

MODIFICACIONES EN LA MASA OSEA Y EN LA HOMEOSTASIS DE LA GLUCOSA EN RESIDENTES DE LA ZONA DE BAHIA BLANCA CON ALTA INGESTA ESPONTANEA DE FLUOR*

MERCEDES DE LA SOTA¹, RODOLFO PUCHE², ALFREDO RIGALLI², LUIS M. FERNANDEZ³, SILVIA BENASSATI³, RICARDO BOLAND³

¹Grupo de Estudios en Medicina Interna, Bahía Blanca; ²Laboratorio de Biología Ósea, Universidad Nacional de Rosario; ³Departamento de Biología y Bioquímica, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca

Resumen Se estudiaron 24 mujeres y 2 hombres de 44 a 66 años de edad, ex-residentes en una zona de fluorosis endémica cercana a Bahía Blanca. Las fluoremias de ayuno (0,5 a 9,2 μM) y fluorurias diarias ($> 60 \mu\text{moles/día}$) corresponden a las de habitantes de un área de fluorosis endémica. La densidad mineral ósea (DMO) de la columna lumbar (L2-L4: $1330 \pm 41 \text{ mg/cm}^2$) y del cuello femoral ($1045 \pm 10 \text{ mg/cm}^2$) fueron significativamente superiores al promedio de sujetos normales del mismo sexo y edad. La fluoruria y la DMO L2-4 se hallaron correlacionadas ($r = 0,43$, $P < 0,05$). Durante una prueba estándar de sobrecarga de glucosa, el Area Bajo la Curva de insulinemia mostró una relación inversa con la fluoremia, en coincidencia con experimentos que indican que concentraciones de fluoruro en plasma superiores a 5 μM perturban la homeostasis de la glucosa.

Palabras clave: masa ósea, ingesta de flúor

El flúor está ampliamente distribuido en la naturaleza y su contenido varía en los suelos de diferentes regiones del mundo^{2, 3}. La ingesta elevada de flúor (espontánea o terapéutica) provoca aumento del contenido de este elemento en los tejidos calcificados (óseo y dental)¹ y en aquellos que desarrollan calcificaciones (aorta, placenta). La concentración en los tejidos blandos coincide con la del plasma⁴.

Aunque es reconocido su efecto sobre el osteoblasto, el espectro completo de las acciones farmacológicas del flúor es aún desconocido. Entre otras perturbaciones, el flúor induce intolerancia a la glucosa y alteración de los niveles de insulina, a través de un mecanismo aún no elu-

cido^{5, 6}. Con el objeto de extender la aplicabilidad de estas observaciones a los seres humanos, se investigó la homeostasis de la glucosa en un grupo de personas, ex-residentes de una zona de fluorosis endémica portadoras de masas óseas superiores al promedio ajustado por sexo y edad.

Este trabajo no pretende comparar la relación entre la fluoremia y la secreción de insulina de los sujetos estudiados con la de la población «normal», que podría ser calificada de tal aunque contuviera sujetos con diferentes exposiciones al flúor. El objetivo que persigue es obtener información confirmatoria sobre dicha relación, obtenida previamente en ratas^{5, 6} y voluntarios humanos⁵, en un modelo de ingesta crónica y espontánea de flúor.

Recibido: 27-VI-1996

Aceptado: 9-IV-1997

* Presentado en la XL Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica, Mar del Plata, noviembre 1995

Dirección postal: Dra. Mercedes de la Sota, Holdich 274, 8000 Bahía Blanca, Argentina

Material y métodos

La población estudiada estuvo compuesta por 24 mujeres y dos hombres, 44 a 66 años de edad. Estas per-

sonas acudieron espontáneamente a la consulta médica con el objeto de descartar osteoporosis y este detalle explica lo heterogéneo del grupo. En 15 de dichos sujetos se observaron dientes manchados, característica de los habitantes de zonas de fluorosis endémica. Ninguno de ellos estaba recibiendo flúor con fines terapéuticos.

Se efectuaron densitometrías óseas de la columna lumbar (L2-4, proyección anterior-posterior) y del cuello del fémur con un densitómetro Lunar DPX-L. Los resultados (densidad mineral ósea) se expresan en mg/cm². Después de conocidos los resultados de las densitometrías, los pacientes dieron su consentimiento para participar en el estudio siguiente.

Se realizó una prueba estándar de tolerancia a la glucosa. Se obtuvieron muestras de sangre antes y a los 30, 60 y 120 minutos posterior a la sobrecarga de glucosa. En los sueros obtenidos se midió glucosa⁷ e insulina (Diagnostic Products Corp., USA). La concentración sérica de calcio, fosfatasa alcalina (reactivos de Boehringer Mannheim) y fluoruro⁸ fue determinada en las muestras basales.

Las excreciones urinarias de calcio, hidroxiprolina⁹ y fluoruro⁸ se midieron en orinas recogidas durante 24 horas.

La respuesta insulínica de los pacientes a la sobrecarga de glucosa fue determinada por el Área Bajo la Curva (método del trapecioide, $\mu\text{UI}\cdot\text{min/L}$)¹⁰. La concentración basal de insulina se restó de los valores obtenidos a los 30, 60 y 120 minutos.

Los resultados fueron analizados mediante técnicas estadísticas estándar¹¹.

Resultados

Las densitometrías óseas de la zona lumbar (L2-L4: $1330 \pm 41 \text{ mg/cm}^2$) y del cuello del fémur ($1045 \pm 18 \text{ mg/cm}^2$) dieron resultados por encima de la media de sujetos normales del mismo sexo y edad. Expresados como porcentajes de la media de la población de referencia los valores fueron $113\% \pm 3\%$ y $111\% \pm 12\%$, respectivamente.

La fluoruria de estos pacientes fue elevada (Tabla 1). Se observaron correlaciones significativas entre la fluoruria y la densidad mineral ósea ($r = 0,43$, $P < 0,05$), la relación hidroxiprolina/creatinina urinaria ($r = 0,56$, $P < 0,05$), y la fosfatasa alcalina del suero ($r = 0,43$, $P < 0,05$).

Las fluoremiás de siete de los 26 pacientes eran superiores a $1,5 \mu\text{M}$. En una población no expuesta como la de la ciudad de Rosario, el 85% de la misma tiene fluoremiás entre $0,5$ y $1,5 \mu\text{M}$.

TABLA 1.— Datos metabólicos basales (media \pm error estándar) de 26 sujetos ex-residentes de un área de fluorosis endémica cercana a Bahía Blanca

		Valores de referencia (IC 95%)
Calcemia, mM	$2,55 \pm 0,05$	$2,35 \pm 2,70$
Glucemia, mM	$4,55 \pm 0,06$	$4,4 \pm 6,1$
Insulina, $\mu\text{IU/ml}$	$3,4 \pm 0,5$	0-30
Fluoruria, $\mu\text{moles/d}$	90 ± 10	10-60
Hidroxiprolinuria, mg/d	$12,6 \pm 1,4$	6-40
Fosfatasa alcalina UI/L	165 ± 10	65-306

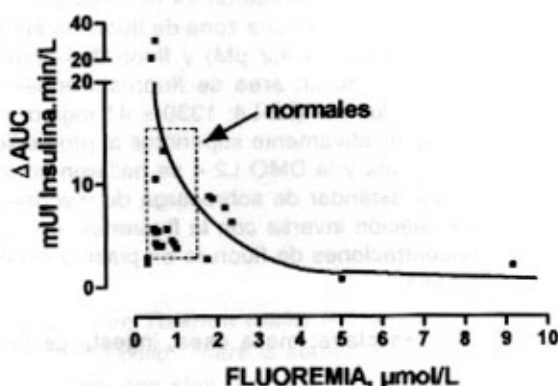


Fig. 1.— Relación entre el Área Bajo la Curva de Insulinemia durante una prueba estándar de tolerancia a la glucosa y la fluoremia de 26 sujetos residentes y ex-residentes de una zona de fluorosis endémica cercana a Bahía Blanca. El intervalo de confianza del 95% de los valores normales de las dos variables define el área rectangular marcada con línea de puntos.

Todos los pacientes tuvieron valores normales de ayuno de glucemia, insulinemia y calcemia (Tabla 1).

La Figura 1 describe la relación inversa entre la respuesta insulínica a la sobrecarga de glucosa y la fluoremia en ayunas de los pacientes. El área delimitada por los valores normales de la Figura 1 fue construida con las insulinemias contenidas en el instructivo del equipo de radioinmunoensayo y las fluoremiás de sujetos normales de un área no expuesta al flúor (Rosario). La curva de mejor ajuste que se muestra en la figura ($r = 0,905$, $P < 0,001$) fue calculada con los

nueve pares de valores que caen afuera del área de los valores normales (intervalo de confianza del 95% para las dos variables). Al incluir todos los valores la curva de mejor ajuste no se modifica sensiblemente, pero su significado estadístico es bajo, por el peso de los valores agrupados en el ángulo inferior izquierdo del área normal. La función de mejor ajuste es una hipérbola equilátera que responde a la ecuación $\Delta AUC = K/\text{Fluoremia}$. El valor de $K \pm$ error estándar es $11,77 \pm 1,25$.

Discusión

La recomendación internacional establece que el agua potable no debería contener más de 2 mg/L (2 ppm) de flúor³. La concentración de flúor en el agua potable de la República Argentina varía entre 0,1 mg/L (0,1 ppm, 5 μM) en localidades que se surten de ríos de agua dulce como el Paraná y el Uruguay y 100 mg/L (100 ppm, 5000 μM) en algunos lugares del sudoeste de la provincia de Buenos Aires, sudeste de La Pampa y Santiago del Estero. El contenido de flúor en aguas de segunda napa, determinado por

Obras Sanitarias de la Nación¹², permite definir tres zonas (Fig. 2). Las poblaciones que poseen servicio de agua potable suelen recibir una mezcla de aguas de diferentes pozos de modo que el contenido de flúor no supere 2 mg/L. Las poblaciones carentes de tal servicio (que explotan pozos propios) pueden, según las zonas, consumir cantidades importantes de flúor. Los valores de fluoremia y fluoruria obtenidos en la población estudiada fueron superiores a los encontrados en los habitantes de la ciudad de Rosario, donde la concentración de fluoruro en el agua potable es $13 \pm 1 \mu\text{M}$.

Los datos obtenidos muestran una correlación positiva entre la fluoruria y la DMO lumbar que confirma la asociación entre ingesta crónica de flúor y aumento de la masa ósea. La fluoruria diaria de estos pacientes, reveladora de la carga esquelética de flúor, es significativamente más alta que la de residentes de una ciudad no expuesta como Rosario.

Las correlaciones entre la fluoruria y la relación hidroxiprolina/creatinina o la fosfatasa alcalina del suero confirman la relación entre el fluoruro y el metabolismo óseo. Las correlaciones son pobres, probablemente porque la masa ósea es producto de la actividad ósea sostenida durante años, mientras que los indicadores pueden variar rápidamente. La correlación positiva entre DMO y fluoruria sugiere que el fluoruro movilizado tiene actividad farmacológica sobre los osteoblastos.

Trabajos previos han demostrado que fluoretrias superiores a 5 μM producen inhibición de la secreción de insulina. Este fenómeno ha sido demostrado con fluoruro de sodio tanto *in vivo* (voluntarios y ratas^{5,6}) como *in vitro* (perfusión de islotes de Langerhans de rata⁵). La inhibición de la secreción de insulina no es permanente, es función de la concentración de fluoruro. Estas conclusiones explican la maniobra analítica descrita más arriba y justifican por qué no obstante lo elevado de sus fluorurias, 17 de los 26 pacientes, tuvieron fluoretrias y respuestas insulínicas normales. Los resultados obtenidos en este trabajo confirman que la respuesta insulínica a la sobrecarga de glucosa tiene una relación inversa con la fluoremia (Figura 1). Experiencias de administración oral de fluoruro a la rata⁵ sugieren fuertemente que el máximo de inhibición se obtiene con fluoretrias entre 10 y 20 μM , lo



Fig. 2.— Contenido de flúor en aguas de segunda napa en la R. Argentina. En negro: > 3 mg/L, gris: 1-3 mg/L; blanco: < 1 mg/L. (redibujado de Treilles¹²).

que apoya la verosimilitud de la relación hiperbólica descrita anteriormente. En la rata la administración crónica de fluoruro de sodio (pero no de monofluorofosfato de sodio) produjo perturbaciones en la homeostasis de la glucosa¹³.

Trivedi y col.¹⁴ estudiaron 25 pacientes residentes en una zona de fluorosis endémica (Lucknow, India) cuya concentración de flúor en el agua potable es de 2-13 mg/L (100-650 μM). Las fluorurias diarias de estos pacientes fueron de 105-421 $\mu\text{moles/día}$ ¹⁴. Doce de estos pacientes mostraron pruebas de sobrecarga a la glucosa anormales, niveles basales de insulina elevados y valores de la relación glucemia/insulina inferiores a los encontrados en sujetos normales. Estos resultados sugieren resistencia periférica a la insulina y no son congruentes con los del presente trabajo. La diferencia entre ambas series de observaciones podría atribuirse al grado de fluorosis. Debe tenerse en cuenta la diferencia en latitud y temperatura ambiente promedio entre Lucknow y Bahía Blanca, que determinan diferencias significativas en la ingesta diaria de agua y por consiguiente de fluoruro.

Los resultados expuestos en esta comunicación preliminar extienden a un modelo de ingesta crónica y espontánea de flúor por seres humanos, los resultados obtenidos previamente tras la administración aguda de fluoruro a voluntarios⁵ o crónica a ratas^{5, 6, 13}. El efecto del fluoruro sobre la secreción de insulina es complejo y requiere estudios adicionales.

Agradecimientos: La ejecución del presente trabajo ha sido apoyada por subsidios de Laboratorios Casasco SAIC y del CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas).

Summary

Bone mass and glucose homeostasis in subjects with high spontaneous fluoride intake

This paper reports metabolic data of 24 women and two men, 44-66 years old, ex-residents in an area of endemic fluorosis close to Bahía Blanca city. Fasting fluoremas of these subjects (0,5 to 9,2 μM) and daily urinary fluoride excretion (> 60 $\mu\text{moles/day}$) are characteristics of zones with endemic fluorosis. Bone mineral density (BMD) at

the lumbar spine (L2-4 $1330 \pm 41 \text{ mg/cm}^2$) and femoral neck ($1045 \pm 10 \text{ mg/cm}^2$) were significantly above average of normal subjects of the same age and sex. A significant correlation was observed between the daily excretion of fluoride and BMD L2-4 ($r = 0.43$, $P < 0.05$).

The Area Under the Curve of insulin during a standard glucose tolerance test showed an inverse relationship with fluoremia. This observation coincides with experiments published elsewhere indicating that fluoride intake at concentrations 5 μM or greater, inhibits the secretion of insulin.

Bibliografía

1. Whitford GM. The metabolism and toxicity of fluoride. Basilea: Karger, 1989.
2. Mabgla B. India: defluoridation battle. *Lancet* 1991; 337: 1213.
3. World Health Organization. Environmental Health Criteria. 36. Fluorine and Fluoride. Ginebra: World Health Organization, 1984.
4. Hodge HC. Fluoride. In: CL Comar, F Bronner (eds.) Mineral Metabolism. An advanced treatise. Vol. II. New York: Academic Press, 1964.
5. Rigalli A, Ballina JC, Roveri E, Puche RC. Inhibitory effect of fluoride on the secretion of insulin. *Calcif Tissue Int* 1991; 46: 333-8.
6. Rigalli A, Ballina JC, Puche RC. Bone mass increase and glucose tolerance in rats chronically treated with sodium fluoride. *Bone and Mineral* 1992; 16: 101-8.
7. Washko ME, Price EW. Determination of glucose by an improved enzymatic method. *Clin Chem* 1961; 7: 542-8.
8. Taves D. Separation of fluoride by rapid diffusion using hexamethylsiloxane. *Talanta* 1968; 15: 969-74.
9. Vidal MC, Pérez Jimeno N, Puche RC. Técnica para la determinación de hidroxiprolina urinaria mediante adsorción e hidrólisis por catálisis heterogénea sobre resina de intercambio iónico. *Acta Bioquim Clin Latinoam* 1984; 18: 589-93.
10. Tallarina R, Murray R. Manual of pharmacologic calculations with computer programs. New York: Springer Verlag, 1986.
11. Snedecor GW, Cochran WG. Statistical Methods. 6a. ed. Ames: Iowa State University Press, 1967.
12. Trelles RA. Química de las aguas en la República Argentina. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ingeniería Sanitaria. Publicación No. 12, 1972.
13. 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. *Arzneim Forsch/Drug Res* 1995; 45: 282-92.
14. Trivedi N, Mithal A, Gupta SK, Godbole MM. Reversible impairment of glucose tolerance in patients with endemic fluorosis. *Diabetologia* 1993; 36: 826-8.