infant formulas for children. The recommendation in this case is the use of bottled mineral water with relatively low fluoride content instead of fluoridated water.^{52, 56, 77} Most of the brands of bottled water in Brazil have low fluoride content and should be adequate for this purpose.^{78, 79} However, in some cases it is not possible for the consumers to trust on the information stated on the labels of the products. Unexpected high fluoride concentrations have been reported in several brands of bottled water commercially found in Brazil,⁷⁸ differently of the information stated on their labels. This reinforces the need of a more rigorous surveillance by the competent public health authorities, since the consumption of bottled water in some Brazilian cities has been reported to be around 30%.⁷⁸

Fluoride in dentifrices

Association between the use of dentifrice fluoride and prevalence of dental fluorosis has been widely reported both in fluoridated and in non-fluoridated communities.⁸⁰

A study of 157 patients aged 8-17 years attending a university pediatric dentistry clinic in Iowa City identified exposure to fluoride water and fluoride dentifrice as risk factors for dental fluorosis.⁸¹ A larger study of a similar design was conducted in a pediatric dental practice in Asheville, North Carolina.⁸² This study found that initiating tooth brushing with fluoride dentifrice prior to age two was significantly associated with dental fluorosis. In addition, for those drinking non-fluoridated water, daily fluoride supplement use was strongly associated with dental fluorosis.

Of particular interest are a series of well-designed case control studies conducted by Pendry and co-workers⁸³⁻⁸⁵ in both fluoridated and non-fluoridated areas in New England. In these studies, parents completed detailed, self-administered questionnaires regarding infant feeding patterns, residence history, fluoride supplement use, brushing (with fluoridated dentifrice) frequency, and amount of dentifrice used per brushing up to eight years of age. Among residents in fluoridated areas, mild-to-moderate dental fluorosis was associated with inappropriate supplement use, frequent brushing prior age of eight, and use of larger than pea-sized



amounts of dentifrice. The estimated percentage of cases of dental fluorosis attributable to greater dentifrice use was 21%.^{84, 86}

Among residents of non-fluoridated areas, Pendrys, Katz⁸³ found that mild-to-moderate dental fluorosis was strongly associated with fluoride supplement use and high household income, but the use of infant formula and fluoride dentifrice were not associated with increased risk for fluorosis. However, a later study⁸⁵ identified fluoride supplement use and frequent, early toothbrushing habits as significantly associated with mild-to-moderate fluorosis in both early and late enamel forming surfaces in the permanent teeth.

As a follow up to their trial of low fluoride dentifrice in children between the ages of three to five years in a fluoridated area⁸⁷ Holt and co-workers⁸⁸ compared the prevalence of dental fluorosis among high (1,055 ppm F) and low (550 ppm) fluoride dentifrice groups, when children were 9-10 years of age. This study found that use of fluoride supplements and use of standard dentifrice (1,055 ppm F) significantly increased the risk of dental fluorosis in the permanent teeth.

In their study of eight-year-old Norwegian children whose water was not fluoridated, Wang and co-workers⁸⁹ identified regular supplement use and use of fluoride toothpaste prior to age 14 months as the only significant risk factors for dental fluorosis.

Rock, Sabieha⁹⁰ conducted a study of 325 8-9-year-old children living in optimally-fluoridated Birmingham, England and found a strong association between fluorosis in the maxillary central incisors and early dentifrice use and use of dentifrice with a high (1,500 ppm) fluoride concentration. It was also observed that a higher proportion of children without fluorosis had used a commercially available low-fluoride dentifrice.

However, all the studies mentioned above have retrospectively assessed fluoride exposures, often eight to ten years after the exposures had occurred. Thus, all studies relating dentifrice use to dental fluorosis are prone to recall bias. Nevertheless, there is now compelling evidence that the early use of fluoride dentifrice is an important risk factor for dental fluorosis, as young children swallow considerable amounts of dentifrice.⁸⁰ In fact, the amount of fluoride ingested is inversely related to the age of the child. Dentifrices with a fluoride concentration of 1,000 ppm contain 1.0 mg of fluoride per gram.

In children younger than 6 years of age, the mean quantity of dentifrice per brushing episode is about 0.55 g,⁹¹ corresponding to a fluoride exposure of about 0.55 mg. An average of 48% of this amount is ingested by 2- to 3-year olds, 42% by 4-year-olds and 34% by 5-year-olds.⁹¹⁻⁹⁴ Assuming mean body weights of 15, 18 and 20 kg, respectively, fluoride intake from one brushing per day results in ingestion of 18, 13 and 9 µg/kg/day, respectively. So, it is evident that toothbrushing substantially increases the fluoride exposure, particularly for 2- to 3-year-old children, and, of course, especially for children that brush more than once daily.⁹⁵ Information like this for economically developing countries is rare.⁹⁶ Studies conducted with 2-3-year-old Brazilian children, that lived in areas with fluoridated water, showed that they ingested 0.061 mg fluoride/kg body weight per day (range 0.011-0.142) from dentifrice⁹⁷ and that dentifrice contributed with 55% of the total amount of fluoride ingested daily.⁶⁷ A more recent study conducted in Brazil⁵¹ involving 1-3-year-old children reported that they ingested 0.106 mg fluoride/kg body weight per day (range 0.004-0.401) from dentifrice, which corresponds to 81% of the total daily fluoride intake.

Based on these findings, it is clear that measures to reduce fluoride intake by children at risk of dental fluorosis are necessary. Two alternatives have been suggested. The first one would be to reduce the amount of dentifrice used. This is an important measure, but we cannot forget that nowadays in most families both parents work and people who take care of the children not always follow parents' instructions. In addition, the flavor of most children dentifrices encourages ingestion. Because of this, it has been proposed that dentifrices with lower fluoride concentrations should be developed and marketed for use by young children, as has been done in many countries.^{98, 99} The European Academy of Paediatric Dentistry¹⁰⁰ advises the use of a very small amount of low fluoride dentifrice from 6 months to 2 years of age and the use of a pea-sized (around 0.25 g) amount of 500 ppm fluoride twice daily from 2 to 6 years. A higher fluoride concentration dentifrice (1,000-1,500 ppm) should be used as soon as the first permanent molars erupt. However, in some countries (like USA) the sale of low fluoride dentifrices is not allowed until large clinical trials have demonstrated safety and efficacy. It is possible that reducing the fluoride concentration of dentifrices could reduce the anti-caries effectiveness. Therefore, the ideal lower fluoride dentifrice should not only reduce fluoride ingestion, but also be equally effective in caries control as currently

marketed formulations of 1,000-1,100 ppm fluoride. Following this rationale, the reduction of the pH of the dentifrice to 5.5¹⁰¹ or 4.5¹⁰² has been reported to significantly increase the effectiveness of low fluoride (500 ppm) dentifrices with respect to the inhibition of mineral loss of enamel blocks *in vitro*. The reduction of the pH of the dentifrices also led to an increase in salivary fluoride concentration after toothbrushing, without increasing the bioavailability of fluoride.¹⁰³ However, before these formulations can be widely recommended, they have to be tested in randomized clinical trials.

There have been many longitudinal clinical trials of the effectiveness of dentifrices with lower fluoride concentrations. Some of them found no significant differences between standard (1,000-1,100 ppm) and low fluoride dentifrices (250-550 ppm fluoride).¹⁰⁴⁻¹⁰⁶ In contrast, Reed,¹⁰⁷ Mitropoulos and co-workers¹⁰⁸ and Koch and co-workers¹⁰⁹ found the low-fluoride dentifrices to be somewhat less effective than the 1,000 ppm dentifrices. Ammari et al.¹¹⁰ conducted a systematic review of studies comparing the anti-caries efficacy of children's toothpaste containing 600 ppm of fluoride or less with high fluoride toothpastes of 1,000 ppm or above. Seven randomized controlled trials were included. These were categorized into two groups depending on the fluoride concentration in the low fluoride group (250 and 500 ppm) and analyzed separately. The authors concluded that 250 ppm fluoride dentifrices were not as effective in caries prevention in permanent dentition as dentifrices containing 1,000 ppm. For more. However, for the 500 ppm fluoride dentifrices, only two studies were in this category, and one of them failed to present the baseline caries levels, so a meta-analysis could not be carried out. Thus, additional studies are required to test the anticaries efficacy of 500 against 1,000 ppm and above dentifrices.

Even without corroborating studies, it appears that the best balance between prevention of caries and dental fluorosis favors reduced concentrations of about 500-550 ppm fluoride for preschoolers. However, those groups or individuals judged to be at increased risk for dental caries might have a more favorable benefit/risk ratio with the use of standard 1,000-1,100 ppm fluoride dentifrices. While additional studies are needed for young children that are not at high risk for caries but may be at risk for dental fluorosis, it is appropriate to consider recommendations that dentifrices containing 500-550 ppm fluoride be marketed and endorsed for use by preschool children.

Three factors have an important influence on the anticaries efficacy of fluoride dentifrices, namely concentration, frequency of brushing and post brushing rinsing behaviour. Low-fluoride dentifrices (500 ppm) are appropriate for very young children (under 7 years) at low caries risk, particularly if living in fluoridated areas. For other young children, higher concentrations of fluoride should be used. Brushing should be recommended twice daily, whilst rinsing with large volumes of water should be discouraged. Since small amounts of dentifrice are comparable in efficacy to large amounts, to minimize fluorosis risk, parents should be advised to use only a pea-sized amount (0.25 g) of toothpaste and encourage spitting out of excess.^{111, 112} In addition, official health organs should review labeling requirements for dentifrice to make the fluoride concentrations more apparent and should formulate guidelines for instructions regarding prudent use in young children. Furthermore, manufacturers should be encouraged to aggressively market dentifrice dispensers with small orifices or fixed amount "pumps" for use by young children. They should be encouraged or required also to warn parents concerning excessive use and ingestion of dentifrices flavored for children.⁸⁰

Dietary Fluoride Supplements

Fluoride supplements are recommended for children living in fluoride deficient areas. The recommended daily dose is based on the age of the child and on the fluoride concentration in the drinking water. However, there are many reports showing that supplements are prescribed inappropriately to children in fluoridated areas.^{82, 113, 114}

Many studies have identified fluoride supplements as risk factors for dental fluorosis, both in fluoridated^{84, 115, 116} and non-fluoridated areas.^{6, 82, 83, 85, 88, 89, 115, 117} In fluoridated areas the risk of dental fluorosis from use of fluoride supplements is almost 4 times higher than in non-fluoridated areas.^{15, 69}

The use of fluoride supplements should be more conservative, restricted for children at high caries risk and with low fluoride intake from other sources, including tap water, bottled water, other beverages, foods and even dentifrice.^{40, 42, 118} Actually, nowadays, due to multiple sources of fluoride, considering only the fluoride content of tap water is not safe to prescribe fluoride supplements.⁴¹ Fluoride supplements should not be given for children younger than 5 years of age,⁹⁵ independently if the children consume or not fluoridated water.



In Brazil, there are many studies reporting a high (and inappropriate) prescription of fluoride supplements by pediatricians and pediatric dentists.¹¹⁹⁻¹²³ These findings reinforce the continued need to educate dentists, pediatricians, and other medical practitioners as to the proper use of fluoride, in particular the importance of not prescribing fluoride supplements to children who live in optimally fluoridated areas.

Infant formulas

Consumption of infant formulas has greatly increased in the last years. A study conducted with¹⁰⁷ American babies showed that 37% of 3-month-old infants were exclusively breast-fed, decreasing to 8% at 6 months of age, 2% at 9 months of age and none at 12 months of age. Among babies who consumed infant formulas, the use of powdered concentrated formulas increased from 48% at 3 months of age to 75% at 12 months of age.⁴⁰ Commercially prepared infant formulas are available as powders, as concentrated liquids, or ready-to-feed.

Concentration of fluoride in infant formulas shows wide variations. For infant powdered formulas currently marketed in Brazil, Buzalaf et al.⁵² found fluoride concentrations ranging from 0.01 to 0.75 ppm when prepared with deionized water, from 0.91 to 1.65 ppm when prepared with fluoridated drinking water (0.9 ppm F), and from 0.02 to 1.37 ppm when prepared with different brands of bottled mineral water. In Australia, Silva and Reynolds⁷⁷ found fluoride concentrations ranging from 0.031 to 0.532 ppm for powdered formulas prepared with non-fluoridated water. In Thailand and Japan values ranging from 0.14 to 0.64 ppm and 0.37 to 1 ppm, respectively, were found.⁴⁵ Latifah and Razak¹²⁴ analyzed infant formulas marketed in Malaysia and observed fluoride concentrations ranging from 0.100 to 0.158 ppm when prepared with deionized water, and from 0.346 to 0.395 ppm, when prepared with fluoridated water (0.379 ppm). In the study conducted by Van Winkle et al.,¹²⁶ fluoride concentration of ready-to-feed, concentrated liquid and powdered formulas prepared with deionized water was 0.17, 0.12 and 0.14 ppm, respectively.

Soy-based infant formulas have been reported to have somewhat higher fluoride concentrations than milk-based formulas.^{52, 77, 124, 125} In the study by Latifah and Razak,¹²⁴ soy-based formulas showed values ranging from 0.236 to 0.438 ppm when prepared with deionized water and from 0.447 to 0.473 ppm when prepared with fluoridated water (0.379

ppm fluoride). According to Silva and Reynolds,⁷⁷ consumption of soy-based formulas would provide a fluoride level above the threshold dose of 0.07 mg F/Kg body weight per day, for 1-month-old children. These findings are in agreement with reports by Buzalaf et al.⁵² and McKnight-Hanes et al.¹²⁵

Considering infant formulas as a risk factor for dental fluorosis, the most important factor is the water used for reconstituting them. Many studies have reported that when infant formulas are reconstituted with optimally fluoridated water (around 0.8 ppm), they can provide to infants a daily fluoride intake above that likely to cause some degree of dental fluorosis.^{52, 56, 77, 124, 125}

Bottled mineral water has usually low fluoride concentration. Hence, it is recommended to prepare concentrated and powdered infant formulas.^{52, 56, 78, 79, 118, 126-129}

Manufactured infant foods and beverages

During infancy important sources of fluoride are considered to be commercially available foods and beverages. Many studies have shown that the fluoride concentrations of infant foods and beverages span a wide range and depend mainly on the fluoride concentration in the water used to manufacture them.¹³⁰⁻¹³² Market basket studies are important for the knowledge of the fluoride concentration in manufactured foods and beverages, since there is no law that obliges this information to be stated on the products' labels.

Beikost is a collective term for foods other than milk or formula fed to infants. The fluoride concentration of most beikost is quite modest.¹³¹ However, some cereals in Brazil have been shown to have higher fluoride concentrations than would be expected. This is the case for Mucilon and Neston, which have fluoride concentrations of 2.44 and 6.2 ppm, respectively. A relatively high fluoride concentration was also found in a ready-to-drink chocolate milk (1.2 ppm, Toddynho, Quaker). When one of these products is consumed just once a day it can provide as much as 25% of the fluoride intake believed to be associated with increased risk for dental fluorosis of esthetic concern for a 2-year-old child.⁵⁹

Soft drinks have variable contents of fluoride. Fluoride concentration of carbonated beverages in Brazil has been reported to range from 0.05 to 0.79 ppm.¹³³ This variation is due to fluctuations of fluoride levels in the water used to manufacture these beverages.

Powdered juices usually have low fluoride concentrations. Heintze and Bastos¹³³ found a mean of 0.6 ppm for Brazilian products. In another study conducted by Bastos et al. (2000), 30.76% of the analyzed juices had fluoride concentrations between 0.25 and 0.5 ppm, and 26.2% below 0.1 ppm. The highest values were found for guarana and grape powdered juices. Since it is a common practice to use fluoride containing pesticides for growing grapes, it is believed that contamination of these juices has occurred.¹³⁴

Buzalaf et al.⁵⁴ reported fluoride concentrations around 2.57±0.99 ppm for black tea infusions (*Camellia sinensis*), 0.37±0.20 ppm for ready-to-drink teas, and 1.10±0.15 ppm for tea-containing powdered juices. For the tea with the highest fluoride concentration (black tea, Apichá, 3.99 mg F/mL), when only 200 mL are consumed just once a day, this may provide up to 100% of the upper limit of the ranges of estimates believed to be associated with increased risk of enamel fluorosis for a 2-year-old child (12 kg). Although fluoride present in tea is bioavailable, its contribution to the fluoride intake is low, since its consumption is usually modest.¹³⁵

Regarding the fluoride content of infant foods, Heilman et al.¹³⁶ reported a wide variation, between 0.01 and 8.30 ppm. Chicken presented the highest

values (between 1.05 to 8.38 ppm). In a study conducted by Chittaisong et al.⁴⁵ foods showed a fluoride concentration between 0.21 and 0.88 ppm, except for one of the brands of fish-based food analyzed that had 2.94 ppm fluoride. These results are not in agreement with those observed by Nishijima et al.¹³⁷ that found values ranging from 0.54 to 0.86 ppm for meat and fish-based food. Also Trautner and Siebert¹³⁵ reported chicken and fish to be poor sources of fluoride.

Since the manufacturers are not required to have the fluoride content of the products displayed on the labels, only by market baskets researches and fluoride assay it is possible to know their fluoride content. Table 1 presents the fluoride concentration in a variety of foods and beverages commercially available in Brazil (µg fluoride/100 g). It must be highlighted that the general public usually does not have access to these data. Thus, the health professionals must be up-to-date with respect to this information, in order to adequately advise the parents of children at the age of risk to dental fluorosis. The general recommendation is that children under the age of 7 and mainly between 2 and 3 years of age must avoid the consumption of products with high-fluoride content, since they can significantly contribute to the total daily fluoride intake, thus increasing the risk of dental fluorosis, especially when associated with other fluoride sources.

Table 1. Fluoride concentration in Brazilian foods and beverages

Foods and beverages (100 g)	Fluoride concentration (µg)
1 Stewed Rice	11.70
2 Stewed potato / mashed potato	14.20
3 French fries	6.30
4 Non-filled biscuits (Tucs [®])	91.40
5 Filled Chocolate biscuits / wafer	3.30
6 Cereal (Snowflakes [®])	164.00
7 Pasta with sauce	15.54
8 Noodles	51.10
9 Bread	43.30
10 Corn starch (Maizena [®] , Farinha Láctea [®] , Mucilon [®] , Cremogema [®])	144.30
11 Bean	3.80
12 Pumpkin	3.50
13 Lettuce	2.50
14 Cabbage/ spring greens	5.00
15 Tomato	2.00
16 Tomato sauce	4.20
17 Carrot	0.70
18 Chayote	1.70
19 Manioc	11.90



Table 1. Fluoride concentration in Brazilian foods and beverages

Foods and beverages (100 g)	Fluoride concentration (µg)
20 Banana	1.00
21 Apple / Pear	1.80
22 Orange	0.40
23 Oranje juice	0.40
24 Concentrated pineapple and passion fruit juices	0.60
25 Papaya	1.10
26 Guava	4.30
27 Beef	3.00
28 Stewed meat	3.00
29 Sausage (Perdigão®)	65.80
30 Ham (Sadia®)	9.50
31 Liver beef	5.00
32 Chicken	9.60
33 Fish	9.20
34 Egg	1.00
35 Whole UHT milk	1.50
36 Powdered milk diluted with public fluoridated water ³	141.49
37 Powdered milk diluted with bottled mineral water ³	43.97
38 Fruit yogurt	86.00
39 Infant yogurt (Danoninho® / Chambinho®)	32.30
40 Fermented milk (Yakult® / Chamyto®)	13.20
41 Butter	68.20
42 Cheese (Tirolez®)	6.80
43 Cheese curds	12.90
44 Sugar	20.88
45 Powdered chocolate (Nescau® / Toddy®)	21.70
46 Cake / Chocolate cake (Dona Benta®)	25.30
47 Chocolate	11.00
48 Snacks / Chips	31.80
49 Risotto	5.60
50 Meat soup – vegetables / bean / noodle	11.00
51 Soup – vegetables/ bean / noodle	8.00
52 Cheese bread	25.60
53 Cheese Pizza (Perdigão®)	20.90
54 Sandwich	7.70
55 Coffee with sugar	18.49
56 Carbonated soft drinks (Coca-Cola®)	24.00
57 Powdered juice (Tang®)	25.80
58 Infused manufactured tea	33.50
59 Black tea (Apichá)	302.10
60 Powdered soy milk diluted with public fluoridated water ¹	83.70
61 Powdered soy milk diluted with bottled mineral water ¹	86.18
62 Chocolate flavoured milk (Toddynho®)	118.70
63 Sports drink (Gatorade®)	2.30
64 Cereal (Neston®)	616.30
65 Biscuit (Danyt's®)	706.00
66 Chocolate bar	12.00
67 Chocolate (M&Ms®)	160.00

¹ 30 g powder/184 mL water

References

1. Fejerskov O, Thylstrup A, Larsen MJ. Rational use of fluorides in caries prevention. *Acta Odontol Scand* 1981; 39: 241-9.
2. Ten Cate JM, Duijsters PPE. Influence of fluoride in solution on tooth demineralization. I. Chemical data. *Caries Res* 1983; 17: 513-9.
3. Ten Cate JM, Featherstone JDB. Mechanistic aspects of the interactions between fluoride and dental enamel. *Crit Rev Oral Biol Med* 1991; 2: 283-96.
4. Ögaard B, Rolla G, Ruben J, Dijkman T, Arends J. Microradiographic study of remineralization of shark enamel in human caries model. *Scand J Dent Res* 1988; 96: 209-11.
5. Ögaard B. Effects of fluoride mouthrinsing on caries lesion development in shark enamel; an in situ caries model study. *Scand J Dent Res* 1991; 99: 372-7.
6. Jackson RD, Kelly SA, Katz B, Brizendine E, Stookey GK. Dental fluorosis in children residing in communities with different water fluoride levels: 33-month follow-up. *Pediatr Dent* 1999; 21: 248-54.
7. Leverett DH. Prevalence of dental fluorosis in fluoridated and in non-fluoridated communities-a preliminary investigation. *J Publ Health Dent* 1986; 46: 184-7.
8. Tabari ED, Ellwood R, Rugg-Gunn AJ, Evans DJ, Davies RM. Dental fluorosis in permanent incisor teeth in relation to water fluoridation. Social deprivation and toothpaste use in infancy. *Br Dent J* 2000; 189: 216-20.
9. Tsutsui A, Yagi M, Horowitz AM. The prevalence of dental caries and fluorosis in Japanese communities with up to 1.4 ppm of naturally occurring fluoride. *J Publ Health Dent* 2000; 60: 147-53.
10. Pereira AC, Da Cunha FL, Meneghim M de C, Werner CW. Dental caries and fluorosis prevalence study in a nonfluoridated Brazilian community: trend analysis and toothpaste association. *ASDC J Dent Child* 2000; 67: 132-5.
11. Khan A, Moola MH, Cleaton-Jones P. Global trends in dental fluorosis from 1980 to 2000: a systematic review. *South Afr Dent J* 2005; 60: 418-21.
12. Dean HT, Arnold FA, Elvove E. Domestic water and dental caries V. Additional studies of the relation of fluoride domestic waters to dental caries experience in 4,425 white children aged 12-14 years in 13 cities in 4 states. *Public Health Rep* 1942; 57: 1155-79.
13. Denbesten PK. Biological mechanisms of dental fluorosis relevant to the use of fluoride supplements. *Community Dent Oral Epidemiol* 1999; 27: 41-7.
14. Evans DJ. A study of developmental defects in enamel in 10-year-old high social class children residing in a non-fluoridated area. *Community Dent Health* 1991; 8: 31-8.
15. Mascarenhas AK. Risk factors for dental fluorosis: A review of the recent literature. *Pediatr Dent* 2000; 22: 269-77.
16. Evans RW, Darvell BW. Refining the estimate of the critical period for susceptibility to enamel fluorosis in human maxillary central incisors. *J Publ Health Dent* 1995; 55: 238-49.
17. Bardsen A. "Risk periods" associated with the development of dental fluorosis in maxillary permanent central incisors; a meta-analysis. *Acta Odontol Scand* 1999; 57: 247-56.
18. Forsman B. Early supply of fluoride and enamel fluorosis. *Scand J Dent Res* 1977; 8: 22-30.
19. Baelum V, Fejerskov O, Manji F, Larsen MJ. Daily dose of fluoride and dental fluorosis. *Tandlaegebladet* 1987; 91: 452-6.
20. Ophaug RH, Singer L, Harland BF. Estimated fluoride intake of 6-month-old infants in four dietary regions of the United States. *Am J Clin Nutr* 1980; 33: 324-7.
21. Burt BA. The changing patterns of systemic fluoride intake. *J Dent Res* 1992; 71: 1228-37.
22. Angmar-Mansson B, Whitford GM. Environmental and physiological factors affecting dental fluorosis. *J Dent Res* 1990; 69(Spec Issue): 706-13.
23. Irigoyen ME, Molina N, Luengas I. Prevalence and severity of dental fluorosis in a Mexican community with above-optimal fluoride concentration in drinking water. *Comm Dent Oral Epidemiol* 1995; 23: 243-5.
24. Mabelya L, Konig KG, van Palenstein Helderman WH. Dental fluorosis, altitude and associated dietary factors (short communication). *Caries Res* 1992; 26: 65-7.
25. Mabelya L, van Palenstein Helderman WH, van't Hof MA, Konig KG. Dental fluorosis and the use of a high fluoride-containing trona tenderizer (magadi). *Comm Dent Oral Epidemiol* 1997; 25: 170-6.
26. Manji F, Baelum V, Fejerskov O, Gemert W. Enamel changes in two low-fluoride areas of Kenya. *Caries Res* 1986; 20: 371-80.
27. Rwenyonyi C, Bjorvatn K, Birkeland J, Haugejorden O. Altitude as a risk indicator of dental fluorosis in children residing in areas with 0.5 and 2.5 mg fluoride per litre in drinking water. *Caries Res* 1999; 33: 267-74.
28. Whitford GM. The physiological and toxicological characteristics of fluoride. *J Dent Res* 1980; 69(Spec): 539-49.
29. Whitford GM. Determinants and mechanisms of dental fluorosis. *CIBA Found Symp* 1997; 205: 226-45.
30. Yoder KM, Mabelya L, Robison VA, et al. Severe dental fluorosis in a Tanzanian population consuming water with negligible fluoride concentrations. *Comm Dent Oral Epidemiol* 1998; 26: 382-93.
31. Juncos LI, Donadio JV Jr. Renal failure and fluorosis. *JAMA* 1972; 222: 783-5.
32. Kaminsky LS, Mahoney MC, Leach J, Melius J, Miller MJ. Fluoride: benefits and risks of exposure. *Crit Rev Oral Biol Med* 1990; 1: 261-81.
33. Porcar C, Bronsoms J, Lopez-Bonet E, Valles M. Fluorosis, osteomalacia and pseudohyperparathyroidism in a patient with renal failure. *Nephron* 1998; 79: 234-5.
34. Turner CH, Owan I, Brizendine EJ, et al. High fluoride intakes cause osteomalacia and diminished bone strength in rats with renal deficiency. *Bone* 1996; 19: 595-601.
35. Rugg-Gunn AJ, Al-Mohammadi SM, Butler TJ. Effects of fluoride level in the drinking water, nutritional status and socio-economic status on the prevalence of developmental defects of dental enamel in permanent teeth in Saudi 14-year-old boys. *Caries Res* 1997; 31: 259-67.
36. Brazilian Health Bureau of State. Project SB Brasil 2003. Oral health conditions of Brazilian people 2002-2003. Brasília DF. 52p (in Portuguese).



37. Campos C, Toledo AO, Bezerra AC. Prevalência de fluorose dentária em escolares de Brasília, Distrito Federal. *Rev Odontol USP* 1998; 12: 225-30.
38. Capella LF, Carcereri DL, Paiva SM, Rosso RA, Paixão RF, Saltori EK. Ocorrência de fluorose dentária endêmica. *Rev Gaúcha Odontol* 1989; 36: 371-5.
39. Ophaug RH, Singer L, Harland BF. Dietary fluoride intake of 6-month-old and 2-year-old children in four dietary regions of the United States. *Am J Clin Nutr* 1985; 42: 701-7.
40. Levy SM, Maurice TJ, Jakobsen JR. Feeding patterns, water sources and fluoride exposures of infants on 1 year-old. *J Am Dent Assoc* 1993; 124: 65-9.
41. Levy SM, Kohout FJ, Guha-Chowdhury N, et al. Infants' fluoride intake from drinking water alone and from water added to formula beverages and food. *J Dent Res* 1995; 74: 1399-1407.
42. Levy SM, Kohout FJ, Kiritsy MC, Heilman JR, Wefel JS. Infants' fluoride ingestion from water supplements and dentifrice. *J Am Dent Assoc* 1995; 126: 1625-32.
43. Levy SM, Warren JJ, Davis CS, et al. Patterns of fluoride intake from birth to 36 months. *J Publ Health Dent* 2001; 61: 707.
44. Clovis J, Hargreaves JA. Fluoride intake from beverage consumption. *Community Dent Oral Epidemiol* 1988; 16: 11-5.
45. Chittaisong C, Koga H, Maki Y, Takaesu Y. Estimation of fluoride intake in relation to F, Ca, Mg, and P contents in infant formulas. *Bull Tokyo Dent Coll* 1995; 36: 19-26.
46. Chowdhury NG, Brown RH, Shepherd MG. Fluoride intake of infants in New Zealand. *J Dent Res* 1990; 69: 1828-33.
47. Guha-Chowdhury N, Drummond BK, Smillie AC. Total fluoride intake in children aged 3 to 4 years – a longitudinal study. *J Dent Res* 1996; 75: 1451-7.
48. Kimura T, Morita M, Kinoshita T, et al. Fluoride intake from food and drink in Japanese children aged 1-6 years. *Caries Res* 2001; 35: 47-9.
49. Lima YBO, Cury JA. Ingestão de fluoreto por crianças pela água e dentifrício. *Rev Saúde Pública* 2001; 35: 576-81.
50. Pessan JP, Silva SMB, Buzalaf MAR. Evaluation of the total fluoride intake of 4-7-year-old children from diet and dentifrice. *J Appl Oral Sci* 2003; 11: 150-6.
51. Almeida BS, Cardoso VES, Buzalaf MAR. Fluoride ingestion from toothpaste and diet in 1-3-year-old Brazilian children. *Comm Dent Oral Epidemiol* 2007; 35: 53-63.
52. Buzalaf MAR, Granjeiro JM, Damante CA, de Ornelas F. Fluoride content in infant formulas prepared with deionized bottled mineral and fluoridated drinking water. *ASDC J Dent Child* 2001; 68: 37-41.
53. Buzalaf MAR, Granjeiro JM, Damante CA, de Ornelas F. Fluctuations in public water fluoride concentrations in Bauru, Brazil. *J Public Health Dent* 2002; 62: 173-6.
54. Buzalaf MAR, Bastos JRM, Granjeiro JM, et al. Fluoride content of several brands of teas and juices found in Brazil and risk of dental fluorosis. *Rev FOB* 2002; 10: 263-7.
55. Buzalaf MAR, Almeida BS, Cardoso VES, et al. Total and acid-soluble fluoride content of infant cereals, beverages and biscuits from Brazil. *Food Add Cont* 2004; 21: 210-5.
56. Buzalaf MAR, Damante CA, Trevizani LM, Granjeiro JM. Risk of fluorosis associated with infant formulas prepared with bottled water. *J Dent Child* 2004; 71: 110-3.
57. Cardoso VES, Ollympio KPK, Granjeiro JM, Buzalaf MAR. Fluoride content of several breakfast cereals and snacks found in Brazil. *J Appl Oral Sci* 2003; 11: 306-10.
58. Buzalaf MAR, Cury JA, Whitford GM. Fluoride exposures and dental fluorosis: a literature review. *Rev FOB* 2001; 9: 1-10.
59. Buzalaf MAR, Granjeiro JM, Duarte JL, Taga ML. Fluoride content of infant foods in Brazil and risk of dental fluorosis. *J Dent Child* 2002; 69: 196-200.
60. Buzalaf MAR, Granjeiro JM, Cardoso VES, Silva TL, Ollympio KPK. Fluoride content of several brands of cereal bars and chocolate cookies found in Brazil. *Pesq Odontol Bras* 2003; 17: 223-7.
61. Buzalaf MAR, Pessan JP, Fukushima R, Dias A, Rosa HM. Fluoride content of UHT milks commercially available in Bauru, Brazil. *J Appl Oral Sci* 2006; 14: 38-42.
62. Buzalaf MAR, Pinto CS, Rodrigues MHC, et al. Availability of fluoride from meals given to kindergarten children in Brazil. *Community Dent Oral Epidemiol* 2006; 34: 87-92.
63. Centers for Disease Control and Prevention. Achievements in Public Health. 1900-1999: fluoridation of drinking water to prevent dental caries. *Morb Mort Wkly Rep* 1999; 48: 933-940.
64. Jones S, Burt BA, Petersen PE, Lennon MA. The effective use of fluoride in public health. *Bull WHO* 2005; 83: 670-6.
65. Narvai PC. Vigilância sanitária da fluoretação das águas de abastecimento público no município de São Paulo, Brasil, no período de 1990-1999 [dissertation]. São Paulo (SP): Faculdade de Saúde Pública; Universidade de São Paulo, 2001.
66. Selwitz RH, Nowjack-Raymer RE, Kingman A, Driscoll WS. Prevalence of dental caries and dental fluorosis in areas with optimal and above-optimal water fluoride concentrations: a 10-year follow-up survey. *Public Health Dent* 1995; 55: 85-93.
67. Szpunar Sm, Burt BA. Dental caries, fluorosis, and fluoride exposure in Michigan schoolchildren. *J Dent Res* 1988; 67: 802-6.
68. Riordan PJ. Dental fluorosis. dental caries and fluoride exposure among 7-year-olds. *Caries Res* 1993; 27: 71-7.
69. Riordan PJ, Banks JA. Dental fluorosis and fluoride exposure in Western Australia. *J Dent Res* 1991; 70: 1022-8.
70. McDonagh MS, et al. Systematic review of water fluoridation. *Brit Med J* 2000; 321: 844-5.
71. Jackson RD, Kelly SA, Katz BP, Hull JR, Stookey GK. Dental fluorosis and caries prevalence in children residing in communities with different levels of fluoride in the water. *J Public Health Dent* 1995; 55: 79-84.
72. Heller KE, Eklund SA, Burt BA. Dental caries and dental fluorosis at varying water fluoride concentrations. *J Public Health Dent* 1997; 57(3): 136-43.
73. Burt BA, Keels MA, Heller KE. The effects of a break in water fluoridation on the development of dental caries

- and fluorosis. *J Dent Res* 2000; 79: 761-9.
74. Burt BA, Keels MA, Heller KE. Fluorosis development in seven age cohorts after an 11-month break in water fluoridation. *J Dent Res* 2003; 82: 64-8.
75. Buzalaf MA, de Almeida BS, Ollympio KP da S, et al. Enamel fluorosis prevalence after a 7-year interruption in water fluoridation in Jau, Sao Paulo, Brazil. *J Publ Health Dent* 2004; 64: 205-8.
76. Ramires I, Maia LP, Rigolizzo D, et al. External control over the fluoridation of the public water supply in Bauru, SP, Brazil. *Rev Saúde Pública* 2006; 40: 883-9.
77. Silva M, Reynolds EC. Fluoride content of infant formulae in Australia. *Austr Dent J* 1996; 41: 37-42.
78. Ramires I, Grec RHC, Cattani L, et al. Avaliação da concentração de fluoreto e do consumo de água mineral. *Rev Saúde Publ* 2004; 38: 459-65.
79. Villena RS, Borges DG, Cury JA. Avaliação da concentração de fluoreto em águas minerais comercializadas no Brasil. *Rev Saúde Pública* 1996; 30: 512-8.
80. Warren JJ, Levy SM. A review of fluoride dentifrice related to dental fluorosis. *Pediatr Dent* 1999; 21: 265-71.
81. Skotowski MC, Hunt RJ, Levy SM. Risk factors for dental fluorosis in pediatric dental patients. *J Public Health Dent* 1995; 55: 154-9.
82. Lalumandier JA, Rozier GR. The prevalence and risk factors of fluorosis among patients in a pediatric dental practice. *Pediatr Dent* 1995; 17: 19-25.
83. Pendrys DG, Katz RV. Risk of enamel fluorosis associated with fluoride supplementation, infant formula and fluoride dentifrice use. *Am J Epidemiol* 1989; 130: 1199-208.
84. Pendrys DG, Katz RV, Morse DE. Risk factors for enamel fluorosis in a fluoridated population. *Am J Epidemiol* 1994; 140: 461-71.
85. Pendrys DG, Katz RV, Morse DE. Risk factors for enamel fluorosis in a nonfluoridated population. *Am J Epidemiol* 1996; 143: 808-15.
86. Pendrys DG. Risk of fluorosis in a fluoridated population. Implications for the dentist and hygienist. *J Am Dent Ass* 1995; 126: 1617-24.
87. Winter GB, Holt HD, Williams BF. Clinical trial of a low-fluoride toothpaste for young children. *Int Dent J* 1989; 39: 227-35.
88. Holt RD, Morris CE, Winter GB, Downer MC. Enamel opacities and dental caries in children who used a low fluoride toothpaste between 2 and 5 years of age. *Int Dent J* 1994; 44: 331-41.
89. Wang NJ, Gropen AM, Ogaard B. Risk factors associated with fluorosis in a non-fluoridated population in Norway. *Comm Dent Oral Epidemiol* 1997; 25: 396-401.
90. Rock WP, Sabieha AM. The relationship between reported toothpaste usage in infancy and fluorosis of permanent incisors. *Brit Dent J* 1997; 183: 165-70.
91. Richards A, Banting DW. Fluoride toothpastes. In: Fejerskov O, Ekstrand J, Burt BA (eds.). Fluoride in dentistry. Copenhagen; Munksgaard, 1996. Pp. 328-46.
92. Barnhart Barnhart WE, Hiller LK, Leonard GJ, Michaels SE. Dentifrice usage and ingestion among four age groups. *J Dent Res* 1974; 53: 1317-22.
93. Ericsson Y, Forsman B. Fluoride retained from mouthrinses and dentifrices in preschool children. *Caries Res* 1969; 3: 290-9.
94. Hargreaves JA, Ingram GS, Wagg BJ. A gravimetric study of the ingestion of toothpaste by children. *Caries Res* 1972; 6: 237-43.
95. Fomon SJ, Ekstrand J, Ziegler EE. Fluoride intake and prevalence of dental fluorosis: trends in fluoride intake with special attention to infants. *J Public Health Dent* 2000; 60: 131-9.
96. Cury JA. Determination of appropriate exposure of fluoride in non-EME countries in the future. *J Dent Res* 2000; 79: 901.
97. Paiva SM, Cury JA. Dentifricio fluoretado e risco de fluorose dentária. *Rev Pós Grad* 2001; 8: 322-8.
98. Beltran ED, Szpunar SM. Fluoride in toothpastes for children: suggestions for change. *Pediatr Dent* 1988; 10: 185-8.
99. Horowitz HS. The need for toothpastes with lower than conventional fluoride concentrations for preschool-aged children. *J Public Health Dent* 1992; 52: 216-21.
100. Oulis C, Raadal M, Martens L. Guidelines on the use of fluoride in children: An EAPD policy document. *Eur J Paediatr Dent* 2000; 1: 7-12.
101. Brighenti FL, Delbem AC, Buzalaf MA, et al. In vitro evaluation of acidified toothpastes with low fluoride content. *Caries Res* 2006; 40: 239-44.
102. Alves KMRP, Pessan JP, Brighenti FL, et al. In vitro evaluation of the effectiveness of acidic fluoride dentifrices. *Caries Res* 2007 (in press).
103. Olympio KPK, Bardal PAP, Cardoso VE da S, et al. Low fluoride dentifrices: efficacy and safety. *Caries Res* 2007 (in press).
104. Forsman B. Studies on the effect of dentifrices with low fluoride content. *Comm Dent Oral Epidemiol* 1974; 2: 166-75.
105. Gerdin P. Studies in dentifrices, VIII: Clinical testing of an acidulated, nongrinding dentifrice with reduced fluoride contents. *Swed Dent J* 1974; 67: 283-97.
106. Koch G, Petersson LG, Kling E, Kling L. Effect of 250 and 1000 ppm fluoride dentifrice on caries. A three-year clinical study. *Swed Dent J* 1982; 6: 233-8.
107. Reed MW. Clinical evaluation of three concentrations of sodium fluoride in dentifrices. *J Am Dent Ass* 1973; 87: 1401-3.
108. Mitropoulos CM, Holloway PJ, Davies TG, Worthington HV. Relative efficacy of dentifrices containing 250 or 1000 ppm F in preventing dental caries – Report of a 32-month clinical trial. *Comm Dent Health* 1984; 1: 193-200.
109. Koch G, Bergmann-Arnadottir I, Bjarnason S, et al. Caries-preventive effect of fluoride dentifrices with and without anticalculus agents: a 3-year controlled clinical trial. *Caries Res* 1990; 24: 72-9.
110. Ammari AB, Bloch-Zupan A, Ashley PF. Systematic review of studies comparing the anti-caries efficacy of children's toothpaste containing 600 ppm of fluoride or less with high fluoride toothpastes of 1.000 ppm or above. *Caries Res* 2003; 37: 85-92.
111. Browne D, Whelton H, O'Mullane D. Fluoride metabolism and fluorosis. *J Dent* 2005; 33: 177-86.
112. Davies RM, Ellwood RP, Davies GM. The rational use of fluoride toothpaste. *Int J Dent Hyg* 2003; 1: 3-8.
113. Pendrys DG, Morse DE. Use of fluoride supplement-



- tation by children living in fluoridated communities. *ASDCJ Dent Child* 1990; 57: 343-7.
114. Szpunar SM, Burt BA. Fluoride exposure in Michigan schoolchildren. *J Public Health Dent* 1990; 50 (1): 18-23.
115. Kumar JV, Green EL, Wallace W, Carnahan T. Trends in dental fluorosis and dental caries prevalences in Newburgh and Kingston, New York. *Am J Public Health* 1989; 79: 565-9.
116. Pendry DG, Katz RV. Risk factors for enamel fluorosis in optimally fluoridated children born after the US manufacturer's decision to reduce the fluoride concentration of infant formula. *Am J Epidemiol* 1998; 148: 967-74.
117. Kumar JV, Swango PA. Fluoride exposure and dental fluorosis in Newburgh and Kingston, New York: policy implications. *Comm Dent Oral Epidemiol* 1999; 27: 171-80.
118. Toumba KJ, Curzon MEJ. The fluoride content of bottled drinking waters. *Br Dent J* 1994; 176: 266-8.
119. Freire MCM, Macedo RA, Silva WH. Conhecimentos, atitudes e práticas dos médicos pediatras em relação à saúde bucal. *Pesq Odontol Bras* 2000; 14: 39-45.
120. Maltz M, Lacerda P. Conhecimento do pediatra na área de saúde bucal. *Rev ABO Nac* 2001; 9: 210-6.
121. Maria AG, Ramires I, Peres JRB, Lauris JRP, Buzalaf MAR. Conhecimento dos médicos pediatras e odontopediatras de Bauri e Marília a respeito de fontes de ingestão de fluoreto. *Pesq Odontol Bras* 2004; 18 (supl): 100 (Abstract).
122. Santiago BM, et al. Conhecimento dos médicos pediatras acerca da saúde bucal de bebês. *Rev Bras Odontol* 2002; 59: 86-9.
123. Schalka MM, Rodrigues CRMD. A importância do médico pediatra na promoção de saúde bucal. *Rev Saúde Publ* 1996; 30: 179-86.
124. Latifah R, Razak IA. Fluoride levels in infant formulas. *J Pedod* 1989;13: 323-7.
125. Mcknight-Hanes MC, Leverett DH, Adair SM, Shields CP. Fluoride content of infant formulas: soy-based formulas as potential factor in dental fluorosis. *Pediatr Dent* 1988;10(3):189-94.
126. Van Winkle S. Water and formula fluoride concentrations: significance for infants fed formula. *Pediatr Dent* 1995; 17: 305-10.
127. Stannard J, Rovero J, Tsamtsouris A, Gavis V. Fluoride content of some bottled waters and recommendation for fluoride supplementation. *J Pedod* 1990; 14: 103-7.
128. Weinberger SJ. Bottled drinking waters: are the fluoride concentrations shown on the labels accurate? *Int J Paed Dent* 1991;1: 143-6.
129. Chan JT, Stark C, Jeske AH. Fluoride content of bottled waters: implications for dietary fluoride supplementation. *Tex Dent J* 1990; 107: 17-21.
130. Fernandes CM, Tabchoury CM, Cury JA. Fluoride concentration in infant foods and risk of dental fluorosis. *J Dent Res* 2001; 80(Spec Issue): 224 (Abstract).
131. Fomon SJ, Ekstrand J. Fluoride intake by infants. *J Public Health Dent* 1999; 59: 229-34.
132. Vlachou A, Drummond BK, Curzon MEJ. Fluoride concentrations of infant foods and drinks in the United Kingdom. *Caries Res* 1992; 26: 29-32.
133. Heintze SD, Bastos JR de M. Avaliação do teor de fluoreto e pH em bebidas no mercado nacional. *Rev Assoc Paul Cir Dent* 1996; 50: 339-45.
134. Pang DTY, Phillips CL, Bawden JW. Fluoride intake from beverage consumption in a sample of North Carolina children. *J Dent Res* 1992; 71: 1382-8.
135. Trautner K, Siebert G. An experimental study of bioavailability of fluoride from dietary sources in man. *Arch Oral Biol* 1986; 31: 223-8.
136. Heilmann JR, Kiritsy MC, Levy SM, Wefel JS. Fluoride concentration of infants foods. *J Am Dent Assoc* 1997; 128: 857-63.
137. Nishijima MT, Koga H, Maki Y, Tadaesu Y. A comparison of dietary fluoride intakes from food samples in Japan and Brazil. *Bull Tokyo Dent Coll* 1993; 34: 43-50.

4. CONCENTRACIONES DE FLÚOR EN EL HUESO DE RESIDENTES EN ÁREAS CON AGUA FLUORADA Y NO FLUORADA.

RODOLFO C. PUCHE, ALFREDO RIGALLI*

Laboratorio de Biología Ósea, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario

Resumen

El mineral del tejido óseo normal se enriquece con flúor en el curso de la vida, aun en residentes de áreas donde no se fluora el agua potable. Las concentraciones observadas (4.500 a 6.500 ppm) plantea el inquietante interrogante de cuántas personas tendrán estos niveles, particularmente en áreas donde se fluora el agua potable.

Palabras clave:

contenido óseo de flúor, agua potable

ACCUMULATION OF FLUORIDE IN THE SKELETON AND WATER FLUORIDATION

Summary

The fluoride content of bone mineral increases permanently during lifetime, even in residents of areas where tap water is not fluoridated. In these persons, the contents observed (4,500-6,500 ppm) poses the disquieting question of how many persons could have these levels in areas where tap water has more than 1 ppm fluoride.

Key words:

bone fluoride content, drinking water

Concentraciones de F en el hueso de residentes de áreas con agua fluorada y no fluorada

Aproximadamente 50% del flúor ingerido se acumula en el cuerpo, especialmente en el esqueleto. Con el progreso de la edad, aumenta el contenido óseo de flúor y se convierte en un efectivo marcador de la exposición previa. Lamentablemente, no son abundantes los datos del contenido óseo de flúor de residentes de zonas con F en el agua de bebida y por ello es difícil establecer el límite a partir del cual ocurren efectos adversos sobre el esqueleto.

La Tabla 1 contiene una serie de referencias del contenido óseo de flúor, de residentes en áreas con 1,2 ppm o menos del anión en el agua de bebida. Es evidente que hay personas que pueden acumular contenidos de flúor muy altos. Por ejemplo, en una pequeña muestra de huesos de pacientes, Sogaard y col. encontraron niveles tan altos como 4.500 a 6.500 ppm.¹ Lo sorprendente de esta pequeña muestra es que estas personas residían en un área con agua no fluorada. Y plantea el interrogante: **¿cuántas personas tendrían esos niveles, particularmente en áreas con agua fluorada?**

Tabla 1. Esta tabla contiene el rango o media y (entre paréntesis) los valores más altos observados en cada serie. Los valores sirven como indicadores de la acumulación de flúor observada en el esqueleto

Lugar	F agua	Muestras	Flúor óseo	Referencia
Londres, Inglaterra	<0,5	25	240-3.100	3
Grand Rapids, EUA	1,0	5	2.250 (4.022)	4
Leeds, Inglaterra	<0,5	42	3.211 (6.600)	5
Utak County, EUA	<0,5	34	909 (2.130)	6
Iowa City, Iowa, EUA	1	20	1.600	7
Quebec, Canada	0,2	46	1.307 (2.743)	8
Rochester, NY, EUA	1	17	2.085	9
Kuopio, Finlandia	1	158	1.280 (4.140)	10
New Jersey, EUA	1	80	1.070 (3.720)	11
South East, Inglaterra	<0,5	600	1.900	12
Basilea, Suiza	1	147	1.650 (4.819)	13
North Carolina, USA	0,2-1,0	24	1.700 (3.708)	15
Dinamarca	<0,5	26	200-6.500	1
Dinamarca	<0,2	73	1.300 (4.010)	16

* Dirección postal: Cátedra de Química Biológica, Facultad de Ciencias Médicas. Santa Fe 3100, (2000) Rosario, SF, Argentina. Correo electrónico: arigalli@fmedic.unr.edu.ar



En comunidades con agua no fluorada¹⁻⁵ se han encontrado niveles de 2.000-45.000 ppm que se saben tóxicos para el hueso animal y que se super-

ponen con los niveles de flúor óseo (3.500-5.500 ppm) característicos de las primeras etapas de fluorosis esquelética.

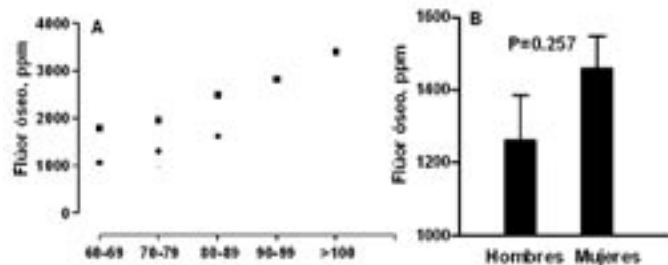


Figura 1. Panel A: valores promedio del contenido óseo en flúor en función de la edad. (Cuadrados llenos: datos de Wix y Mohamedally;^{1,2} círculos llenos: datos de Kuo y Stamm.³); Panel B: Promedio general del contenido óseo de flúor entre sexos.

Referencias

1. Sogaard CH, et al. Marked decrease in trabecular bone quality after five years of sodium fluoride therapy - assessed by biomechanical testing of iliac crest bone biopsies in osteoporotic patients. *Bone* 1994; 15: 393-9.
2. Jackson D, Weidman SM. Fluorine in human bone related to age and the water supply of different regions. *J Path Bact* 1958; 76: 451-9.
3. Glock GE, et al. The retention and elimination of fluoride in bones. *Biochem J* 1941; 35: 1235-9. Smith FA, et al. Age increase and fluoride content in human bone (Abstract). *Federation Proc* 1953; 12: 368.
4. Zipkin L, et al. Fluoride deposition in human bones after prolonged ingestion of fluoride in drinking water. *US Public Health Rep* 1958; 73: 732-40.
5. Jackson D, Weidman SM. Fluorine in human bone related to age and the water supply of different regions. *J Path Bact* 1958; 76: 451-9.
6. Call RA, et al. Histological and chemical studies in man on effects of fluoride. *Public Health Rep* 1965; 80: 529-38.
7. Parkins FM, et al. Relationships of human plasma fluoride and bone fluoride to age. *Calcif Tissue Res* 1974; 16: 335-8.
8. Kuo HC, Stamm JW. Fluoride levels in human rib bone: a preliminary study. *Can J Public Health* 1974; 65: 359-61.
9. Charen J, et al. Bone fluoride concentrations associated with fluoridated drinking water. *Calcif Tissue Int* 1979; 27: 95-9.
10. Alhava EM, et al. The effect of drinking water fluoridation on the fluoride content, strength and mineral density of human bone. *Acta Orthop Scand* 1980; 51: 413-20.
11. Stein ID, Granik G. Human vertebral bone: relation of strength, porosity, and mineralization to fluoride content. *Calcif Tissue Int* 1980; 32: 189-94.
12. Wix P, Mohamedally SM. The significance of age-dependent fluoride accumulation in bone in relation to daily intake of fluoride. *Fluoride* 1980; 13: 100-4.
13. Hefti A, Marthaler TM. Bone fluoride concentrations after 16 years of drinking water fluoridation. *Caries Res* 1981; 15: 85-9.
14. Boivin G, et al. Fluoride content in human iliac bone: results in controls, patients with fluorosis, and osteoporotic patients treated with fluoride. *J Bone Miner Res* 1988; 3: 497-502.
15. Eble DM, et al. Fluoride concentrations in human and rat bone. *J Public Health Dentistry* 1992; 52: 288-91.
16. Richards A, et al. Normal age-related changes in fluoride content of vertebral trabecular bone. Relation to bone quality. *Bone* 1994; 15: 21-6.

5. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE FLÚOR EN MUESTRAS BIOLÓGICAS

ALFREDO RIGALLI,* RODOLFO C. PUCHE

Laboratorio de Biología Ósea y Metabolismo Mineral. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Rosario.

Resumen

El control de un tratamiento con fluoruro requiere la medición de flúor en plasma y orina. La metodología más conveniente es la potenciometría. En tratamientos con NaF solo, existe anión fluoruro en plasma y orina, sin embargo en otros tratamientos como con monofluorofosfato sódico (MFP) puede existir flúor indetectable al electrodo y que sólo se libera por tratamiento con ácidos. En hueso es más complejo el sistema y puede existir flúor ligado que sólo se libera por incineración de la muestra. Se han desarrollado muchas técnicas para la medición de fluoremia, sin embargo no todas son confiables. La lectura directa con un electrodo sobre el plasma no es adecuada por la baja concentración y presencia de proteínas. La medida potenciométrica post-destilación de la muestra permite medir el fluoruro más el flúor ácido lábil, además de concentrar la muestra y aumentar la sensibilidad del electrodo. En orina la lectura de fluoruria puede hacerse directamente con el electrodo de ion específico. No se puede hablar de valores normales, sino de límites teniendo en cuenta la exposición de la población. En poblaciones no expuestas la fluoruria no excede habitualmente los 50 micromoles/día y la fluoremia es menor a 1 micromol/L.

Palabras clave: fluoruro, fluoremia, fluoruria, concentración.

ASSAY OF FLUORIDE CONCENTRATION IN BIOLOGICAL SAMPLES

Abstract

Measurement of fluorine concentration is a need in patients under treatment with fluorine containing compounds. Fluoride in plasma and urine is commonly measured in patients under fluorine treatment, and potentiometry is the most convenient methodology. When NaF is used as a medication, fluoride is the predominant chemical species in plasma and urine. However, during treatment with sodium monofluorophosphate (MFP), peptides and proteins with acid-labile fluorine are present in plasma, the electrode being insensitive to them. In bones, compounds may exist with acid-resistant fluorine, which is detected only after incineration. Several techniques have been developed for the

measurement of fluoremia, but not all of them produce real values. In plasma, electrode sensitivity is affected by low fluoride concentration and proteins. Potentiometry after distillation of fluoride and acid-labile fluorine produce trustworthy results. Direct potentiometry is applicable to urine because of the more simple chemical system. Expected levels of fluoride in plasma or urine depend on the exposure of population. For non-exposed people, fluoruria below 50 micromoles/day and fluoremia lower than 1 micromole/L are expected values.

Key words: fluoride, fluoremia, fluoruria, concentration.

INTRODUCCIÓN

El flúor se encuentra en la naturaleza en un único estado de oxidación; sin embargo, se lo puede encontrar formando desde enlaces con un alto porcentaje de carácter iónico hasta enlaces con un elevado carácter covalente. La población está expuesta a diferentes tipos de compuestos con flúor, tanto de fuentes naturales como artificiales (ver artículo 1).

La medición de flúor en muestras biológicas es un tema contradictorio, para el cual se han desarrollado muchas metodologías y técnicas. Prácticamente cada investigador que ha trabajado en el tema ha desarrollado su propia técnica y la aplicación en el laboratorio de análisis clínicos no se ha popularizado. Cuando se habla de medir flúor en una muestra biológica lo primero que se debe aclarar es qué tipo de compuestos de flúor se medirá. Para interpretar las diferentes técnicas y tomar la decisión sobre la metodología a aplicar es necesario conocer las formas más comunes en las que el flúor puede formar parte de distintos compuestos.

Diferentes formas de flúor

Las metodologías existentes se fundamentan en la reacción del fluoruro con algún compuesto o la detección de fluoruro mediante un electrodo de ion específico. Por lo tanto, cualquier especie de flúor que no se encuentre al estado de fluoruro, no será detectada por el electrodo y necesitará un procesamiento previo para su detección.

* Dirección postal: Cátedra de Química Biológica, Facultad de Ciencias Médicas. Santa Fe 3100, (2000) Rosario, SF, Argentina. Correo electrónico: arigalli@fmedic.unr.edu.ar



El flúor puede existir como:

1- Flúor iónico: se lo conoce como fluoruro (F^-). Forma parte de sales como el NaF y el CaF_2 . Aunque en las dos sales mencionadas el fluoruro es el anión presente, también se debe tener en cuenta que la disociación puede ser muy diferente. Mientras en una solución acuosa de NaF el electrodo medirá la concentración de fluoruro, en una solución de CaF_2 no lo hará por ser este compuesto muy poco disociado.

2- Flúor ácido-lábil (FAL) corresponde a flúor ligado a compuestos ya sea por enlace iónico o covalente pero que se desprende de la muestra como ácido fluorhídrico, por tratamiento con ácido fuerte. Por ejemplo el monofluorofosfato (MFP) no contiene fluoruro pero sí tiene flúor unido covalentemente que se hidroliza por ácido y se libera como ácido fluorhídrico.

3- Flúor ácido-resistente (FAR): en estos compuestos el flúor se encuentra unido a compuestos por enlace covalente, resistentes al tratamiento con ácidos fuertes. En general se refiere a compuestos donde el flúor está unido a carbonos, como por ejemplo el flurbiprofeno. En algunos casos este flúor puede ser liberado en el organismo por degradación de la molécula carbonada que lo contiene. Estos compuestos liberan el flúor por calcinación, generando NaF .

Utilizaremos la denominación FT (Flúor total) para representar la suma: $F^- + FAL + FAR$.

En general las técnicas utilizadas miden F^- (si únicamente utilizan potenciometría) o $F^- + FAL$ (si combinan el uso de destilación isotérmica y potenciometría). Rara vez se realizan mediciones de FAR y FT, en tal caso se requiere de calcinación, destilación y potenciometría directa.

Diferentes metodologías para medir flúor

La medición de flúor es una práctica frecuente en terapéutica y casos de intoxicación. Durante años se han desarrollado técnicas que pueden ser enmarcadas en tres tipos de metodología:

1- Colorimétrica: Esta metodología se fundamenta en la reacción del fluoruro con compuestos de zirconio cuyo producto presenta absorción de radiación electromagnética a una longitud de onda específica.¹

2- Potenciométrica: Esta metodología se fundamenta en la utilización de un electrodo de ion específico sensible al fluoruro.

La diferencia de potencial desarrollada por este electrodo y la concentración de fluoruro se ajustan por la ecuación de Nernst, la que permitirá calcular

la concentración de soluciones incógnitas utilizando soluciones de referencia adecuadas.

3- Cromatografía gaseosa: Aunque es una técnica de gran sensibilidad y especificidad, no es utilizada con frecuencia, debido a la necesidad de un equipo muy costoso y personal muy capacitado.²

Las metodologías descritas se pueden combinar con otras técnicas como son la destilación isotérmica y la calcinación, permitiendo la medición de FAL o FAR.

Destilación isotérmica

Pueden existir muchos interferentes que deben ser eliminados por destilación, como el ácido fluorosilícico¹ o el ácido fluorhídrico, ambos con características volátiles. Este proceso se lleva a cabo en medio ácido y libera de la muestra el F^- y el FAL. Por otra parte la destilación isotérmica (también conocida como difusión isotérmica) permite –además de concentrar el fluoruro de la muestra– aislarlo en un medio de fuerza iónica conocida. Se han diseñado diferentes sistemas para lograr la destilación en condiciones isotérmicas.

La técnica fue desarrollada por Taves³ y modificada por Whitford; utiliza una placa de Petri de material plástico, el hidróxido de sodio actúa como trampa del fluoruro. Como reactivo desplazante se utiliza ácido sulfúrico saturado en hexametildisiloxano, que acelera el tiempo de destilación a 24 horas. El procedimiento tiene una recuperación mayor al 99%. Hallsworth y col.⁷ diseñaron un dispositivo de destilación empleando tubos de polipropileno, utilizando $NaOH$ como trampa y ácido perclórico como desplazante. En nuestro laboratorio desarrollamos un dispositivo que cumple con el objetivo perseguido en la destilación isotérmica, en tubos Eppendorf de 1,5 mL (Figura 1). Por los pequeños volúmenes de muestra utilizados llamaremos a esta técnica microdestilación isotérmica la que abreviaremos como μDI .

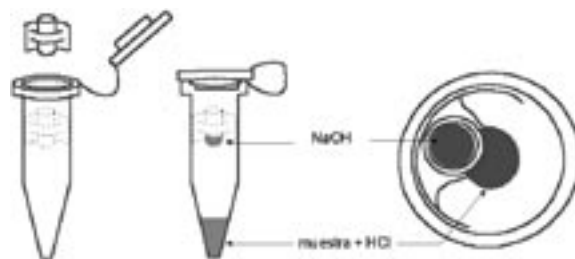


Figura 1: dispositivo para destilación isotérmica del flúor.

Por su amplia difusión nos concentraremos en los métodos potenciométricos.

Métodos potenciométricos

La concentración de fluoruro puede ser determinada mediante potencimetría directa utilizando un electrodo de ion específico. Este electrodo consta de un cristal de fluoruro de lantano que separa una solución de referencia de la solución en la que se desea determinar la concentración de fluoruro.⁶ La sensibilidad de este electrodo radica en la integridad del cristal del fluoruro de lantano, la presencia de la solución interna y del funcionamiento en posición vertical. Como se observa en la Fig. 2, la posición invertida produce discontinuidad del circuito. Existen algunos fabricantes de electrodos que proveen productos con capacidad de funcionamiento invertido pero son de menor vida útil. Este electrodo puede utilizarse sumergido en soluciones junto con un electrodo de referencia (macrotécnica) o bien, si el volumen utilizado es menor a 1 mL, se utilizan soportes adecuados para este fin (microtécnica).

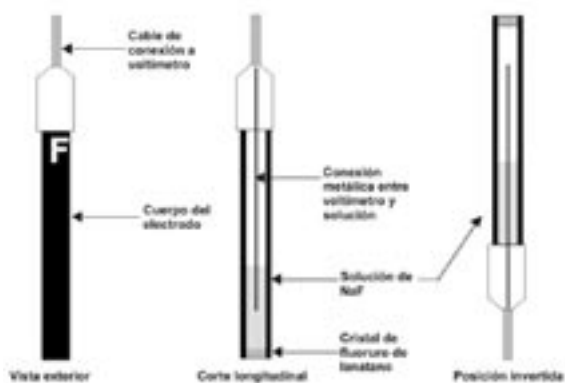


Figura 2: electrodo de ion específico sensible al fluoruro.

Al colocar este electrodo en contacto con una solución de fluoruro se produce una asimetría en la distribución de iones fluoruro a ambos lados que desarrolla un potencial, el cual puede medirse conectando el electrodo de fluoruro a un electrodo de referencia de Ag/AgCl. Se debe adicionar a las muestras un *buffer* (TISAB) que ajusta la fuerza iónica de las muestras, ajusta el pH para evitar las interferencias producidas por el ion oxhidrilo, y compleja cationes trivalentes. El potencial medido sigue la ecuación de Nernst en el rango de concentraciones 1 mol/L a 10^{-5} mol/L. Por debajo de esta última concentración la respuesta deja de ser lineal.

El límite de detección del electrodo es variable pero siempre es inferior a 1 micromol/L.

Este procedimiento requiere de al menos 1 mL de muestra con soportes adecuados, ó 5 mL si se trabaja con un recipiente convencional. Sin embargo, se han realizado intentos de maximizar la utilización del electrodo adaptándolo a muestras de volúmenes reducidos. Como paradigma de este aprovechamiento del electrodo se puede citar el trabajo de Hallsworth, desarrollado para la medición de muestras con flúor en matrices complejas como el hueso y diente.⁷ La técnica permite medir volúmenes de solución tan pequeños como 1 μ L y es confiable si la misma se lleva a cabo como mínimo por quintuplicado, con un error menor al 12%.

Medición de flúor en muestras biológicas

Tanto el tamaño como la complejidad de la muestra (matriz) determinan el tipo de técnica a aplicar. La Tabla 1 resume los principales casos.

Tabla 1: Tamaño de la muestra, concentración y técnica a aplicar para la medición de flúor.

Matriz	Tamaño muestra	[Flúor] μ mol/L	Técnica
simple	mayor de 1 mL	mayor de 0,45	macrotécnica potenciométrica
	menor de 1 mL	mayor de 0,45	microtécnica potenciométrica
	independiente	menor de 0,45	microtécnica potenciométrica con μ DI
compleja	independiente	independiente	microtécnica potenciométrico con μ DI

En el laboratorio clínico es común la medición de flúor en orina y en plasma de manera de controlar el tratamiento con algún compuesto que contenga flúor.



Conservación de las muestras

Las muestras acuosas pueden ser guardadas en heladera o a -20°C en recipientes de plástico. Las muestras sólidas como heces, huesos, uñas y dientes se pueden guardar temperatura ambiente, libres de humedad.⁸

Medición de flúor en orina

La orina es un fluido donde por lo general no existen concentraciones importantes de metales trivalentes que complejen el fluoruro. Por lo tanto, la medición potenciométrica de fluoruro puede llevarse a cabo ajustando el pH de la muestra y la fuerza iónica con el agregado de un 10% de un *buffer* que ajuste fuerza iónica y pH. El método utiliza un electrodo de ion específico y testigos de NaF diluidos en agua destilada.

Medición de flúor en plasma

Las concentraciones de fluoruro en plasma oscilan entre 0,5 y 1 $\mu\text{mol/L}$ para poblaciones no expuestas, mientras que para poblaciones expuestas se pueden encontrar valores de 2-10 μM , dependiendo este valor del volumen de distribución del fluoruro y de la función renal.

Por lo tanto, se pueden hacer mediciones aplicando μDI y posterior lectura con microtécnica potenciométrica, con lo cual se eliminan los problemas de las bajas concentraciones.

Medición de F⁻ y flúor ligado a proteínas en plasma

Esta técnica permite medir el flúor ligado a proteínas y el flúor difusible (compuestos con flúor que atraviesan membranas de diálisis). Por potenciometría con μDI del ultrafiltrado se mide el flúor iónico y el flúor ligado a compuestos de bajo peso molecular (dependiendo el corte de la membrana de ultrafiltración) y por microtécnica potenciométrica con μDI del plasma entero se mide el fluoruro, flúor ligado a compuestos de bajo peso molecular y flúor ligado a proteínas. Por diferencia entre ambas se mide el flúor ligado a proteínas.⁵ El flúor difusible corresponde al fluoruro de la muestra más el flúor unido a compuestos de bajo peso molecular, compuestos que pueden encontrarse por ejemplo en el tratamiento con MFP.

Determinación de flúor ácido lábil y flúor ácido resistente

La determinación de la concentración de compuestos con flúor, donde el flúor no es detectado por el electrodo, es un problema habitual en el laboratorio. Una muestra además de fluoruro (F⁻) puede

contener FAL y FAR.

Para su determinación se debe realizar destilación isotérmica de la muestra con ácido sulfúrico: tanto el FAL como el fluoruro se desprenderán como ácido fluorhídrico, obteniéndose la concentración de FAL y F⁻. La concentración de FAL se obtendrá por diferencia entre la concentración medida luego de destilación y la concentración medida por potenciometría directa (F⁻).

La determinación de FAR requiere un proceso de mineralización de la muestra, por ejemplo por calcinación, posterior solubilización y medición potenciométrica. Con este procedimiento se obtiene el valor de flúor total de la muestra. Si en una alícuota se mide FAL y en otra fluoruro, por diferencia entre el valor de flúor total y FAL más fluoruro se puede obtener el valor de FAR.

Determinación de monofluorofosfato

El monofluorofosfato de sodio (MFP, Na_2PFO_3) es una sal ampliamente utilizada en forma de comprimidos en el tratamiento de la osteoporosis y como aditivo en pastas dentífricas, para la prevención de caries dentales.⁹ El flúor se halla ligado al fosfato por un enlace covalente. Este enlace, a diferencia de los enlaces F-C es inestable y puede ser degradado por hidrólisis. El proceso se lleva a cabo por acción enzimática,¹⁰ por la acción de ácidos¹⁰ o espontáneamente.^{11,12}

Luego de una dosis de MFP, en el plasma existen dos fracciones de flúor: fluoruro y flúor ligado a proteínas por enlace ácido lábil.^{13,14} En el hueso de ratas tratadas con MFP se encuentra fluoruro, flúor ácido lábil y flúor ácido resistente.^{15,16} El estudio de la farmacocinética del monofluorofosfato ha planteado un desafío en lo que respecta a las técnicas de medición. La medición de MFP en soluciones se puede realizar potenciométricamente luego de la destilación del flúor, luego de la hidrólisis ácida del compuesto, o bien luego de la hidrólisis enzimática.

Medición de monofluorofosfato por hidrólisis enzimática

Esta técnica fue desarrollada para el estudio de la estabilidad y farmacocinética del MFP.¹⁷

La técnica es aplicable a soluciones acuosas o a muestras sólidas previa disolución en agua destilada. Una alícuota de la muestra acuosa se somete a la hidrólisis por la acción de la enzima fosfatasa alcalina intestinal de rata. Se realiza la medición potenciométrica de fluoruro en las muestras con

y sin tratamiento enzimático. La diferencia entre la concentración de fluoruro de la muestra tratada con fosfatasa alcalina intestinal y la alícuota sin tratar permite hallar la concentración de MFP en la muestra.

Medición de flúor en uñas

La medición de flúor en uñas se utiliza como medida de la exposición crónica al flúor.^{18,19} La medida potenciométrica luego de destilación isotérmica es de sencilla realización.⁸

Medición de flúor en esmalte dental

La obtención de muestra de esmalte dental se puede hacer por método de grabado, el que puede llevarse a cabo por inmersión (aplicable a piezas dentarias extraídas) o bien in vivo aplicando el método de ventana.⁶

Además de las técnicas mencionadas, aplicables a cada tipo de muestras, existen otras técnicas dentro de las metodologías nombradas, que se han desarrollado para la medición de flúor iónico. Una breve descripción de cada una de ellas se hace a continuación.

Determinación de flúor iónico por adsorción sobre fosfato de calcio

Este método se fundamenta en la adsorción del flúor iónico sobre un precipitado de fosfato de calcio,²⁰ quedando el flúor no iónico en el sobrenadante. Básicamente consiste en tratar una muestra con fosfato de calcio, luego de un período de tiempo se centrifuga y se descarta el sobrenadante. El sedimento (fosfato de calcio con fluoruro adsorbido) es disuelto en medio ácido, finalmente la solución se ajusta a pH 6 y se mide la concentración de fluoruro con el electrodo de ion específico o colorimétricamente.

Determinación adsorción-reposición

Este método se fundamenta en la adsorción del flúor iónico sobre un precipitado de fosfato de calcio y el posterior agregado de una solución estándar de fluoruro de sodio hasta restablecer la concentración inicial utilizando un electrodo de ion específico para controlar la concentración.

Determinación potenciométrica con patrones disueltos en suero

Este método se fundamenta en la determinación potenciométrica utilizando un electrodo de ion específico. La curva de calibración se prepara disolviendo NaF en suero o plasma de perro con bajo contenido de flúor. Fue desarrollado para utiliza-

ción en clínica²¹ por su mayor sencillez, siendo poco confiables los resultados obtenidos.⁵

Método automatizado

Este método se fundamenta en la determinación potenciométrica utilizando tecnología de automatización. La curva de calibración se prepara disolviendo NaF en suero con bajo contenido de flúor. Fue desarrollado con el fin de mejorar la relación número de muestras: tiempo empleado.²² Su principal desventaja es el sistema automático requerido y la insensibilidad del electrodo ante la presencia de proteínas.

Determinación potenciométrica directa con patrones acuosos

Este método se fundamenta en la determinación potenciométrica utilizando un electrodo de ion específico. La curva de calibración se prepara disolviendo NaF en agua. Fue desarrollada para medir flúor en plasma.²³ Según sus autores es de extrema sencillez y alta reproducibilidad, siendo el inconveniente la diferencia entre la matriz de los estándares de NaF y el plasma.

Determinación potenciométrica con adición-dilución

Este método se fundamenta en la determinación potenciométrica utilizando un electrodo de ion específico. No requiere curva de calibración y los parámetros del electrodo se obtienen por adición de una cantidad conocida de fluoruro a la muestra y posterior dilución de la solución. Fue desarrollada con el fin de proveer al laboratorio clínico de una técnica confiable y sencilla para medir flúor iónico en plasma.²⁴ Según sus autores es de extrema sencillez y confiable aunque requiere demasiado tiempo de estabilización. A las concentraciones halladas en plasma normalmente no ha demostrado ser un método reproducible.⁵

Determinación potenciométrica con adición

Este método se fundamenta en la determinación potenciométrica utilizando un electrodo de ion específico y adición de una cantidad de fluoruro conocido. No requiere curva de calibración y los parámetros del electrodo se calculan previamente, considerándose un dato invariante e independiente de las condiciones de la muestra. Fue desarrollada con el fin de proporcionar un método rápido y confiable para determinar el contenido de fluoruro en alimentos.²⁵ Es un método más sencillo que el propuesto por Fuchs y col.²⁴ Requiere instrumental de laboratorio sencillo además del voltímetro y el electrodo de fluoruro.



Medición de fluoruro con corrección de flúor basal

Es habitual suponer que los reactivos utilizados en la determinación de fluoruro están libres de fluoruro. Este método²⁶ propone una manera de descontar el fluoruro presente en el blanco. La técnica utiliza un electrodo de ion específico. La ventaja de esta técnica es que descuenta el fluoruro presente en los reactivos, extendiendo la linealidad de la curva de calibración hasta 0,26 $\mu\text{mol/L}$. La desventaja es que requiere un gran volumen de muestras y de patrones.

Referencias

1. Lamar W. *Industr Engin Chem (Am Ed)* 1945; 17: 148.
2. Butts WC. Derivatives of inorganic anions for gas chromatography. En: Blau K, King G, eds. *Handbook of derivatives for chromatography*. Philadelphia; Heyden, 1978. Pp 411-3.
3. Taves D. Separation of fluoride by rapid diffusion using hexamethyldisiloxane. *Talanta* 1968; 15: 969-74.
4. Whitford GM. Some characteristics of fluoride analysis with the electrode. En: Myier HM, ed. *The metabolism and toxicity of fluoride*, 2nd Ed. Basel; Karger, 1996. Pp 330-3.
5. Rigalli A, Alloatti R, Puche RC. Measurement of total and diffusible serum fluoride. *J Clin Lab Analysis* 1999; 13: 151-7.
6. Vogel GL, Chow LC, Brown WE. A microanalytical procedure for the determination of calcium, phosphate and fluoride in enamel biopsy samples. *Caries Res* 1983; 17: 23-31.
7. Hallsworth AS, Weatherell JA, Deutsch D. Determination of subnanogram amounts of fluoride with the fluoride electrode. *Anal. Chem* 1976; 48: 1660-4.
8. Buzalaf MA, Caroselli EE, Cardozo de Oliveira RC, et al. Nail and bone surface as biomarkers for acute fluoride exposure in rats. *J Anal Toxicol* 2004; 28: 249-52.
9. Stephen KW. Fluoride toothpastes, rinses, and tablets. *Adv Dent Res* 1994; 8: 185-9.
10. Setnikar I, Arigoni R. Chemical stability and mode of gastrointestinal absorption of sodium monofluorophosphate. *Arzneimittelforschung* 1988; 38: 45-9.
11. Rigalli A, Iglesias AM, Puche RC. Long term stability of sodium monofluorophosphate. *Drug Dev Ind Pharm* 1995; 21: 517-21.
12. Rigalli A, Ricci D, Puche RC. Instability of sodium monofluorophosphate in effervescent tablets. *Fluoride* 2006; 39: 19-22.
13. Rigalli A, Morosano M, Puche RC. Bioavailability of fluoride administered as sodium fluoride or sodium monofluorophosphate to humans. *Arzneimittelforschung* 1996; 46: 531-3.
14. Rigalli A, Pera L, Morosano M, Masoni A, et al. In postmenopausal osteoporosis the bone increasing effect of monofluorophosphate is not depending of serum fluoride. *Medicina (B Aires)* 1999; 59: 157-61.
15. Pera L; Rigalli A, Puche RC. Fluorine bound to non collagenous proteins in the bones of rats treated with monofluorophosphate (MFP) and sodium fluoride (NaF). *Bone* 1999; 24: 532 (abstract).
16. Pera L, Brun LR, Rigalli A, Puche RC. Identification of bone 2-macroglobulin (2M) related-proteins in rats treated with MFP. Its role in fluoride (F) bioavailability. *Biocell* 2003; 27: 234 (abstract) .
17. Rigalli A, Cabrerizo M, Beinlich A, Puche RC. Gastric and intestinal absorption of monofluorophosphate and fluoride in the rat. *Arzneimittelforschung* 1994; 44: 651-5.
18. Buzalaf MA, Fukushima R, Granjeiro JM, Cury JA. Correlation between plasma and nail fluoride concentrations in rats given different levels of fluoride in water. *Fluoride* 2002; 9: 185-92.
19. Whitford GM, Sampaio FC, Arneberg P, Von der Fehr FR. Fingernail fluoride: a method for monitoring fluoride exposure. *Caries Res* 1999; 33: 462-7.
20. Venkateswarlu P, Singer L, Armstrong WD. Determination of ionic (plus ionizable) fluoride in biological fluids. Procedure based on absorption of fluoride ion on calcium phosphate. *Anal Biochem* 1971; 42: 350-9.
21. Fry BW, Taves DR. Serum fluoride analysis with the fluoride electrode. *J Lab Clin Med* 1970; 75: 1020-5.
22. Cowell DC. Automated fluoride ion determination. Determination of serum fluoride ion levels. *Annals Clin Biochem* 1977; 14: 275-8.
23. Jardillier JC, Desmet G. Étude du fluor sérique et de ses combinaisons par une technique utilisant une électrode spécifique. *Clin Chim Acta* 1973; 47: 357-63.
24. Fuchs C, Dorn D, Fuchs CA, Henning HV, et al. Fluoride determination in plasma by ion selective electrodes: a simplified method for the clinical laboratory. *Clin Chim Acta* 1975; 60: 157-67.
25. Melton JR, Hoover WI, Ayers JL. Known addition procedure for determining fluoride in feeds with an ion-specific electrode. *JAOAC* 1973; 57: 508-10.
26. Villa AE. Rapid method for determining very low fluoride concentration using an ion selective electrode. *Analyst* 1988; 113: 1299-303.



7. ESTUDIOS EXPERIMENTALES QUE INFORMAN QUE EL FLUORURO REDUCE LA RESISTENCIA/CALIDAD DEL HUESO

RODOLFO C. PUCHE, ALFREDO RIGALLI*

Laboratorio de Biología Ósea, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario.

Resumen

Este artículo revisa la evidencia publicada, obtenida en estudios de clínicos y experimentales, sobre el efecto del fluoruro sobre la calidad/resistencia del hueso.

Palabras clave: flúor, calidad ósea, resistencia ósea

ADMINISTRATION OF SODIUM FLUORIDE AND QUALITY OF BONE TISSUE. EXPERIMENTAL STUDIES

Summary

This article reviews clinical and experimental studies on strength/quality of bone tissue as affected by fluoride administration.

Key words: fluoride, bone quality, bone strength

El ahora histórico trabajo de K. Roholm advertía sobre la siguiente contradicción: el tratamiento con fluoruro de sodio produce esclerosis ósea difusa y osteomalacia, que varían con la especie y la edad de los animales.¹ Las observaciones tienen las siguientes características comunes: reducción de la resistencia, tendencia a la exostosis, atrofia y calcificación deficiente. Investigando el efecto de la contaminación de aves por flúor gaseoso, Huffman llegó a conclusiones semejantes: crecimiento óseo anormal y estructuralmente débil.²

Rockert, en base a microanálisis por difracción de rayos X y fluorescencia, observó que la esclerosis es habitual con la carga elevada de flúor óseo y que las cavidades de reabsorción observadas por microrradiografía sugieren actividad osteoclástica. Advierte la semejanza con las lesiones inducidas en el hueso irradiado con radium.³

La resistencia a la fractura se encontró inversamente relacionada con la ingesta de flúor.⁴⁻⁸ Análisis más detallados, efectuados por Wolinsky y col.⁹ informaron menor resistencia a la fractura y reducción del módulo de elasticidad. Riggins y col.¹⁰ observaron aumento de la formación periosteal de hueso que redujo o no modificó la resistencia del mismo.

Uslu estudió el efecto del flúor en la calidad del

callo de reparación con técnicas histológicas e histoquímicas, y lo encontró defectuoso.¹¹

Burnell y col. observaron que niveles de F 7 ppm o superiores en el alimento de cerdos, redujo el módulo elástico y la resistencia a la fractura de los fémures.¹²

Mosekilde y col.¹³ produjeron el primer informe sobre el efecto del flúor sobre las vertebras concluyendo que: *"the mechanical parameters for the fluorotic animals were unchanged... or decreased... It is concluded that the increased bone mass during the initial stages of fluoride treatment does not necessarily indicate an improved bone quality"*.

Turner y col.¹⁴ analizaron los efectos de la ingesta de agua fluorada sobre la resistencia ósea. Observaron que las ratas con acceso a agua con menos de 1 ppm pueden exhibir aumento de la resistencia (strength), pero con 4 ppm o más, esta variable se reduce.

Al analizar el efecto del fluoruro (de sodio) sobre la competencia biomecánica y masa ósea de las vértebras de las ratas, Sogaard y col.¹⁵ concluyeron que *"Load corrected for ash content, which is a measure of bone quality, decreased significantly after fluoride therapy. It is concluded that the increase in bone mass during fluoride treatment does not translate into an improved bone strength and that the bone quality declines. This investigation thereby supports the hypothesis of a possible negative effect of fluoride on bone quality"*.

Turner y col.¹⁶ han informado que el tratamiento con flúor afectó adversamente todas las variables biomecánicas. La carga de fractura del cuello femoral se redujo 25%, el stress de fractura de las vértebras en 19% y el módulo de elasticidad del fémur en 21%.

Turner y col.¹⁷ informaron que el tratamiento aumentó la concentración de IGF-1 sérica, el recambio óseo y la masa ósea, pero no la resistencia a la fractura.

* Dirección postal: Cátedra de Química Biológica, Facultad de Ciencias Médicas. Santa Fe 3100, (2000) Rosario, SF, Argentina. Correo electrónico: arigalli@fmedic.unr.edu.ar

Chachra y col.¹⁸ coinciden con las observaciones anteriores y expresan: “*In this study, despite the observed increase in hardness of both cancellous and cortical bone, the fracture stress and elastic modulus of vertebrae ... and femora ... were decreased by fluoride treatment. The fact that the hardness (which is dependent largely on the mineral content) increases even though the modulus (which depends on both the mineral content and the collagen) decreases suggests that there is a change in the relationship between the bone mineral and the collagen*”.

Bohatyrewicz, analizando la diáfisis femoral de ratas en crecimiento (ensayo de flexión), mostró reducción en la calidad del hueso. Cuando el fluoruro de sodio se administró en dosis bajas, observó aumento de la resistencia a la fractura del cuello del fémur.¹⁹

Referencias

1. Roholm K. Fluoride intoxication: a clinical-hygienic study with a review of the literature and some experimental investigations. London; Lewis, 1937.
2. Huffman WT. Effects on livestock of air contamination caused by fluoride fumes. En: Air Pollution. Proceedings of the United States Technical Conference on Air Pollution. New York; McGraw-Hill, 1949. Pp. 59-63.
3. Rockert H. X-ray absorption and x-ray fluorescence micro-analysis of mineralized tissue of rats which have ingested fluoridated water. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1963; 59: 32-8.
4. Gedalia I, et al. Effects of estrogen on bone composition in rats at low and high fluoride intake. *Endocrinology* 1964; 75: 201-5.
5. Daley R, et al. The effects of sodium fluoride on osteoporotic rats. *J Bone Joint Surgery* 1967; 49A: 796 (Abstract).
6. Beary DF. The effects of fluoride and low calcium on the physical properties of the rat femur. *Anat Rec* 1969; 164: 305-16.
7. Chan MM, et al. Effect of fluoride on bone formation and strength in Japanese quail. *J Nutrition* 1973; 103: 1431-40.
8. Riggins RS, et al. The effect of fluoride supplementation on the strength of osteopenic bone. *Clin Orthop* 1976; 114: 352-7.
9. Wolinsky I, et al. Effects of fluoride on metabolism and mechanical properties of rat bone. *Am J Physiol* 1972; 223: 46-50.
10. Riggins RS, et al. The effects of sodium fluoride on bone breaking strength. *Calcif Tissue Res* 1974; 14: 283-9.
11. Uslu B. Effect of fluoride on collagen synthesis in the rat. *Res Exp Med (Berl)* 1983; 182: 7-12.
12. Burnell TW, et al. Effect of dietary fluorine on growth, blood and bone characteristics of growing-finishing pigs. *J Anim Sci* 1986; 63: 2053-67.
13. Mosekilde L, et al. Compressive strength, ash weight, and volume of vertebral trabecular bone in experimental fluorosis in pigs. *Calcif Tissue Res* 1987; 40: 318-22.
14. Turner CH, et al. The effects of fluoridated water on bone strength. *J Orthop Res* 1992; 10: 581-7.
15. Sogaard CH, et al. Effects of fluoride on rat vertebral body biomechanical competence and bone mass. *Bone* 1995; 16: 163-9.
16. Turner CH, Dunipace AJ. On fluoride and bone strength (letter). *Calcif Tissue Int* 1993; 53: 289-90.
17. Turner CH, et al. Fluoride treatment increased serum IGF-1, bone turnover, and bone mass, but not bone strength, in rabbits. *Calcif Tissue Int* 1997; 61: 77-83.
18. Chachra D, et al. The effect of fluoride treatment on bone mineral in rabbits. *Calcif Tissue Int* 1999; 64: 345-51.
19. Bohatyrewicz A. Effects of fluoride on mechanical properties of femoral bone in growing rats. *Fluoride* 1999; 32: 47-54.



8. RELACIÓN ENTRE EL TRATAMIENTO CON FLUORURO DE SODIO Y LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA (DMO, BMD)

RODOLFO C. PUCHE, ALFREDO RIGALLI*

Laboratorio de Biología Ósea, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario.

Resumen

Este artículo revisa la evidencia publicada, obtenida en estudios de clínicos y experimentales, sobre el efecto del tratamiento con NaF sobre el hueso trabecular y el hueso cortical.

Palabras clave: fluoruro, hueso trabecular, hueso compacto

EFFECTS OF TREATMENT WITH SODIUM FLUORIDE ON BONE MINERAL DENSITY

Summary

This article reviews clinical and experimental studies on trabecular and cortical bone, as affected by NaF treatment.

Key words: fluoride, trabecular bone, compact bone

Relación entre el tratamiento con Fluoruro de sodio y la Densidad Mineral Ósea (DMO, BMD)

a) Hueso trabecular

Riggs y col.¹ y Carter y Beaupre GS² observaron que el tratamiento con NaF aumentó significativamente la DMO vertebral sin reducir significativamente la tasa de fracturas vertebrales. Gutteridge y col., en un estudio randomizado con NaF y estrógenos, observaron aumento de la DMO vertebral junto con aumento de la tasa de fracturas.³

Como consecuencia del tratamiento con NaF, el hueso trabecular está formado por un núcleo de hueso normal (que conserva su ultraestructura) y hueso nuevo, fluorótico, cuya estabilidad (duro pero frágil) difiere del normal y llaman la atención sobre el hecho de que aunque este tratamiento aumenta la DMO, no mejora las propiedades biomecánicas.⁴ Lo mismo fue confirmado en las vértebras de la rata por Sogaard y col.⁵

Jiang y col.⁶ en experimentos con ratas tratadas durante largo tiempo con dosis bajas de NaF, concluyeron que la resistencia de las vértebras y del fémur no se modificaron por el tratamiento. Experimentando con conejos, Turner y col.⁷ informaron aumento de IGF-1 sérico, aumento del recambio

óseo, pero no de la resistencia.

b) Hueso Cortical

Dambacher y col.⁸ utilizando dos técnicas diferentes (densitometría y la medida del área cortical de los metacarpos IV-VI) observaron que el tratamiento con NaF aumentó la masa de hueso trabecular de las vértebras lumbares al mismo tiempo que disminuyó la del hueso cortical. Los estudios biofísicos y morfométricos efectuados por Bang y col.⁹ indicaron que el hueso fluorótico tiene mayor volumen de hueso trabecular ($p < 0,05$), y porosidad cortical ($p < 0,00005$) que los controles.

En las series estudiadas por Riggs y col.^{10, 11} y Hodsman y Drost¹² se observó que el aumento del hueso trabecular vertebral estaría asociado con la disminución de la densidad mineral del radio distal.

La reducción de la densidad ósea del hueso cortical fue observada por Burnell y col.¹³ en cerdos cuando su dieta contenía 130 ppm de flúor. Kragstrup y col.¹⁴ observaron en cerdos que la tasa de remodelación del hueso cortical y su porosidad aumentaban significativamente en los animales tratados.

Analizando histológicamente la cresta ilíaca de seres humanos, Kragstrup y col.¹⁴ y Gutteridge y col.¹⁵ concluyeron que el tratamiento con NaF, vitamina D, y calcio no tuvo efecto en aumentar el grosor de la cortical pero aumentó ligeramente su porosidad. Riggs concluyeron que el tratamiento con NaF produce un gran aumento del hueso trabecular vertebral que no se asocia con la reducción de la tasa de fracturas. En los sitios de hueso cortical asociado al trabecular, la incidencias de fracturas (no vertebrales) aumentó 3 veces.¹

En un interesante estudio prospectivo del contenido mineral óseo y la incidencia de fracturas, Sowers y col.¹⁶ concluyeron que la residencia en áreas con elevado contenido de flúor en el agua estuvo asociada con la reducción de la masa ósea

* Dirección postal: Cátedra de Química Biológica, Facultad de Ciencias Médicas. Santa Fe 3100, (2000) Rosario, SF, Argentina. Correo electrónico: arigalli@fmedic.unr.edu.ar

del radio distal en mujeres pre y posmenopáusicas, aumento de la tasa de pérdida ósea del radio en mujeres premenopáusicas y aumento significativo en la incidencia de fracturas entre las posmenopáusicas.

Phipps y col.¹⁷ compararon mujeres expuestas al flúor (agua de bebida) durante 20 años con otro grupo de no expuestas y observaron que las primeras tenían DMO más alta en la columna lumbar, cuello femoral y trocánter pero “*significantly lower density of the radius (a site of primarily cortical bone).*”

Gutteridge y col.,³ en un estudio de 27 meses de duración, efectuado en mujeres osteoporóticas posmenopáusicas, administraron NaF (60 mg/d) y observaron pérdida de masa ósea en todos los sitios medidos menos en la columna lumbar. Concluyen diciendo: “*The serial BMD changes in the present study are strongly suggestive of an anabolic action of fluoride at the spine (a chiefly trabecular site), with a catabolic action at many other sites, chiefly cortical.*”

Referencias

1. Riggs BL, et al. Effect of fluoride treatment on the fracture rates in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 1990; 322: 802-9.
2. Carter DR, Beaupre GS. Effects of fluoride treatment on bone strength. *J Bone Miner Res* 1990; 5 (Suppl 1): S177-84.
3. Gutteridge DH, et al. A randomized trial of sodium fluoride (60 mg) +/- estrogen in postmenopausal osteoporotic vertebral fractures: increased vertebral fractures and peripheral bone loss with sodium fluoride; concurrent estrogen prevents peripheral loss, but not vertebral fractures. *Osteoporos Int* 2002; 13: 158-70.
4. Fratzi P, et al. Abnormal bone mineralization after fluoride treatment in osteoporosis: a small-angle x-ray-scattering study. *J Bone Miner Res* 1994; 9: 1541-9.
5. Sogaard CH, et al. Effects of fluoride on rat vertebral body biomechanical competence and bone mass. *Bone* 1995; 16: 163-9.
6. Jiang Y, et al. Effects of low-dose long-term sodium fluoride preventive treatment on rat bone mass and biomechanical properties. *Calcif Tissue Int* 1996; 58: 30-9.
7. Turner CH, et al. Fluoride treatment increased serum IGF-1, bone turnover, and bone mass, but not bone strength, in rabbits. *Calcif Tissue Int* 1997; 61: 77-83.
8. Dambacher MA, et al. Long term effects of sodium fluoride in osteoporosis. En: Fluoride and Bone (Courvoisier B, Donath A, Baud CA, eds). Proceedings of the 2nd Symposium CEMO, Nyon, Switzerland, 1977. Bern; Huber, 1978. Pp. 238-41.
9. Bang S, et al. Morphometric and biophysical study of bone tissue in industrial fluorosis. En: Fluoride and Bone (Courvoisier B, Donath A, Baud CA, eds). Proceedings of the 2nd Symposium CEMO, Nyon, Switzerland, 1977. Bern; Huber, 1978. Pp. 168-75.
10. Riggs BL, et al. Treatment of primary osteoporosis with fluoride and calcium: Clinical tolerance and fracture occurrence. *JAMA* 1980; 243: 446-9.
11. Riggs BL. Treatment of osteoporosis with sodium fluoride: An appraisal. *J Bone Miner Res* 1983; 2: 366-93.
12. Hodsmann AB, Drost DJ. The response of vertebral bone mineral density during the treatment of osteoporosis with sodium fluoride. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 69: 932-8.
13. Burnell TW, et al. Effect of dietary fluorine on growth, blood and bone characteristics of growing-finishing pigs. *J Anim Sci* 1986; 63: 2053-67.
14. Kragstrup J, et al. Effects of sodium fluoride, vitamin D, and calcium on cortical bone remodeling in osteoporotic patients. *Calcif Tissue Int* 1989; 45: 337-41.
15. Gutteridge DH, et al. Spontaneous hip fractures in fluoride-treated patients: potential causative factors. *J Bone Miner Res* 1990; 5(Suppl 1): S205-15.
16. Sowers M, et al. A prospective study of bone mineral content and fracture in communities with differential fluoride exposure. *Am J Epidemiol* 1991; 133: 649-60.
17. Phipps KR, et al. Community water fluoridation, bone mineral density and fractures: prospective study of effects in older women. *Br Med J* 2000; 321: 860-4.



10. ASOCIACIÓN ENTRE EL TRATAMIENTO CON FLUORURO DE SODIO Y LAS FRACTURAS ÓSEAS

RODOLFO C. PUCHE, ALFREDO RIGALLI*

Laboratorio de Biología Ósea, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario.

Resumen

Este artículo revisa la evidencia acumulada sobre los efectos del tratamiento con fluoruro de sodio sobre las fracturas óseas. Las razones de las controversias suscitadas incluyen la alta tasa de efectos colaterales (dolores artríticos y problemas gastrointestinales), el efecto contradictorio sobre la masa ósea, la estrecha ventana terapéutica y sobre todo, la tendencia del tratamiento con fluoruro de sodio a aumentar la tasa de fracturas, en particular de cadera.

Palabras clave: tratamiento, fluoruro de sodio, ventana terapéutica, fracturas.

ASSOCIATION BETWEEN THE INCIDENCE OF BONE FRACTURES AND TREATMENT WITH SODIUM FLUORIDE

Summary

This article reviews the cumulated evidence on the effects of sodium fluoride treatment on bone fractures. The controversies on the benefits of fluoride administration are based on the high rate of collateral effects (arthritis and gastrointestinal problems), the contradictory effect on bone mass, the narrow therapeutic window and the tendency of fluoride treatment to increase the rate of fractures, specially that of the hip.

Key words: treatment, sodium fluoride, therapeutic window, hip fractures.

Ensayos clínicos que informan la asociación entre terapia con fluoruro de sodio y fracturas óseas.

Debido a su capacidad de aumentar la masa ósea (ver artículo 8) el fluoruro de sodio se ha usado desde 1960 para el tratamiento de la osteoporosis, en particular la osteoporosis vertebral. Sin embargo, aún es fuente de fuertes controversias y ya no es recomendado por los *US National Institutes of Health*, la *Osteoporosis Society of Canada*, el gobierno francés, etc. Las razones de la controversia incluyen la alta tasa de efectos colaterales (dolores artríticos y problemas gastrointestinales), el efecto contradictorio sobre la masa ósea (ver artículo 8), la estrecha ventana terapéutica (el escaso margen entre las dosis benéficas y la tóxicas) y sobre todo,

la tendencia del tratamiento con fluoruro de sodio a aumentar la tasa de fracturas, en particular de cadera.

Inkovaara y col.¹ fueron probablemente los primeros en informar sobre las fracturas y la exacerbación de la artrosis de pacientes tratados con fluoruro de sodio y manifestaron su creencia que el tratamiento fue la causa de las fracturas. De mismo modo, Gerster y col.² informaron de dos pacientes con osteoporosis de la columna y moderada insuficiencia renal, tratados con fluoruro, que padecieron fracturas espontáneas, bilaterales, durante el tratamiento con fluoruro, calcio y vitamina D. Además, alertaron sobre el riesgo de la asociación de fluoruro e insuficiencia renal. En mujeres posmenopáusicas, Dambacher y col.³ observaron el aumento de fracturas vertebrales en el primer año de tratamiento y sugirieron la posibilidad de que el fluoruro indujera microfracturas.

O'Duffy y col.⁴ intentaron definir el mecanismo del dolor de las extremidades inferiores en pacientes tratados con fluoruro de sodio. No tuvieron éxito en aclararlo pero se manifestaron seguros de que el dolor proviene de las microfracturas, que son una complicación de la terapéutica con fluoruro de sodio. Observaciones semejantes fueron producidas por Orcel y col.⁵ "*Fluoride seems to be responsible for the fissures which cannot be avoided by calcium and/or vitamin D intake... When such fissures occur, fluoride therapy must be discontinued and the limb put at rest...*".

La incidencia de fracturas de cadera en mujeres osteoporóticas tratadas con fluoruro de sodio aumentó 10 veces respecto de las mujeres de la misma edad (Hedlund y Gallagher⁶). Según Orcel y col.⁷ las fracturas por estrés de los miembros inferiores aumentan durante el tratamiento con fluoruro de sodio y podría estar asociado con un incremento de la resorción del hueso trabecular en algunos de los pacientes tratados. En un grupo de 61 pacientes, Bayley y col.⁸ observaron que las fracturas se asociaron con el contenido óseo de flúor ($P < 0,05$)

* Dirección postal: Cátedra de Química Biológica, Facultad de Ciencias Médicas. Santa Fe 3100, (2000) Rosario, SF, Argentina. Correo electrónico: arigalli@fmedic.unr.edu.ar

y con la edad ($P < 0,05$) no obstante el rápido y marcado aumento de la masa ósea. Gutteridge y col.⁹ destacaron en su serie de pacientes la aparición de fracturas espontáneas.

Riggs y col.¹⁰ informaron que el tratamiento con fluoruro estuvo "associated with a significant three-fold increase in the incidence of nonvertebral fractures, both incomplete and complete... This increased rate of fracturing suggests that bone formed during fluoride therapy has increased fragility". En coincidencia, Schnitzler y col.¹¹ observaron que "the peripheral fracture rate during treatment was three times that in untreated osteoporosis".

Gutteridge y col.¹² en un estudio de buen diseño, con mujeres posmenopáusicas, investigando el efecto del tratamiento con fluoruro con y sin el agregado de estrógenos, observaron aumento de las fracturas vertebrales y pérdida de masa ósea periférica. El tratamiento concurrente con estrógenos previno la pérdida de masa ósea periférica pero no la vertebral.

Referencias

1. Inkovaara J, et al. Prophylactic fluoride treatment and aged bones. *Br Med J* 1975; 3: 73-4.
2. Gerster JC, et al. Bilateral fractures of femoral neck in patients with moderate renal failure receiving fluoride for spinal osteoporosis. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1983; 287: 723-5.
3. Dambacher MA, et al. Long-term fluoride therapy of postmenopausal osteoporosis. *Bone* 1986; 7: 199-205.
4. O'Duffy JD, et al. Mechanism of acute lower extremity pain syndrome in fluoride-treated osteoporotic patients. *Am J Med* 1986; 80: 561-6.
5. Orcel P, et al. [Spontaneous fissures and fractures of the legs in patients with osteoporosis treated with sodium fluoride]. *Presse Med* 1987; 16: 571-5.
6. Hedlund LR, Gallagher JC. Increased incidence of hip fracture in osteoporotic women treated with sodium fluoride. *J Bone Miner Res* 1989; 2: 223-5.
7. Orcel P, et al. Stress fractures of the lower limbs in osteoporotic patients treated with fluoride. *J Bone Miner Res* 1990; 5(Suppl 1): S191-4.
8. Bayley TA, et al. Fluoride-induced fractures: relation to osteogenic effect. *J Bone Miner Res* 1990; 5 (Suppl 1): S217-22.
9. Gutteridge DH, et al. Spontaneous hip fractures in fluoride-treated patients: potential causative factors. *J Bone Miner Res* 1990; 5 Suppl 1:S205-15.
10. Riggs BL, et al. Effect of fluoride treatment on the fracture rates in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 1990; 322: 802-9.
11. Schnitzler CM, et al. 1990). Bone fragility of the peripheral skeleton during fluoride therapy for osteoporosis. *Clin Orthop* 261: 268-75.
12. Gutteridge DH, et al. A randomized trial of sodium fluoride (60 mg) +/- estrogen in postmenopausal osteoporotic vertebral fractures: increased vertebral fractures and peripheral bone loss with sodium fluoride; concurrent estrogen prevents peripheral loss, but not vertebral fractures. *Osteoporos Int* 2002; 13: 158-70.



11. FARMACOCINÉTICA DE DIFERENTES COMPUESTOS CON FLÚOR Y PREPARACIONES FARMACÉUTICAS

ALFREDO RIGALLI,* RODOLFO C. PUCHE

Laboratorio de Biología Ósea y Metabolismo Mineral, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario.

Resumen

El fluoruro de sodio (NaF) y monofluorofosfato de sodio (MFP) han sido las sales con flúor más investigadas en lo referente a su metabolismo. El NaF al ser administrado por vía oral se absorbe en estómago e intestino, en plasma se encuentra libre y es depurado de este compartimiento por riñón y por hueso. En este último el fluoruro reemplaza al oxhidrilo del cristal de hidroxiapatita formando fluoroapatita. El MFP se comenzó a utilizar por las ventajas sobre el NaF: mejor tolerancia gástrica y compatibilidad con la coadministración con calcio. Sin embargo la farmacocinética del MFP muestra gran diferencia con NaF. El MFP se absorbe en el estómago e intestino, uniéndose a la alfa-2-macroglobulina plasmática, la que se inactiva y es depurada por receptores del hueso e hígado. Estas proteínas se depositan en hueso, las que son luego metabolizadas a péptidos de menor peso molecular y finalmente a fluoruro, determinando una mayor vida media del flúor en el organismo y un efecto sostenido sobre el incremento de la masa ósea.

Palabras clave: fluoruro, MFP, fluoremia, comprimidos, farmacocinética.

PHARMACOKINETICS OF DIFFERENT FLUORINATED SUBSTANCES AND PHARMACEUTICAL PREPARATIONS

Summary

Sodium fluoride (NaF) and disodium monofluorophosphate (MFP) are compounds containing fluoride extensively studied in their actions and metabolism. After an oral dose of NaF, fluoride is absorbed in stomach and intestine. In blood, fluoride is not bound to proteins and is cleared by kidneys and bones. In calcified tissues, fluoride replaces the hydroxyl of hydroxyapatite to form fluorapatite. MFP has better gastric tolerance and co-administration with calcium does not hinder their bioavailability. However, there are more differences between NaF and MFP. After an oral dose, MFP is absorbed through gastric and duodenal mucosa and binds to plasma alpha-2-macroglobulin. The protein is inactivated by the binding and the complex is cleared from plasma by receptors located in bone and liver. The complex is accumulated in bone matrix and is

then metabolized to lower molecular weight peptides, and finally to fluoride. The described metabolism enlarges the half-life of fluoride in the body and it is probably the cause of its sustained effect on bone mass.

Key words: fluoride, MFP, fluoremia, tablets, pharmacokinetic

El estudio de la farmacocinética de una droga implica el conocimiento de los parámetros matemáticos asociados al modelo que se utiliza para explicar el metabolismo de dicha droga. Con respecto a las preparaciones farmacéuticas de NaF y MFP, en general la bibliografía existente describe estudios incompletos, en los que no se menciona el método de medición utilizado para determinar la fluoremia.¹⁻³ En otros casos se han realizado estudios para demostrar la equivalencia de nuevas preparaciones con las ya existentes.^{4,5} En estos estudios se demuestra, teniendo en cuenta las limitaciones planteadas, que la biodisponibilidad de flúor (medida por el área bajo la curva de fluoremia) a partir del NaF es independiente si se administra en tabletas o en solución, mientras que la coadministración de calcio con NaF produce disminución de la biodisponibilidad de flúor,⁶ de la misma manera que lo hacen comidas ricas en lácteos. Contrariamente a los que ocurre con el NaF, la coadministración de sales de calcio con MFP no disminuye su biodisponibilidad y en algunos casos la incrementa.

Existe consenso acerca de que para que el fluoruro tenga efecto sobre la masa ósea la concentración plasmática debe superar 5-10 $\mu\text{moles/L}$. Estudios farmacocinéticos comparativos entre comprimidos de NaF de 25 mg de liberación lenta mostraron que la fluoremia se mantiene por encima de dicho valor, al ser administrado en dos tomas diarias durante tres meses.⁷ El efecto del flúor sobre el esqueleto parece estar relacionado en parte a los valores de fluoremia y la persistencia del fluoruro en el organismo. Estudios farmacocinéticos llevados adelante en pacientes tratados con MFP por osteoporosis, permitieron determinar que aquellos pacientes que responden al tratamiento son los que tiene fluoremias pico más alta, menor clearance re-

* Dirección postal: Cátedra de Química Biológica, Facultad de Ciencias Médicas. Santa Fe 3100, (2000) Rosario, SF, Argentina. Correo electrónico: arigalli@fmedic.unr.edu.ar

nal de fluoruro y mayor clearance extrarrenal.¹

Los estudios farmacocinéticos comparativos entre NaF y MFP no mostraron diferencias importantes. Esta observación se realizó utilizando potenciometría directa para medir la fluoremia.⁸ Sin embargo, la utilización de técnicas más sensibles y que permiten discriminar diferentes compuestos de flúor, permitieron demostrar que la farmacocinética de NaF y MFP son diferentes.⁹

El NaF al ser administrado por vía oral se absorbe a nivel gástrico e intestinal pasando al plasma donde circula libre al estado de fluoruro. El anión es depurado por riñón o bien es captado por el tejido óseo e incluido en el mineral, donde reemplaza al oxhidrilo del cristal de hidroxiapatita, formando fluoroapatita (Figura 1).

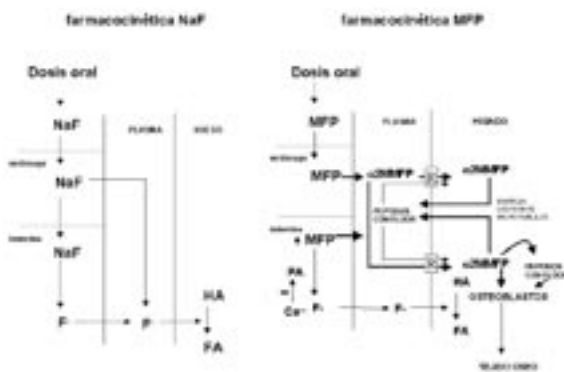


Figura 1. Farmacocinética del NaF y del MFP, luego de una dosis oral.

Por su parte el MFP (Figura 1) administrado oralmente se absorbe en estómago en una pequeña fracción,¹⁰ la que al ingresar al compartimiento plasmático se liga a proteínas del plasma.¹¹ La proteína más importante que cumple esta función es la alfa-2-macroglobulina, que liga MFP en relación equimolar. La fracción de MFP que no se absorbe en estómago es absorbida en intestino en forma de fluoruro, luego de ser el MFP hidrolizado por la fosfatasa alcalina intestinal. Esta enzima es inhibida en forma no competitiva por el calcio, de esta manera la coadministración de MFP mejora su biodisponibilidad, ya que al inhibir la enzima mencionada, aumenta la vida media del MFP en la luz del duodeno, permitiendo su absorción y ligado a la alfa-2-macroglobulina.¹² Esta proteína se inactiva luego de la unión a MFP y es depurada por receptores ubicados en hígado y hueso donde el complejo MFP-alfa-2-macroglobulina es metabolizado a péptidos con flúor.¹³ En hueso de ratas tratadas con MFP, el contenido de flúor es mayor que en el caso de ratas tratadas con NaF, existien-

do además flúor ligado a proteínas y péptidos que se libera al metabolizarse las proteínas a péptidos de menor peso molecular, siendo estos recaptados por el hueso. Esta recirculación de los compuestos con flúor aumentaría la vida media del flúor en el organismo, siendo esta la principal causa de la diferencia con NaF, que sólo presenta en hueso flúor iónico.¹⁴ A igualdad de dosis, el área bajo la curva de fluoremia (fluoruro + flúor ligado a proteínas) es el doble para MFP con respecto a fluoruro de sodio,¹⁵ (Figura 2) no existiendo diferencias en los niveles de fluoruro plasmático entre NaF y MFP.

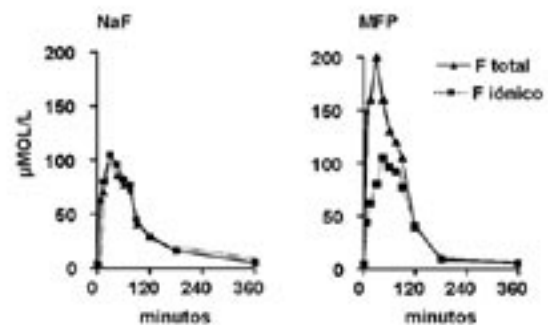


Figura 2. Flúor iónico y flúor total luego de una dosis oral de NaF (panel izquierdo) y de MFP (panel derecho)

En tratamientos crónicos con MFP o NaF de mujeres postmenopáusicas se hallaron diferencias significativas en la fluoremia. Mientras que en el caso de NaF se observó un aumento sostenido en la fluoremia iónica durante 18 meses, en el grupo tratado con MFP el flúor iónico se mantuvo en niveles inferiores a 1 µmol/L. La fluoremia (fluoruro + flúor unido a proteínas) no difirió entre ambos grupos. En el grupo MFP el aumento de fluoremia se debió a un aumento del flúor ligado a proteínas, mientras que en grupo NaF el aumento se debió a flúor iónico. Los efectos sobre la densidad mineral medida por DXA fue similar.¹⁶

El fracaso en la terapéutica con compuestos con flúor podría deberse en primer lugar al desconocimiento de procesos metabólicos que involucran al fluoruro. Por ejemplo las dosis altas de fluoruro no producen necesariamente fluoremias elevadas, dado que la alta concentración del anión en intestino produce inhibición de su propia absorción.¹⁷ Por esta razón los comprimidos con recubrimiento entérico tendrían menos biodisponibilidad, ya que al disolverse en intestino generan altas concentraciones locales.¹⁷

La aplicación de modelos farmacocinéticos racionales y el perfeccionamiento de las técnicas de me-



dición permitirán seguramente conocer más sobre los factores que influyen sobre la biodisponibilidad de drogas con flúor y su relación con los efectos terapéuticos deseados y los efectos colaterales.

Referencias

1. Kraenzlin ME, Kraenzlin C, Farley SM, et al. Fluoride pharmacokinetics in good and poor responders to fluoride therapy. *J Bone Miner Res* 1990; 5: S49-52.
2. Brazier M, Fardelonne P, Bellony R, et al. Comparison of the fluoride bioavailability from two oral preparations of monofluorophosphate disodium in comparison with various calcium salts. *Therapie* 1990; 45: 235-41.
3. Chaleil D, Mauras Y, Allain P. Oral pharmacokinetics of an enteric coated sodium fluoride preparation. *Trace Elem Med* 1986; 3: 11-3.
4. Fuchs C, Haase W, Maurer H. Pharmacokinetics of a fluoride-calcium preparation for the treatment of osteoporosis. *Arzneimittelforschung* 1984; 34: 832-5.
5. Warneke G, Setnikar I. Bioavailability and pharmacokinetics of fluoride from two glutamine. *Arzneimittelforschung* 1993; 43: 584-90.
6. Trautner K. Influence of food on relative bioavailability of fluoride in man from Na₂FPO₃-containing tablets for the treatment of osteoporosis. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1989; 27: 242-9.
7. Sakhaee K, Pak C. Fluoride bioavailability from immediate release sodium fluoride with calcium carbonate compared with slow release sodium fluoride with calcium citrate. *Bone Miner* 1991; 14: 131-6.
8. Setnikar I, Maurer H. Bioequivalence of sodium monofluorophosphate with sodium fluoride and compatibility with calcium. *Arzneimittelforschung* 1990; 40: 994-9.
9. Rigalli A, Ballina JC, Beinlich A, Alloatti R, Puche RC. Pharmacokinetics differences between sodium fluoride and sodium monofluorophosphate and comparative bone mass increasing activity of both compounds, in the rat. *Arzneimittelforschung* 1994; 44: 762-6.
10. Rigalli A, Cabrerizo M, Beinlich A, Puche RC. Gastric and intestinal absorption of monofluorophosphate and fluoride in the rat. *Arzneimittelforschung* 1994; 44: 651-5.
11. Rigalli A, Esteban L, Pera L, Puche RC. Binding of monofluorophosphate to alfa-2-macroglobulin and C3. *Calcif Tissue Int* 1997; 60: 86-9.
12. Beinlich AD, Brun LR, Rigalli A, Puche RC. Intestinal absorption of disodium monofluorophosphate in the rat as affected by concurrent administration of calcium. *Arzneimittelforschung* 2003; 53: 584-9.
13. Esteban L, Rigalli A, Puche RC. Metabolism of the complex monofluorophosphate-alfa-2-macroglobulin in the rat. *Medicina (B Aires)* 1999; 59: 151-6.
14. Pera LI, Brun LR, Rigalli A, Puche RC. Identificación de proteínas derivadas de la alfa-2-macroglobulina en el hueso de ratas tratadas con monofluorofosfato de sodio. Rol de estas proteínas en la biodisponibilidad de flúor. *Rev Med Rosario* 2003; 69: 36-43.
15. Rigalli A, Morosano M, Puche RC. Bioavailability of fluoride administered as sodium fluoride or sodium monofluorophosphate to human. *Arzneimittelforschung* 1996; 46: 531-3.
16. Rigalli A, Pera L, Morosano M, et al. In postmenopausal osteoporosis the bone-increasing effect of monofluorophosphate is not dependent on serum fluoride. *Medicina (B Aires)* 1999; 59: 157-61.
17. Rigalli A, Beinlich A, Puche RC. Intestinal absorption of fluoride at high luminal concentration of fluoride. *Arzneimittelforschung* 2001; 51: 151-5.

12. ENFERMEDAD RENAL: IMPORTANTE FACTOR DE RIESGO DE ACUMULACIÓN DE FLÚOR

RODOLFO C. PUCHE, ALFREDO RIGALLI*

Laboratorio de Biología Ósea y Metabolismo Mineral, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario

Resumen

La enfermedad renal reduce la capacidad de excretar fluoruro por vía urinaria y produce acumulación del anión en el hueso y las articulaciones. Los sujetos sanos excretan el 50% de la ingesta diaria de fluoruro por vía urinaria, la que puede reducirse al 6% en sujetos con insuficiencia renal crónica. A menudo los pacientes renales manifiestan polidipsia (secundaria a la poliuria) y en consecuencia beben mas agua y aumentan su exposición al fluoruro. El países donde la fluorosis es endémica (por ejemplo: India) se ha abogado en pro del uso de agua destilada para la hidratación y diálisis de insuficientes renales.

Palabras clave: enfermedad renal, fluorosis

IMPACT OF RENAL INSUFFICIENCY ON FLUORIDE METABOLISM

Summary

Renal insufficiency brings about cumulation of fluoride in bone mineral and joints. Healthy subjects excrete 50% of fluoride intaken through renal excretion. The latter can fall as low as 6% in chronically renal insufficient patients. Often, the latter exhibit polydipsia (secondary to polyuria) which increases water intake (and fluoride exposition). In countries where fluorosis is endemic (e.g.: India) the use of distilled water is advocated for hydration or dyalisis of renal insufficient patients.

Key words: renal insufficiency, fluorosis

La enfermedad renal reduce la capacidad de excretar fluoruro por vía urinaria y produce acumulación del anión en el hueso y las articulaciones. Los sujetos sanos excretan el 50% de la ingesta diaria de fluoruro por vía urinaria, la que puede reducirse al 6% en sujetos con insuficiencia renal crónica.¹ A menudo los pacientes renales manifiestan polidipsia (secundaria a la poliuria) y en consecuencia beben mas agua y aumentan su exposición al fluoruro.

Como ilustración del riesgo aumentado de acumulación de flúor en pacientes renales, el informe de Juncos y Donadio se ha transformado en un clásico: dos renales jóvenes de 17 y 18 años de edad desarrollaron fluorosis ósea bebiendo agua conteniendo 1,7 y 2,6 ppm de flúor.²

Aun en diferentes formas de enfermedad renal, los informes sobre la acumulación de flúor en el esqueleto son coincidentes.³⁻⁵

Un comentario adicional merecen dos informes^{6,7} que destacan la proporción de hemodializados en el grupo estudiado (flúor óseo aumentado 4 veces y fluoremia entre 3,5 y 5 veces más que en los controles sanos). En la India, uno de los países con mayor incidencia de fluorosis, el grupo de la Dra. Raja Reddy,⁸ de la universidad médica Gandhi, subraya que “los pacientes que sufren de enfermedades crónicas, y de éstos los transplantados renales...son más vulnerables a la osteofluorosis e incluso a las complicaciones neurológicas que otros”... “Cuando la función renal declina, por defecto propio o envejecimiento, el contenido en flúor del plasma y del hueso aumenta.” La Fundación Nacional del Riñón, en su Documento de posición sobre Fluoridación - 1980 (citado en 8) también expresa la preocupación por la retención del fluoruro en pacientes renales. Advierte a los médicos que deben “supervisar la calidad del agua” y recomienda el uso de agua libre de flúor tanto para beber como para ser empleada en las diálisis.

Referencias

1. Kono K, Yoshida Y, Watanabe M, et al. Urinary fluoride excretion in fluoride exposed workers with diminished renal function. *Ind Health* 1984; 22: 33-40.
2. Juncos LI, Donadio JV. Renal failure and fluorosis. *JAMA* 1972; 222: 783-5.
3. Call RA, Greenwood DA, Lecheminant WH, et al. Histological and chemical studies in man on effects of fluoride. *Public Health Rep* 1965; 80: 529-38.
4. Marier J, Rose D. Environmental Fluoride. National Research Council of Canada. Associate Committee on Scientific Criteria for Environmental Quality. NRCC No. 16081, 1977.
5. Hefti A, Marthaler TM. Bone fluoride concentrations after 16 years of drinking water fluoridation. *Caries Res* 1981; 15: 85-9.
6. Spencer H, Kramer L, Gatzka C, et al. Fluoride metabolism in patients with chronic renal failure. *Arch Intern Med* 1980; 140: 1331-5.
7. Gerster JC, Charhon SA, Jaeger P, et al. Bilateral fractures of femoral neck in patients with moderate renal failure receiving fluoride for spinal osteoporosis. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1983; 287: 723-5.
8. Sesikeran B, Krishnamurthy D, Harinarayana Rao S, et al. Studies on skeletal muscle biopsies in endemic skeletal fluorosis. *Neurol India* 2000; 48:187-8.

* Dirección postal: Cátedra de Química Biológica, Facultad de Ciencias Médicas. Santa Fe 3100, (2000) Rosario, SF, Argentina. Correo electrónico: arigalli@fmedic.unr.edu.ar



13. FLUOROSIS ESQUELÉTICA

RODOLFO C. PUCHE, ALFREDO RIGALLI*

Laboratorio de Biología Ósea y Metabolismo Mineral, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario

Resumen

La descripción de la fluorosis ósea surgió del conjunto de investigaciones efectuadas en áreas donde el clima, asociado al elevado contenido de flúor del agua de bebida, condujeron a un elevado producto de ingesta diaria de flúor x tiempo de exposición. Los trabajos que describen la entidad coinciden en general, sus diferencias son explicables teniendo en cuenta que hay múltiples factores asociados: ingesta de calcio y de vitamina D, estado nutricional general, etc. El desarrollo de la fluorosis del esqueleto está asociada con el enriquecimiento en flúor del mineral óseo y se manifiesta con dolores esporádicos, endurecimiento de las articulaciones, osteoesclerosis de la pelvis y la columna (fase clínica inicial), pasando por dolores articulares crónicos, síntomas artríticos, calcificación de ligamentos, osteoesclerosis agravada, con o sin osteoporosis de los huesos largos hasta producir en la fase avanzada severa limitación de los movimientos articulares, calcificación de ligamentos del cuello, columna vertebral, deformidades invalidantes de la columna y articulaciones principales, compresión de la médula espinal y defectos neurológicos.

Palabras clave: flúor, articulaciones, osteoesclerosis, deformaciones invalidantes

SKELETAL FLUOROSIS

Summary

The description of the skeletal fluorosis has been produced by a series of clinical investigations in areas when the climate associated with the fluoride content of tap water produced high levels of exposure of fluorine. All reports are mostly coincident, the differences strongly suggests that there are multiple associated factors: calcium and vitamin D intakes, nutritional status, etc. The development of skeletal fluorosis is associated with the increase in fluoride bone mineral content and shown as spora-

dic bone and articular pain, through chronic joints pain, arthritic symptoms, ligaments calcification, osteoesclerosis with or without osteoporosis of long bones up to the severe limitation of joints movement (neck, vertebral column) crippling deformities of the column and main joints, compression of the spinal cord and neurological defects.

Key words: fluoride, joints, osteoesclerosis, crippling fluorosis

La descripción de la fluorosis ósea surgió del conjunto de investigaciones efectuadas en áreas donde el clima, asociado al elevado contenido de flúor del agua de bebida, produjeron un elevado producto de **ingesta diaria de flúor x tiempo de exposición**. Los trabajos que describen la entidad coinciden en general, sus diferencias son explicables teniendo en cuenta que hay múltiples factores asociados: ingesta de calcio y de vitamina D, estado nutricional general, etc.

La fluorosis produce cambios en la estructura de los huesos, haciéndolos frágiles. Las primeras etapas de la fluorosis se caracterizan por aumento de masa ósea, detectable radiográficamente. Si la ingesta importante de flúor persiste por varios años aparecen dolores articulares y dificultades en la ambulación. La forma mas grave de fluorosis del esqueleto es llamada crippling skeletal fluorosis (fluorosis invalidante) por la calcificación de los ligamentos, inmovilidad, emaciación y problemas neurológicos relacionados con la compresión de la médula espinal.

La mayoría de los expertos ambientales de la salud creen que los efectos perceptibles pero sutiles deben considerarse "precursores" de efectos más serios.

* Dirección postal: Cátedra de Química Biológica, Facultad de Ciencias Médicas. Santa Fe 3100, (2000) Rosario, SF, Argentina. Correo electrónico: arigalli@fmedic.unr.edu.ar

Tabla 1.
Fases del desarrollo de la fluorosis del esqueleto.

Fase	F óseo ppm	Síntomas y signos
Hueso "normal"	500-1000	
Fase preclínica	3500-5500	Asintomática, aumento apenas detectable en la masa ósea.
Fase clínica I	6000-7000	Dolores esporádicos, endurecimiento de las articulaciones, osteoesclerosis de la pelvis y la columna
Fase clínica II	7500-9000	Dolores articulares crónicos, síntomas artríticos, calcificación de ligamentos, osteoesclerosis agravada, con o sin osteoporosis de los huesos largos.
Fase III, avanzada	>9000	Limitación del movimiento articular, calcificación de ligamentos del cuello, columna vertebral, deformidades invalidantes de la columna y articulaciones principales, compresión de la médula espinal y efectos neurológicos.

En los niños son frecuentes las deformaciones óseas, a menudo invalidantes (genu valgum o varum).¹ La investigación radiológica permite observar combinaciones de osteomalacia, osteoporosis (esqueleto apendicular) y osteoesclerosis (esqueleto axial). La combinación de osteoporosis en el extremo distal del fémur y proximal del cúbito y radio y de los metacarpianos y en algunos pacientes: pelvis, cuello femoral y extremo distal del cúbito y radio.²⁻⁷

En la etapa clínica temprana de la fluorosis esquelética, aparecen los síntomas y signos expresados en la Tabla 1.

En la segunda etapa clínica, los dolores en los huesos se convierten en constantes y algunos ligamentos comienzan a calcificarse. La osteoporosis puede ocurrir en los huesos largos, y se observan signos de osteosclerosis vertebral (condición en la cual los huesos son más densos con estructura cristalina anormal).

En la fluorosis esquelética avanzada (crippling skeletal fluorosis), las extremidades son frágiles y la movilidad difícil. Las vértebras se sueldan parcialmente, lisiando al paciente.

La mayoría de los expertos en fluorosis esquelética convienen que la ingestión de 20 mg de flúor por

día, durante 20 años o más puede causar fluorosis esquelética avanzada. Las dosis de 2-5 mg F por día pueden causar las etapas preclínicas y clínicas. La situación es complicada porque el riesgo de fluorosis esquelética depende de algo más que del nivel del fluoruro en el agua. También depende del estado nutricional, de la ingesta de vitamina D y de proteínas, de los aportes diarios de calcio, etc.

La fluorosis esquelética es un grave problema de salud en dos de los países más grandes del globo: India y China. UNICEF, sin embargo, estima que la fluorosis es endémica en por lo menos 25 países. La incidencia de la fluorosis, incluyendo todos los casos en sus diferentes estadios, es desconocida, y se estima "en decenas de millones de personas". Las causas más comunes de fluorosis incluyen la inhalación de polvo (trabajadores en minas de criolita), humos (industria, utilización de carbón como combustible en la cocina de las casas) y agua de bebida.

De acuerdo con estudios de campo, la fluorosis en India y China ocurre cuando la concentración de flúor en el agua supera 1 ppm y ha sido observada en comunidades con sólo 0,7 ppm.⁸⁻¹²

El gobierno chino considera como riesgo de fluorosis esquelética la ingesta de agua con más de 1 ppm de flúor.¹²



Las figuras que siguen ejemplifican algunos de los defectos esqueléticos inducidos por el flúor.



Fig. A: Columna vertebral fluorótica (obtenida de www.fluoridealert.org).

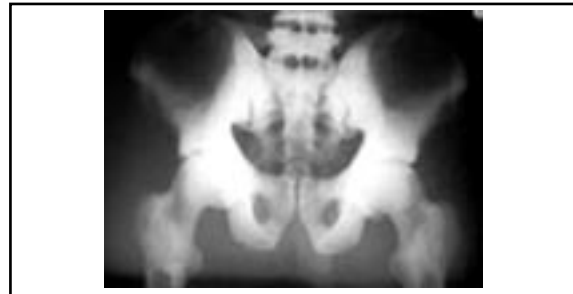


Fig. B: Pelvis fluorótica (obtenida de www.fluoridealert.org).



Fig. C: Rigidez de la columna (obtenida de www.fannz.org.nz).



Fig. D: Genu varum (obtenida de www.rvi.net).



Fig. E: Fluorosis dental moderada (obtenida de www.des.tu-freiberg.de).



Fig. F: Fluorosis dental severa (obtenida de www.des.tu-freiberg.de).

Referencias

1. Krishnamachari KA, Krishnaswamy K. Genu valgum and osteoporosis in an area of endemic fluorosis. *Lancet* 1973; 2: 877-9.
2. Christie DP. The spectrum of radiographic bone changes in children with fluorosis. *Radiology* 1980; 136: 85-90.
3. Lian ZC, Wu EH. Osteoporosis - an early radiographic sign of endemic fluorosis. *Skeletal Radiol* 1986; 15: 350-3.
4. Mithal A, Trivedi N, Gupta SK, et al. Radiological spectrum of endemic fluorosis: relationship with calcium intake. *Skeletal Radiol* 1993; 22: 257-61.
5. Wang Y, Yin Y, Gilula LA, Wilson AJ. Endemic fluorosis of the skeleton: radiographic features in 127 patients. *Am J Roentgenol* 1994; 162: 93-8.
6. Li D, Duan R, Wang S, et al. Epidemiological and radiological study of skeletal fluorosis in Minzhu Town, Longli County, Guizhou Province, China. *Fluoride* 1999; 32: 55-9.
7. Ando M, Tadano M, Yamamoto S, et al. Health effects of fluoride pollution caused by coal burning. *Sci Total Environ* 2001; 271: 107-16.
8. Singh A, Jolly SS. Endemic fluorosis. *Quart J Med* 1961; 30: 357-72.
9. Jolly SS, Prasad S, Sharma R. Endemic fluorosis in India. *J Assoc Physicians India* 1970; 18: 459-71.
10. Leone NC, Martin AE, Minoguchi G, et al. Fluorides and general health. *Monogr Ser World Health Organ* 1970; 59: 273-321.
11. Susheela AK, Bhatnagar M. Fluoride toxicity: a biochemical and scanning electron microscopic study of enamel surface of rabbit teeth. *Arch Toxicol* 1993; 67: 573-9.
12. Bo Z, Mei H, Yongsheng Z, et al. Distribution and risk assessment of fluoride in drinking water in the west plain region of Jilin province, China. *Environ Geochem Health* 2003; 25: 421-31.

14. ARTRITIS ASOCIADA A LA FLUOROSIS

RODOLFO C. PUCHE, ALFREDO RIGALLI*

Laboratorio de Biología Ósea y Metabolismo Mineral, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario

Resumen

La artritis asociada a la fluorosis se considera la primera manifestación clínica de la fluorosis ósea. Las primeras dos fases de la fluorosis del esqueleto suelen no diagnosticarse adecuadamente porque los síntomas que refieren los pacientes imitan los de la artritis. Existe muy poca investigación para determinar su incidencia y el tema está ausente en libros de referencia al tratar los efectos del flúor. Es muy probable, que aun en áreas de fluorosis endémica, la consulta por espondilitis inhabilitante u otras afecciones articulares, hayan sido rotuladas como artritis crónicas.

Palabras clave: artritis, fluorosis esquelética.

ARTHRITIC PAINS AND FLUORIDE ACCUMULATION

Summary

Arthritis is considered the first clinical manifestation of bone fluorosis. The first two phases of skeletal fluorosis may pass undiscovered because the symptoms referred by patients are similar to the arthritis. The incidence of the symptom is not known and the point is absent in reference books when dealing with the effects of fluoride. It is deemed highly likely that in areas of endemic fluorosis crippling articular defects may have been labelled as "chronic arthritis".

Key words: arthritis, skeletal fluorosis

Artritis asociada a la fluorosis.

Primeras etapas de fluorosis esquelética.

Las primeras dos fases de la fluorosis del esqueleto suelen no diagnosticarse adecuadamente porque los síntomas que refieren los pacientes imitan los de la artritis. Existe muy poca investigación para determinar su incidencia y el tema está ausente en libros de referencia al tratar los efectos del flúor.¹ Kilborn y col.² informan que en EUA han sido publicados sólo unos pocos casos y consideran como muy probable que –aun en áreas de fluorosis endémica– las consultas por espondilitis inhabilitante u otras afecciones articulares hayan sido rotuladas como artritis crónicas.

El examen de los dramáticos informes provenientes del sudoeste de China, la India o Africa, llamando la atención sobre casos avanzados, pueden ayudar al diagnóstico de los casos benignos. Singh y col.³ describen dolores no intensos en las pequeñas articulaciones de manos y pies, rodillas y columna. En las zonas de fluorosis endémica, los dolores suelen recibir el diagnóstico de reumatoideos u osteoartríticos. Estos síntomas ocurren antes de la aparición de claros signos radiológicos.

En el informe Fluorides and Human Health se destaca que la fluorosis dental (moteado del esmalte) es fácilmente reconocible, pero la fluorosis esquelética no suele ser clínicamente discernible hasta que se transforma en inhabilitante.⁴ En las etapas avanzadas se observa cifosis y envaramiento de la columna, con limitación del movimiento. La dificultad en la ambulación tiene un componente articular y otro neurológico.

Con el objeto de transmitir al lector el impacto producido por las descripciones de los investigadores, hemos preferido transcribirlas textualmente Según Franke y col.⁵ *"in the initial stages [of skeletal fluorosis], the complaints of the patients are not remarkable. At first they experience vague rheumatic pains, then the pains become localized in the spine, especially in the lumbosacral region. Later, a sensation of stiffness in the lumbar and cervical spine develop. However, we also found patients with slight radiological changes (subtle signs or stage 0-I) who complained of intense pains in the spine and in the large joints. On the other hand, some patients whose fluorosis was radiologically distinct were almost without complaints".*

Teotia y col.⁶ por su parte, expresan: *"In early stages, fluorosis is usually associated only with stiffness, backache, and joint pains which may suggest the diagnosis of rheumatism, rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis and osteomalacia. At this stage the radiological findings of skeletal fluorosis may not be evident and therefore most of these cases are either misdiagnosed for other kinds of*

* Dirección postal: Cátedra de Química Biológica, Facultad de Ciencias Médicas. Santa Fe 3100, (2000) Rosario, SF, Argentina. Correo electrónico: arigalli@fmedic.unr.edu.ar



arthritis or the patients are treated symptomatically for pains of undetermined diagnosis. The majority of our patients had received treatment for rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis before they came under our observation”.

Czerwinski y Lankosz ⁷ informan: “In our material we noted degenerative changes in the lumbar spine in 95% of cases, which suggests that fluoride accelerates these changes. In addition to pain in the lower spine which is associated with radiological changes, patients with negative x-ray findings also complain of pain in the lumbar-sacral area, an indication that symptoms precede changes demonstrable by x-ray”.

Waldbott y col.⁸ dicen: “During litigation of this case, muscular pains, general fatigue, and arthritis in conjunction with liver and kidney damage and with hypothyroidism were recorded. The court decision found a definite relationship between the disease and fluoride ingested from food grown in the contaminated area”. Y los mismos autores,⁹ en 1978: “Extensive research from India has revealed severe arthritic changes and crippling neurological complications even where the fluoride concentration in water naturally is as low as 1.5 ppm. Even though extensive bone deformities may not be found on a large scale from fluoride in water at the 1 ppm concentration, some of the early signs of the disease, such as calcifications of ligaments, joint capsules, and muscle attachments, are likely to occur. Indeed these conditions are characteristic of osteoarthritis, in which the formation of microcrystals of apatite (known to be promoted by fluoride) has now been clearly demonstrated. Among the elderly, arthritis of the spine is an especially common ailment that is customarily attributed to ‘aging.’ Since fluoride retention in bones increases as a person grows older, how can we disregard the possibility that this ‘old age’ disease might be linked with fluoride intake? For example, Pinet and Pinet described in detail X-ray changes encountered in skeletal fluorosis in North Africa that are in every respect identical with those present in the arthritic spine of the elderly elsewhere”.

Carnow y Conibear¹⁰ expresan: “Our findings demonstrate a highly significant relationship between the frequency of back and neck surgery, fractures, symptoms of musculoskeletal disease and a past history of diseases of the bones and joints. In the absence of so-called classic fluorosis, a disease complex was established which

involves much more than merely the radiologic appearance of dense bone (...) Similar findings of musculoskeletal changes without classic x-ray signs of fluorosis in workers exposed to high levels of fluorides have appeared in a number of other studies. Of special importance is the large prospective study by Zislin and Girskaia (1971). They followed 2,738 workers from the time they first came to work in an aluminum smelter and compared them with 1,700 others employed in a nonfluoride producing industry. They found that nonspecific bone changes, musculoskeletal symptoms and other findings antedate the classic x-ray changes of fluorosis in the bones by five to seven years and concluded that the changes of fluorosis described by Roholm represent the late stage of the disease”.

Smith ¹¹ dice: “Early bone fluorosis is not clinically obvious; often the only complaints of young adults are vague pains in the small joints of the hands, feet, and lower back. Such cases may be misdiagnosed as rheumatoid arthritis or ankylosing spondylitis”.

Según Zhiliang y col.,¹² “According to our survey, clinical manifestations of fluoride injury were systemic. A wide variety of vague, subtle symptoms (i.e. backache, restricted joint movement, abdominal pain) occurred either prior to or simultaneously with the development of bone changes similar to those reported previously. Nonskeletal symptoms, therefore, are important for early diagnosis”.

Czerwinski y col.¹³ agregan: “Assessment of the fluoride-induced changes from x-ray results is often difficult, especially in the initial stages commonly encountered... Analysis of workers’ complaints showed no specific pain or other symptom that we could refer only to fluorosis... The only characteristic feature would be multiple-joint involvement in the case of fluorosis. This would differentiate fluorosis from monoarticular osteoarthritis (OA), but unfortunately not from multiple-joint osteoarthritis or rheumatoid arthritis (RA)”.

Como apreciará el lector después de la lectura de las transcripciones anteriores, el diagnóstico correcto de los muy frecuentes problemas articulares exige el conocimiento del metabolismo del flúor. En la literatura hay informes de casos aislados de pacientes con artritis, cuyos síntomas se aliviaron al abandonar el hábito.

Referencias

1. Hileman B. Fluoridation of water. Questions about health risks and benefits remain after more than 40 years. *Chem Engineer News* 1988; 66: 26-42.
2. Kilborn LG, Outerbridge TS, Lei HP. Fluorosis with report of an advanced case. *Can Med Assoc J* 1950; 62: 135-41.
3. Singh A, Jolly SS, Bansal BC, Mathur CC. Endemic fluorosis: epidemiological, clinical and biochemical study of chronic fluoride intoxication in Punjab. *Medicine (Baltimore)* 1963; 42: 229-46.
4. World Health Organization. *Fluorides and Human Health* 1970; 32: 239-40.
5. Franke J, Rath F, Runge H. Industrial fluorosis. *Fluoride* 1975; 8: 61-83.
6. Teotia SPS, Teotia M, Teotia NPS. Symposium on the Non-Skeletal Phase of Chronic Fluorosis: The Joints. *Fluoride* 1976; 9: 19-24.
7. Czerwinski E, Lankosz W. Fluoride-induced changes in 60 retired aluminum workers. *Fluoride* 1977; 10: 125-36.
8. Waldbott GL. Skeletal fluorosis near fluoride-emitting factories. *Fluoride* 1977; 10: 45-7.
9. Waldbott GL, Burgstahler AW, McKinney HL. Fluoridation: The Great Dilemma. Lawrence, Kansas; Coronado Press, 1978.
10. Carnow BW, Conibear SA. Industrial fluorosis. *Fluoride* 1981; 14: 172-81.
11. Smith GE. Repetitive strain injury, or incipient skeletal fluorosis? (letter) *N Z Med J* 1985; 98: 710.
12. Zhiliang Y, Yihua L, Liansheng Z, Zhengping Z. Industrial fluoride pollution in the metallurgical industry in China. *Fluoride* 1987; 20: 118-25.
13. Czerwinski E, Nowak J, Dabrowska D, et al. Bone and joint pathology in fluoride-exposed workers. *Arch Environ Health* 1988; 43: 340-3.



15. EFECTOS NO SOSPECHADOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE FLUORURO CON FINES TERAPÉUTICOS

ALFREDO RIGALLI, RODOLFO C. PUCHE *

Laboratorio de Biología Ósea y Metabolismo Mineral, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario

Resumen

El fluoruro es ampliamente utilizado en tratamiento y prevención de caries dentales, a través de dentífricos, colutorios y en algunos casos en el agua de bebida. En estas vías de administración rara vez ocasiona efectos indeseables. La ingestión de aguas con alto contenido de fluoruro y de dosis terapéuticas para enfermedades del esqueleto, pueden producir efectos crónicos como hiperparatiroidismo, modificaciones de la resistencia ósea, alteraciones de la secreción hormonal y modificaciones de las vías de transducción de señales. Sin embargo el mayor efecto descrito es la irritación gástrica y los dolores articulares. La exposición a desechos industriales o la utilización de ciertos anestésicos que se metabolizan a fluoruro puede ocasionar efectos agudo, siendo el más importante el daño renal. Este efecto no se produce con dosis utilizadas para prevención de caries y osteoporosis

Palabras clave: fluoruro, efectos adversos, osteoporosis, caries, odontología.

Como ocurre para todas las sustancias, el fluoruro presenta efectos adversos sobre la salud cuando la dosis alcanza ciertos valores y/o la concentración del anión en los fluidos del organismo sobrepasa determinados niveles. Cada efecto adverso se presenta a una dosis determinada, no se puede hablar en general de una dosis tóxica. La lista de efectos adversos no está de ninguna manera concluida. Según las investigaciones continúen se encontrarán nuevos efectos del fluoruro tanto en lo que respecta a sus acciones deseadas como adversas. Además, la amplia utilización de compuestos con flúor en diferentes tipos de industria hace prever acumulación de diferentes formas químicas de flúor en el ambiente, que seguramente en el futuro llevará a la observación de efectos, hoy impredecibles. En la literatura se suele encontrar discrepancia respecto de los efectos, posiblemente por dificultades para determinar la real concentración del anión en el organismo (ver técnicas de medición de flúor).

La mayoría de los efectos adversos se presentan por intoxicaciones crónicas originadas por administración para tratamiento de enfermedades óseas en dosis de 20-100 mg F/día, por desechos industriales o por ingesta de aguas naturalmente fluoradas de zonas de fluorosis. La utilización de dentífricos, líquidos de lavado bucal o de aplicación tópica, así como el consumo de aguas fluoradas artificialmente no producen efectos indeseable importantes.

UNSUSPECTED EFFECTS OF FLUORIDE ADMINISTRATION

Summary

Fluoride is widely used in the prevention of dental decay and as treatment of caries, through dentifrices, mouth rinses and artificially fluoridated drinking water. The exposure at these sources of fluoride hardly produces undesirable effects. In contrast, ingestion of water with high levels of fluoride in fluorosis areas and therapeutic doses such as used in the prevention or treatment of some bone diseases can produce hyperparathyroidism, changes in bone resistance, modification of signaling pathways and alterations in hormone secretion. Nevertheless, the most common side effect described is dyspepsia and low extremity pain syndrome. Exposure to industrial wastes and the administration of some anesthetics that metabolizes to fluoride can produce renal failure. This effect has never been described in prevention of caries or in the treatment of bone diseases.

Key words: fluoride, side effect, osteoporosis, caries, dentistry

Hiperparatiroidismo

Varios autores han descrito un cuadro de hiperparatiroidismo en seres humanos residentes en zonas de fluorosis, debido al alto contenido de flúor del agua utilizada como bebida.¹⁻³ El mismo efecto se ha observado en ratas sometidas a tratamiento crónico con fluoruro.⁴ Sin embargo, otros autores no encontraron estas alteraciones en la función paratiroidea en el hombre⁵⁻⁷ ni en la rata.⁸

Fluorosis

La ingestión prolongada de grandes cantidades de fluoruro (por ejemplo agua de bebida con 20-30 ppm) lleva a un cuadro denominado fluorosis,

* Dirección postal: Cátedra de Química Biológica, Facultad de Ciencias Médicas. Santa Fe 3100, (2000) Rosario, SF, Argentina. Correo electrónico: arigalli@fmedic.unr.edu.ar

caracterizado por osteoesclerosis, endo y exostosis.⁹ Se presentan gran cantidad de deformaciones óseas especialmente en los miembros inferiores: piernas curvadas, rodillas juntas y presencia de nódulos óseos. Además un gran porcentaje presenta dolores en rodillas, tobillos, columna, cadera, hombros, codo y muñeca.¹⁰

Existe discrepancia en referencia a la arquitectura del hueso y su resistencia cuando el fluoruro se halla presente. El efecto osteoformador del fluoruro es innegable, produciendo una masa ósea mayor que los controles. En seres humanos los resultados han sido muy dispares, posiblemente por la mala dosificación del producto y la falta de control de fluoremia.

Efectos adversos por tratamientos de enfermedades ósea con fluoruro

Se han descrito una serie de efectos secundarios que se presentan después de la administración de fluoruro, especialmente con dosis que pueden oscilar entre 10-100 mg de flúor/día. Estos efectos no siempre se presentan si la dosis es baja. La dispepsia es el más común de ellos, además de gastritis y úlcera gástrica.¹¹⁻¹³ Estos problemas han sido en parte solucionados usando comprimidos con recubrimiento entérico, evitando de esta manera la disolución en el estómago y la formación de HF.¹⁴ Se han comunicado casos de alteraciones hepáticas, con aumento de bilirrubina sérica, disminución de factores de coagulación y edema de retina,¹⁵ dermatitis y urticaria,¹⁶⁻¹⁸ diarrea,¹⁷ alteraciones de glándulas salivales, estomatitis y úlceras resistentes a antibióticos.^{11, 17} Todas estas alteraciones remitieron al suspender la terapia con fluoruro.

En nuestro laboratorio hemos demostrado que el fluoruro en concentraciones compatibles con las halladas en personas que residen en áreas con agua de consumo con alto contenido de flúor o reciben sales con flúor por el tratamiento de osteoporosis, produce disminución de la secreción de insulina.¹⁹⁻²¹ Este efecto fue corroborado por estudios en zonas de fluorosis por investigaciones de nuestro laboratorio²² y de otros centros de investigación.²³

La administración de fluoruro de sodio a ratas y seres humanos en dosis que producen concentraciones plasmáticas superiores a 5 micromoles/L produjo inhibición de la secreción de insulina in vitro e hiperglucemia, fenómeno que desaparece al retornar la fluoremia a sus valores basales. La producción de insulina por el páncreas perfundido

de la rata tiene una respuesta significativamente menor que los controles sin fluoruro (Figura 1).

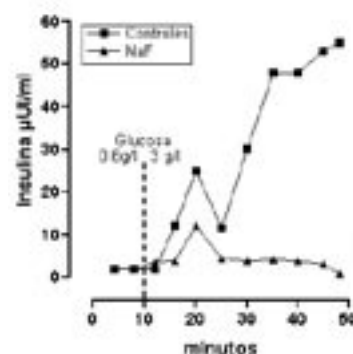


Figura 1. Producción de insulina estimulada por glucosa, por isletos de Langerhans aislados del páncreas de la rata, en ausencia y presencia de fluoruro de sodio 20 micromoles/L. Obtenido de: *Arzneimittelforschung* 2005; 55: 455-60.

Este efecto se debería a la inhibición de un paso en el proceso de síntesis-secreción de insulina, común a las vías de activación AMPc, calcio y proteinkinasa C.²⁴

La administración a ratas de dosis comparables a las utilizadas en humanos en lo que respecta al nivel de fluoremia producido, genera pérdida de fosfato óseo. Inmediatamente después de una dosis de fluoruro se produce hiperfosfatemia, que no es atribuible a alteraciones de la función renal o la función paratiroidea.²⁵ En treinta días de tratamiento se observa una significativa disminución del contenido de fósforo óseo (Figura 2). Ésta podría ser una de las causas de la mala resistencia del material óseo obtenido bajo estímulo del fluoruro.

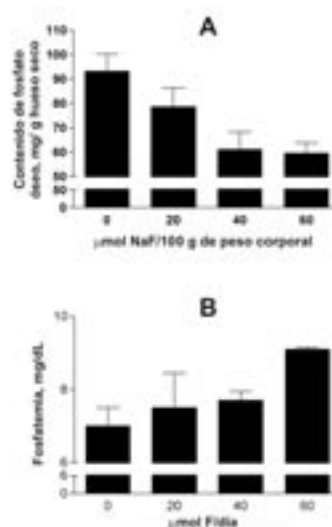


Figura 2. Contenido de fosfato óseo (A) y fosfatemia (B) en ratas luego de 30 días de tratamiento con diferentes dosis orales de fluoruro por sonda gástrica. Obtenido de: *Arzneimittelforschung* 2006; 56: 760-6.



Efectos metabólicos

El fluoruro es un conocido inhibidor del metabolismo intermedio, especialmente de la glucólisis, por inhibición de la enzima enolasa;^{26, 27} este efecto ocurre con concentraciones superiores a 1 milimol/L.

Efectos sobre la transducción de señales

Rall en 1958²⁸ demostró el efecto modulador del fluoruro sobre las proteínas G y la enzima adenilil ciclasa. En algunos trabajos se ha informado inhibición de la adenilil ciclasa en cultivos celulares,²⁹ mientras que otros comunicaron aumento de la actividad de la adenilil ciclasa en homogenado de células beta de islotes de Langerhans del páncreas de la rata.³⁰ En ambos trabajos estos efectos fueron obtenidos con concentraciones de fluoruro del orden de 5 a 25 milimol/L, concentraciones 1.000 veces mayores que las que se pueden encontrar en pacientes sujetos a tratamiento crónico.

En trabajos realizados in vitro, se encontró activación de la adenilil ciclasa en células intactas,^{28, 31, 32} o en sistemas libres de células.³³ Esta activación se halló también in vivo en ratas, pero con administración crónica de fluoruro en concentraciones comparables a las halladas en aguas de bebida.^{34, 35} Sin embargo, Wallin³⁶ demostró en 1977 la disminución de los niveles de AMPc urinario refractario a la administración de vasopresina.

Experimentos llevados a cabo in vitro con islotes de Langerhans mostraron menor producción de insulina ante el estímulo glucídico cuando la concentración de fluoruro superó 5 micromol/L. El mismo fenómeno se observó estimulando la secreción con forskolina, forbol éster o ionóforo A23187, estímulos de las vías de señalización mediadas por receptores asociados a adenilil ciclasa, proteinkinasa C y calcio intracelular, respectivamente.²⁴

Efectos renales

El fluoruro también produce alteraciones renales que han sido muy estudiadas como consecuencia del empleo de un anestésico, el metoxifluorano, que se metaboliza dando fluoruro, identificado como responsable final de las alteraciones en la función renal. En perros, cuya fluoremia llegó a 400 micromol/L, se ha observado aumento del flujo urinario con disminución de la osmolaridad urinaria y la concentración de sodio en médula renal.³⁷ En ratas con fluoremias de 200-300 micromol/L se ha observado poliuria resistente a vasopresina exógena.³⁸⁻⁴⁰ La filtración glomerular sólo es afectada con fluoremias superiores a 500 micromol/L,

también se ha encontrado por administración de fluoruro, hipoemia en corteza e hiperemia en médula, lo que determina un aumento de la perfusión medular con desaparición del gradiente osmótico renal.⁴¹ Sin embargo estos efectos renales no son observables a las dosis habituales de tratamiento.

La perfusión del riñón de rata aislado durante 90 minutos, con buffer conteniendo 0-100 micromoles/L, no produjo modificaciones de la histología y la fisiología del riñón.²⁵

Referencias

1. Faccini JM, Care AD. Effect of sodium fluoride on the ultrastructure of the parathyroid glands of the sheep. *Nature* 1965; 207:1399-401.
2. Teotia SP, Teotia M. Secondary hyperparathyroidism in patients with endemic skeletal fluorosis. *Br Med J* 1973; 1: 637-40.
3. Teotia SP, Teotia M, Singh RK. Preliminary report on plasma fluoride, CT, 25-hydrocholecalciferol and immunoreactive parathyroid hormone and CT in patients with endemic fluorosis. *Fluoride* 1978; 11: 115-9.
4. Ream LJ, Principato R. Fluoride stimulation of the rat parathyroid gland: An ultrastructural study. *Am J Anat* 1981; 162: 233-41.
5. Raisz LG, Taves DR. The effect of fluoride on parathyroid function and responsiveness in the rat. *Calcif Tissue Res* 1967; 1: 219-28.
6. Rosenquist J, Boquist L. Effects of supply and withdrawal of fluoride. Experimental studies on growing and adult rabbits. Parathyroid morphology and function. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1973; 81A: 637-44.
7. Singh A, Singh BM, Singh ID, Jolly SS, Malhotra KC. Parathyroid function in endemic fluorosis. *Ind J Med Res* 1966; 54: 591-97.
8. Liu CC, Baylink DJ. Stimulation of bone formation and bone resorption by fluoride in thyroparathyroidectomized rats. *J Dent Res* 1977; 56: 304-11.
9. Sankaran B, Gadekar NG. Skeletal fluorosis, bone and tooth. New York; Pergamon Press, 1964. Pp 357-62.
10. Christie D. The spectrum of radiographic bone changes in children with fluorosis. *Radiology* 1980;136: 85-90.
11. Douglas TE. Fluoride dentifrice and stomatitis. *Northwest Med* 1957; 56:1037-9.

12. Feltman E, Kosel G. Prenatal and postnatal ingestion of fluorides. Fourteen years of investigation. Final report. *J Dent Med* 1961; 16: 190-9.
13. Nagant De Deuxchaisnes C, Krane SM. Paget's Disease of bone: clinical and metabolic observations. *Medicine (Baltimore)* 1964; 43: 233-66.
14. Chaleil O, Mauras Y, Allain P. Oral Pharmacokinetics of an enteric-coated sodium fluoride preparation. *Trace Elem Med* 1986; 3: 11-3.
15. Geall MG, Beilin LJ. Sodium fluoride and optic neuritis. *Br Med J* 1964; 2: 355-6.
16. Epstein E. Effect of fluorides in acne vulgaris. *Stanford Med Bull* 1951; 9: 243-4.
17. Shea JJ, Gillespie SM, Waldbott GL. Allergy to fluoride. *Ann Allergy* 1967; 25: 388-91.
18. Waldbott GL. Allergic reactions to fluoride. *J Asthma Res* 1964; 105: 51-64.
19. Rigalli A, Ballina JC, Roveri E, Puche RC. Inhibitory effect of fluoride on the secretion of insulin. *Calcif Tissue Int* 1990; 46: 333-8.
20. Rigalli A, Ballina JC, Puche RC. Bone mass increase and glucose tolerance in rats chronically treated with sodium fluoride. *Bone Miner* 1992; 16:101-8.
21. Rigalli A, Alloatti R, Menoyo I, Puche RC. Comparative study of the effect of sodium fluoride and sodium monofluorophosphate on glucose homeostasis in the rat. *Arzneimittelforschung* 1995; 45: 289-92.
22. de la Sota M, Puche RC, Rigalli A, Fernandez LM, Benassati S, Boland R. Modificaciones en la masa ósea y en la homeostasis de la glucosa en residentes de la zona de Bahía Blanca con alta ingesta espontánea de flúor. Changes in bone mass and in glucose homeostasis of subjects with high spontaneous fluoride intake. *Medicina (B Aires)* 1997; 57: 417-20.
23. Trivedi N, Mithal A, Gupta SK, Godbole MM. Reversible impairment of glucose tolerance in patients with endemic fluorosis. Fluoride collaborative Study Group. *Diabetologia* 1993; 36: 826-28.
24. Menoyo I, Rigalli A, Puche RC. Effect of fluoride on the secretion of insulin in the rat. *Arzneimittelforschung* 2005; 55: 455-60.
25. Di Loreto V, Rigalli A, Puche RC. Effect of sodium fluoride administration to rats on bone phosphorous content and phosphatemia. *Arzneimittelforschung* 2006; 56: 760-6.
26. Bernanke D, Epstein FH. Metabolism of the renal medulla. *Am J Physiol* 1965; 208: 541-5.
27. Mazze RI. Methoxyflurane nephropaty. *Environ Health Perspect* 1976; 15: 111-9.
28. Rall TW, Sutherland EW. Formation of a cyclic adenine ribonucleotide by tissue particles. *J Biol Chem* 1958; 232: 1065-76.
29. Chen CJ, Anast CS, Brown EM. Effects of fluoride on parathyroid hormone secretion and intracellular second messengers in bovine parathyroid cells. *J Bone Miner Res* 1988; 3(3): 279-89.
30. Howell SL, Montague W. Adenylate cyclase activity in isolated rat islets of Langerhans. Effects of agents which alter rates of insulin secretion. *Biochim Biophys Acta* 1973; 320: 44-52.
31. Korman LY, Lemp GF, Jackson MJ, Gardner JD. Mechanism of action of ATP on intestinal epithelial cells cyclic AMP mediated stimulation of active ion transport. *Biochim Biophys Acta* 1982; 721: 47-54.
32. Mornstad H, Van Dijken J. Caries preventive doses of fluoride and cyclic AMP levels in human plasma. *Caries Res* 1982; 16: 277-81.
33. Sutherland EW, Rall TW, Menon T. Adenyl cyclase. Distribution, preparation and properties. *J Biol Chem* 1962; 237: 1220-27.
34. Shahed AR, Miller A, Chalker D, Allmann DW. Effect of sodium fluoride on cyclic AMP production in rat hepatocytes. *J Cyclic Nucleotide Res* 1979; 5: 43-53.
35. Allmann D, Miller A, Kleiner HS. Effect of fluoridated water on 3', 5' cyclic-AMP levels in various rat tissues. *J Dent Res* 1978; 57: 881.
36. Wallin JD, Kaplan RA. Effect of sodium fluoride on concentrating and diluting ability in the rat. *Am J Physiol* 1977; 232: F335-40.
37. Frascino JA. Effect of inorganic fluoride on the renal concentrating mechanism. Possible nephrotoxicity in man. *J Lab Clin Med* 1972; 79: 192-203.
38. Crandell WB, Pappas SG, Mac Donald A. Nephrotoxicity associated with methoxyflurane anesthesia. *Anesthesiology* 1966; 27: 591-607.
39. Rush GF, Willis LR. Renal tubular effects of sodium fluoride. *J Pharmacol Exp Ther* 1982; 223: 275-9.
40. Mazze RI, Cousins MJ, Kosek JC. Dose-related methoxyflurane nephrotoxicity in rats: a biochemical and pathologic correlation. *Anesthesiology* 1972; 36: 571-87.
41. Whitford GM, Taves DR. Fluoride-induced diuresis: renal tissue solute concentrations, functional, hemodynamic, and histologic correlates in the rat. *Anesthesiology* 1973; 39: 416-27.