



# BIOLOGÍA BUCAL Y DEL DESARROLLO

## 16. EFECTO DE LA EXPOSICIÓN A FLUORURO SOBRE SALIVA Y SANGRE EN RATA

Gallaró RV, Delgado MA, Centeno VA, Interlandi V, Ponce RH.

Cátedra de Química Biológica “A”, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Córdoba  
andrea.delgado@unc.edu.ar

### Resumen

**Objetivo:** Evaluar en ratas Wistar el efecto de la exposición crónica de fluoruro (F) a nivel sistémico, con énfasis en la secreción de fluido y proteínas de la saliva submandibular, y en parámetros hematológicos y bioquímicos plasmáticos. **Métodos:** Se utilizaron ratas machos Wistar (4 semanas), divididas en 3 grupos (n=6) y se les suministró (8 semanas) agua con diferentes concentraciones de NaF: 0,3 mg/L (control; C); 10 mg/L; 50 mg/L. Se registró ingesta de agua y peso corporal. Luego de la anestesia se recolectó saliva submandibular estimulada con isoproterenol y pilocarpina (ip), sangre y orina. Luego del sacrificio se extirparon hígado, pulmones, riñones, corazón, estómago, testículos, cerebro, glándulas submandibulares, tibias y mandíbulas. El F en orina se midió mediante el electrodo de ion selectivo. Se registró la acumulación de F en tibias y mandíbulas. Los parámetros hematológicos y bioquímicos se midieron utilizando analizadores automáticos. Las variables continuas se informaron como media  $\pm$  error estándar, las variables categóricas como porcentajes. Se utilizó ANOVA a una vía más prueba de Bonferroni, y prueba de chi-cuadrado; significación estadística  $p < 0,05$ . **Resultados:** El tratamiento con 10 y 50 mg NaF/L mostró aumento de F en orina y acumulación de F en tibias y mandíbulas comparados con el C. Los niveles de proteínas totales (g/L) (C:  $6,2 \pm 0,3$ ; NaF 10 mg/L:  $5,6 \pm 0,2$ ; NaF 50 mg/L:  $5,2 \pm 0,3$ ) y urea (mg/dL) (C:  $56,5 \pm 3,6$ ; NaF 10 mg/L:  $54,7 \pm 2,9$ ; NaF 50 mg/L:  $44,5 \pm 1,7$ ) disminuyeron a la dosis más alta de F ( $p < 0,05$  y  $p < 0,01$ , respectivamente). La glucosa aumentó a la dosis más alta de F (mg/dL) (C:  $121,7 \pm 34,8$ ; NaF 10 mg/L:  $219,7 \pm 28,3$ ; NaF 50 mg/L:  $228,3 \pm 11,8$ ) F ( $p < 0,01$ ). El flujo salival ( $\mu\text{l}/\text{min}$ ) fue menor en animales tratados con NaF (C:  $12,7 \pm 0,6$ ; NaF 10 mg/L:  $8,6 \pm 1,0$ ; NaF 50 mg/L:  $8,6 \pm 0,9$ ) ( $p < 0,001$ ), mientras que la concentración de proteínas ( $\mu\text{g}/\text{flujo salival}$ ) aumentó con el tratamiento a ambas dosis de NaF (C:  $9,3 \pm 0,8$ ; NaF 10 mg/L:  $16,2 \pm 2,8$ ; NaF 50 mg/L:  $17,2 \pm 1,8$ ) ( $p < 0,05$ ). **Conclusión:** Los resultados sugieren que la exposición crónica a F produciría una alteración en el volumen y composición de la saliva basal responsable del mantenimiento de los tejidos duros y blandos de la boca.

*Palabras clave:* Fluoruro – Saliva – Proteínas salivales

### Introducción

La ingesta prolongada de agua con más de un 1,0 mg/L de fluoruro (F) puede afectar los tejidos duros y blandos<sup>1</sup>. Los efectos de sustancias tóxicas sobre tejidos blandos se pueden observar estudiando los parámetros hematológicos y bioquímicos que permiten reconocer alteraciones en la fisiología<sup>2</sup>. En relación al ambiente bucal, las glándulas submandibulares aportan aproximadamente dos tercios del volumen de saliva basal, que es secretada entre las comidas y cuya función es proveer humedad y participar en la protección y reparación de los tejidos duros y blandos de la boca<sup>3</sup>. El objetivo de este estudio fue evaluar en ratas Wistar el efecto de la exposición crónica de F a nivel sistémico, con énfasis en la secreción de fluido y proteínas de la saliva submandibular, y en parámetros hematológicos y bioquímicos plasmáticos.

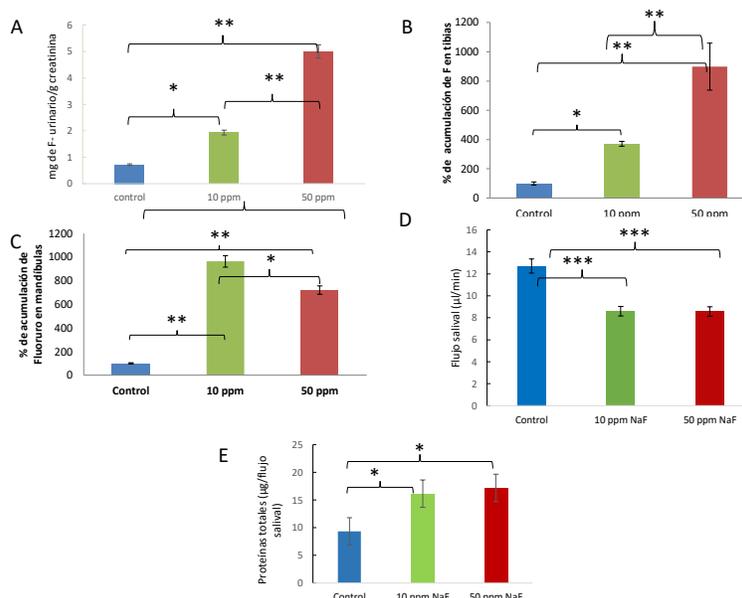


## Métodos

Ratas machos Wistar, con un ciclo de luz-oscuridad (12:12h), a  $22 \pm 2$  °C, y acceso permanente de agua y comida; según normas del CICUAL (FCM y FO, UNC). A las 4 semanas de edad se dividieron en 3 grupos (n=6) y se les suministró durante 8 semanas agua con diferentes concentraciones de NaF: 0,3 mg/L (control; C); 10 mg/L; 50 mg/L. Se registró ingesta de agua y peso corporal (pc). Se anestesiaron con ketamina y xilazina (8,0 y 12,8 mg/kg pc, respectivamente). Saliva: los ductos de ambas glándulas submandibulares se canularon; se estimuló la secreción salival con una dosis conjunta de isoproterenol (agonista adrenérgico) y pilocarpina (agonista colinérgico) (ip) (5 mg/kg pc de cada una) y se recolectó durante 20 minutos. Previo al sacrificio se obtuvo sangre y orina. Se extirparon hígado, pulmones, riñones, corazón, estómago, testículos, cerebro, glándulas submandibulares, tibias y mandíbulas. F en orina: se midió mediante el electrodo de ion selectivo y se expresó como mg F/g creatinina. F óseo: se registró el porcentaje de acumulación de F en tibias y mandíbulas. Las muestras calcinadas se sometieron a destilación isotérmica y se determinó el F por potenciometría. Hematología y Bioquímica sanguínea: los parámetros se midieron utilizando analizadores automáticos. Análisis estadístico: Los datos se analizaron con el software InfoSTAT (FCA, UNC). Las variables continuas de los grupos de estudio se informaron como media  $\pm$  error estándar, las variables categóricas como porcentajes. Para comparar variables continuas, se utilizó ANOVA a una vía y prueba de Bonferroni. Las variables categóricas se compararon con la prueba de chi-cuadrado. La significación estadística se definió como  $p < 0,05$ .

## Resultados

Consumo de agua, peso corporal y pesos de órganos: el efecto del tratamiento con F a ambas dosis no mostró diferencias significativas en estos parámetros, comparado al grupo control. F en orina: los animales tratados con 10 y 50 mg NaF /L mostraron niveles más elevados en comparación con el grupo control ( $p < 0,05$  y  $p < 0,01$ , respectivamente). Las diferencias observadas fueron dosis-dependientes ( $p < 0,01$ ) (Fig. 1A). Acumulación de F en tibias: fue más elevada en animales tratados que los del grupo control (C vs 10 mg/L,  $p < 0,05$ ; C vs 50 mg/L,  $p < 0,01$ ). Las diferencias fueron dosis-dependientes ( $p < 0,01$ ) (Fig. 1B). Acumulación de F en mandíbulas: fue más alta en animales tratados en comparación con el grupo control ( $p < 0,01$ ). Se observó una mayor acumulación de F a la dosis de 10 mg/L comparada con 50 mg /L ( $p < 0,05$ ) (Fig. 1C). Hematología y química sanguínea: el tratamiento con F no mostró diferencias estadísticamente significativas en los parámetros hematológicos. Los niveles de proteínas totales (g/L) (C:  $6,2 \pm 0,3$ ; NaF 10 mg/L:  $5,6 \pm 0,2$ ; NaF 50 mg/L:  $5,2 \pm 0,3$ ) y urea (mg/dL) (C:  $56,5 \pm 3,6$ ; NaF 10 mg/L:  $54,7 \pm 2,9$ ; NaF 50 mg/L:  $44,5 \pm 1,7$ ) disminuyeron significativamente a la dosis más alta de F ( $p < 0,05$  y  $p < 0,01$ , respectivamente). El aumento de glucosa (mg/dL) (C:  $121,7 \pm 34,8$ ; NaF 10 mg/L:  $219,7 \pm 28,3$ ; NaF 50 mg/L:  $228,3 \pm 11,8$ ) fue significativo a la dosis más alta de F ( $p < 0,01$ ). No se observaron efectos estadísticamente significativos en relación a parámetros que evalúan las funciones hepática, pancreática y renal, el metabolismo óseo y electrolitos plasmáticos. Secreción de saliva: el flujo de saliva fue menor en animales tratados con NaF a ambas dosis en comparación al grupo control ( $p < 0,001$ ) (Fig. 1D), mientras que la concentración de proteínas, corregida por el flujo salival, aumentó con el tratamiento a ambas dosis de NaF ( $p < 0,05$ ) (Fig. 1E).



**Figura 1:** F urinario (A), % de acumulación de F en tibias (B) y mandíbulas (C), flujo salival (D) y proteínas totales en saliva corregido por el flujo salival (E). \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .

## Discusión y conclusión

En las últimas décadas se han realizado numerosas investigaciones en animales para determinar los efectos tóxicos del F. Los estudios de los efectos del F sobre la secreción de saliva son escasos y no concluyentes y sobre los parámetros hematológicos y bioquímicos séricos en ratas tratadas con F son contradictorios. En nuestro trabajo, el aumento de F en orina y su acumulación en tejidos duros validan el modelo experimental empleado. A la dosis de 10 mg NaF/L, en mandíbula se observó el doble de acumulación de F con respecto a tibia, fenómeno observado en otros mamíferos<sup>4</sup>. Esta diferencia podría deberse a las características metabólicas de ambos tipos de hueso. La disminución de F en mandíbula a la dosis más alta fue descrita por otros autores<sup>5</sup>, probablemente por una inhibición de la proliferación de osteoblastos por estrés oxidativo y posterior apoptosis<sup>6</sup>. A las dosis de F empleadas en este estudio no se produjo deterioro del estado de salud general de los animales, evidenciado por la ausencia de cambios en el peso corporal y de cada órgano, como así también en el sistema hematopoyético. La disminución de las proteínas totales y urea en suero a la dosis de 50 mg NaF/L no ha sido descrita anteriormente; sin embargo, a esta dosis el incremento de la glucemia se debe a un aumento en la tolerancia de la glucosa que ha sido previamente observado<sup>7</sup>. La disminución del 65% de saliva submandibular en ratas tratadas con 10 y 50 mg NaF/L encontrada en nuestro trabajo podría deberse a una interacción del F con la expresión de acuaporina 5, proteína que regula el transporte transcelular del agua en las células acinares serosas de las glándulas salivales. En saliva total de individuos que habitan en áreas de fluorosis endémica se ha demostrado una disminución de la expresión de esta proteína<sup>8</sup>. No existen estudios previos que demuestren un efecto del F sobre la secreción de proteínas en glándulas salivales o en otras glándulas secretoras. Se conoce que entre los mecanismos responsables de la secreción de proteína en glándulas salivales se encuentra el incremento de Ca intracelular. Estudios de cultivos de una línea celular de ameloblastos de rata han demostrado que la presencia de NaF aumenta los niveles de Ca intracelular. En nuestro estudio, el incremento de proteínas totales en saliva submandibular (corregidas por el flujo salival) en los



animales tratados con NaF (10 y 50 mg/L) podría estar mediado por un incremento de Ca intracelular que favorece el movimiento de los gránulos de almacenamiento de proteínas hacia la membrana apical de la célula acinar, acelerando la fusión de estos con la membrana, lo que provocaría el incremento de proteínas en la saliva. Nuestros resultados sugieren que la exposición crónica a F produciría una alteración en el volumen y la composición de la saliva basal responsable del mantenimiento de los tejidos duros y blandos de la boca.

## Referencias

1. Johnston NR, Strobel SA. Principles of fluoride toxicity and the cellular response: a review. *Arch Toxicol.* 2020; 94(4):1051-69.
2. Petterino C, Argentino-Storino A. Clinical chemistry and haematology historical data in control Sprague-Dawley rats from pre-clinical toxicity studies. *Exp Toxicol Pathol.* 2006; 57(3):213-9.
3. Pedersen AML, Sørensen CE, Proctor GB, Carpenter GH, Ekström J. Salivary secretion in health and disease. *J Oral Rehabil.* 2018; 45(9):730-46.
4. Palczewska-Komsa M et al. Fluoride in the bones of foxes (*Vulpes vulpes* Linnaeus, 1758) and raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides* Gray, 1834) from north-western Poland. *Biol Trace Elem Res.* 2014; 160(1):24–31.
5. Zhou Z, Wang H, Zheng B, Han Z, Chen Y, Ma Y. A rat experimental study of the relationship between fluoride exposure and sensitive biomarkers. *Biol Trace Elem Res.* 2017; 180(1):100-9.
6. Zhi W, Yang X, Yang S, Ren G, Ferreri M, Su Y, Chen L, Han B. Sodium fluoride suppress proliferation and induce apoptosis through decreased insulin-like growth factor-I expression and oxidative stress in primary cultured mouse osteoblasts. *Arch Toxicol.* 2011; 85(11):1407–17.
7. 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.
8. Anjomshoaa I et al. Aquaporin 5 Interacts with Fluoride and Possibly Protects against Caries. *PLoS One.* 2015; 2;10(12):e0143068.

---

## 17. RESPUESTA TISULAR A IMPLANTES POLIMÉRICOS BIODEGRADABLES DE PLA REFORZADOS CON $\beta$ -TCP PARA SU POTENCIAL UTILIZACIÓN COMO SUSTITUTOS ÓSEOS EN INGENIERÍA TISULAR.

Frosasco CL, Renou SJ, Perez E, Fontanetti PA, Olmedo DG.

<sup>1</sup>Cátedra de Introducción a la Física y Química Biológicas A, Facultad de Odontología, UNC.

<sup>2</sup>Cátedra de Anatomía Patológica, Facultad de Odontología, UBA.

<sup>3</sup>Instituto de Investigación y Desarrollo en Ingeniería de Procesos y Química Aplicada (IPQA) (CONICET-UNC).

camila.frosasco@unc.edu.ar

## Resumen

Existen patologías de origen neoplásico, hormonal, quístico o traumático capaces de producir un defecto en el tejido óseo que no puede ser regenerado por el organismo. En tal sentido, especialmente en odontología, la indicación de sustitutos óseos se ha extendido ampliamente. En la actualidad, el injerto óseo autólogo es considerado el “gold standard”, pero implica un procedimiento quirúrgico adicional como su obtención de un sitio dador, aumentando la morbilidad de la cirugía y las

