

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA
PROGRAMAS MULTIDISCIPLINARIOS DE POSGRADO EN CIENCIAS
AMBIENTALES

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES

**“PREVALENCIA DE FLUOROSIS DENTAL Y PRESENCIA DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS EN
UNA COMUNIDAD AFECTADA POR CONTENIDO DE FLÚOR EN EL AGUA DE CONSUMO”**

PRESENTA:

MÉDICO ESTOMATÓLOGO LIZET DEL CARMEN JARQUÍN YÁÑEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. JOSÉ DE JESÚS MEJÍA SAAVEDRA

ASESORES:

DR AMAURY DE JESÚS POZOS GUILLÉN

DR. GREGORIO ÁLVAREZ FUENTES

DRA. NELLY MOLINA FRECHERO

San Luis Potosí, S.L.P. AGOSTO 2014



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA
PROGRAMAS MULTIDISCIPLINARIOS DE POSGRADO EN CIENCIAS
AMBIENTALES

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES

**PREVALENCIA DE FLUOROSIS DENTAL Y PRESENCIA DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS EN
UNA COMUNIDAD AFECTADA POR CONTENIDO DE FLÚOR EN EL AGUA DE CONSUMO**

PRESENTA:

MÉDICO ESTOMATÓLOGO LIZET DEL CARMEN JARQUÍN YÁÑEZ

COMITÉ TUTELAR:

DIRECTOR: DR. JOSÉ DE JESÚS MEJÍA SAAVEDRA _____

ASESOR: DR. AMAURY DE JESÚS POZOS GUILLÉN _____

ASESOR: DR. GREGORIO ÁLVAREZ FUENTES _____

ASESOR: DRA. NELLY MOLINA FRECHERO _____

SINODALES:

PRESIDENTE: DR. JOSÉ DE JESÚS MEJÍA SAAVEDRA _____

SECRETARIO: DR. AMAURY DE JESÚS POZOS GUILLÉN _____

VOCAL: DR. JORGE ALEJANDRO ALEGRÍA TORRES _____

PROYECTO REALIZADO EN:

**DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGÍA AMBIENTAL Y CENTRO DE INVESTIGACIÓN APLICADA
EN AMBIENTE Y SALUD, CIACYT-FACULTAD DE MEDICINA**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

CON FINANCIAMIENTO DE:

**SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA PROGRAMA DE MEJORAMIENTO DEL
PROFESORADO (PROMEP)**

A TRAVÉS DEL PROYECTO DENOMINADO:

**“ESCENARIOS DE RIESGO POR ACUÍFEROS CONTAMINADOS: EL CASO DE LA
CONTAMINACIÓN POR ARSÉNICO Y FLÚOR EN LOS ACUÍFEROS DE DURANGO,
GUANAJUATO Y SAN LUIS POTOSÍ”**

AGRADEZCO A CONACyT EL OTORGAMIENTO DE LA BECA-TESIS

Becario No.486617

**LA MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES RECIBE APOYO A TRAVÉS DEL PROGRAMA
NACIONAL DE POSGRADOS DE CALIDAD (PNPC)**

“Los cínicos van a encontrar siempre el lado negativo, pero mi experiencia me ha demostrado que, con la gente indicada y un poco de suerte, puedes hacer cualquier cosa en este mundo”

Calvin Klein.

Agradezco a:

El Dr. Jesús Mejía, por haberme brindado la oportunidad de trabajar con él y transmitirme sus conocimientos.

A la Dra. Nelly Molina, por su gran apoyo y paciencia. Por compartirme sus conocimientos y por el valioso tiempo que me dedicó.

Al Dr. Amaury, por haber aceptado participar conmigo y brindarme su apoyo.

A la Dra. Diana Escobar, por haberme compartido sus conocimientos y por la amistad brindada.

Al Dr. Gregorio, por su disponibilidad en todo momento

A la Dra. Diana Rocha por dedicarme su tiempo y por el apoyo brindado.

Al Dr. Alegría por su importante contribución y aportaciones.

Al Dr. César Ilizaliturri por haberme ayudado a resolver mis dudas.

A la Dra. Carrizales por el apoyo recibido.

A la Dra. Lili Batres por sus consejos y apoyo moral

“Los chinos llaman a la suerte oportunidad y dicen que cada día toca a nuestra puerta. Algunas personas la oyen, otras no. Pero no basta con oír cuando la oportunidad llama. Hay que dejarla entrar, darle la bienvenida, hacerla amiga y trabajar con ella”

Bernard Gittelson

Agradezco a:

Mis maestros del posgrado: El Dr. Díaz Barriga, la Dra. Leticia Yáñez, la Dra. Lucy, el Dr. Reyes Agüero, el Dr. Ávalos, el Dr. Medellín y el Dr. Nahum

A mis compañeras y amigas del CIACYT: Lulú, Diana, Carol, Tania, Martita, Daniela, Angélica Robayo, Andrea, Areli y Tony

“¡Adelante!... por los caminos malos si no hay otros; por los buenos si es posible. Pero adelante, adelante a pesar de todos los obstáculos hasta lograr el fin”.

Charles Dickens

Agradezco a:

Dios por haberme permitido vivir esta experiencia.

A mi papá por el ejemplo que me dio.

A mi esposo Néstor González Almanza por su apoyo incondicional y estar siempre a mi lado.

A mi hija Naomy Lizet por su paciencia y comprensión.

A mis suegros Miguel y Yolanda por su apoyo y sus consejos.

A mi mamá y a mis hermanos por creer en mí y en especial a mi hermana Katia por el tiempo que me dedicó y los favores recibidos.

A mi amigo Emmanuel Gallegos por su disponibilidad y apoyo brindado.

A mis amigas Ofe y Cris por haberme escuchado y aconsejado en los momentos difíciles y por los días maravillosos que compartimos juntas.

A Cristian y a Omar Alejandro por la asesoría y el apoyo recibido.

ÍNDICE

	Pág.
<u>RESÚMEN</u>	1
<u>MARCO TEORICO</u>	4
Evaluación del Riesgo	
GENERALIDADES DEL FLÚOR	7
a. Características	
b. Distribución	
c. Exposición	
d. Metabolismo	
e. Toxicidad	
GENERALIDADES DEL ÓRGANO DENTARIO	19
a. Formación del Órgano dentario	
b. Calcificación del Órgano dentario	
c. Erupción del Órgano dentario	
d. Mecanismos de toxicidad del flúor en el órgano dentario	
FLUOROSIS DENTAL	25
a) Bases Moleculares	
<u>ANTECEDENTES DE LA ZONA DE ESTUDIO</u>	34
a) La Reforma, Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí	
<u>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</u>	37
<u>JUSTIFICACIÓN</u>	37

<u>OBJETIVOS</u>	38
a) General	
b) Específicos	
<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	39
Población de estudio	
Cuantificación de flúor	
Evaluación del efecto	
Determinación de la susceptibilidad genética	
Análisis estadístico de los datos	
<u>RESULTADOS</u>	48
<u>DISCUSIÓN</u>	58
<u>CONCLUSIÓN</u>	67
<u>RECOMENDACIONES</u>	68
<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	70
<u>ANEXOS</u>	84

RESÚMEN

El flúor y el arsénico son dos de los contaminantes inorgánicos que se encuentran en el agua de consumo. En el caso del flúor, su consumo elevado y prolongado, es capaz de provocar enfermedades como la fluorosis dental y esquelética; además de alteraciones renales, reproductivas, neurológicas y endocrinas. Sin embargo, pese a los efectos adversos en salud, no todos los individuos expuestos a flúor desarrollan alguna enfermedad o síntoma relacionado, sugiriendo que la variabilidad genética es un factor importante en la respuesta de los seres humanos a la exposición a flúor; tal es el caso de la fluorosis dental, cuya prevalencia ha ido en aumento con diferencias en el grado de severidad en grupos de niños expuestos a una misma concentración de flúor, en donde los factores genéticos podrían jugar un rol importante.

El objetivo del presente trabajo, fue evaluar la prevalencia de fluorosis dental y la presencia de polimorfismos genéticos asociados en la comunidad de La Reforma, Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí. Para ello se seleccionaron 111 niños con edades de entre 6 y 12 años.

La media de la concentración de flúor registrada en el agua de consumo de la población estudiada fue de $4.54 \text{ mg/l} \pm 0.46$. Este valor fue superior al límite permitido por la norma mexicana (1.5 mg/l), lo cual indicó el importante riesgo a la salud en el que se encuentra la población expuesta. Incluso, de acuerdo al valor de la guía de evaluación de medios ambientales (EMEG) calculada en el presente estudio, ni el valor de la norma mexicana protege a la población infantil de los efectos adversos del flúor; ya que el valor de la EMEG

calculada indica una concentración de flúor en agua alrededor de 0.97 mg/l para evitar daños a la salud. La dosis de exposición calculada en la población de estudio fue de 0.23 mg/Kg/día, con un factor de riesgo de 4.6 veces para presentar algún efecto adverso del flúor, en este caso, fluorosis dental. Sumado a ello, la concentración de flúor en la orina de los niños evaluados, mostró niveles importantes; ya se encontró por encima del valor sugerido por la OMS (1mg/l), con una media de 3.14 ± 1.09 mg/l, lo cual indica que la población evaluada se está exponiendo a cantidades elevadas de flúor, las cuales fueron registradas en el agua de consumo. Siendo los niños de mayor edad (11 y 12 años) los que registraron los niveles más altos de exposición.

Como parte de la evaluación del riesgo, se llevó a cabo el diagnóstico de fluorosis dental como efecto adverso en la población evaluada. La presencia de fluorosis dental se registró en el 100% de los niños evaluados, de los cuales el 4.5% presentaron el nivel moderado, mientras que el resto (95%), presentó el nivel severo en base al índice de Dean. De acuerdo al índice TF, el grado 4 se presentó en el 4.5% de la población evaluada, el TF5 en el 25.2%, el TF6 en el 16.2%, el TF7 en el 28.8%, el TF8 en el 16.2% y el TF9 en el 9%. Presentándose los grados de mayor severidad en los niños de mayor edad (11 y 12 años), los cuales presentaron los niveles más altos de exposición. En cuanto a la asociación entre la severidad de la fluorosis dental y el nivel de exposición a flúor en la población estudiada, el nivel de correlación entre ambos fue significativo ($r = 0.993$ $p < 0.01$); ya que los niveles de severidad de la fluorosis dental aumentaron conforme aumentó el nivel de exposición a flúor

en los niños evaluados. Sin embargo, dentro del presente estudio se determinó la presencia de un factor de riesgo asociado a la exposición a flúor, el cual podría predisponer genéticamente a la población evaluada, a los efectos adversos del flúor.

El polimorfismo rs412777 en el gen COL1A2 como factor de susceptibilidad genética, se registró en el 47.5% de los niños evaluados, de los cuales el 94.7% fueron heterocigotos para el polimorfismo (AC) y el 5.3% fueron homocigotos (CC). Dentro del análisis de asociación del polimorfismo con la fluorosis dental, se pudo observar que la correlación entre la severidad de la fluorosis dental y el nivel de exposición a flúor fue más alta en el grupo de niños que presentaron el polimorfismo ($r=0.96$) en comparación con el grupo de niños que no lo presentaron ($r=0.85$). Así mismo, los niños que presentaron el polimorfismo tuvieron un riesgo ligeramente más alto (OR= 2.24, 95% CI: 0.55-9.02) de presentar los grados de mayor severidad de fluorosis dental ante las exposiciones más altas de flúor (>3mg/l), en comparación con los niños que no lo presentaron (OR= 1.65, 95% CI: 0.44-6.17).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, hacen evidente la contaminación por flúor del agua de consumo, el alto nivel de exposición a flúor en la población y el daño a la salud que ocasionó su consumo elevado y prolongado. Los niveles registrados de fluorosis dental en la población evaluada, son un problema de salud pública grave que merece ser atendido. Así mismo, la presencia del polimorfismo en los niños evaluados, es sin duda un hallazgo importante en población mexicana, por lo que son necesarios más estudios para confirmar

su asociación con la fluorosis dental y para determinar la presencia de enfermedades asociadas a éste.

MARCO TEÓRICO

El agua es un recurso natural indispensable para la vida. Sin embargo, su calidad cada vez está más deteriorada, tanto por la introducción de contaminantes a partir de actividades humanas, como por la contaminación ocasionada por procesos naturales; sobre todo cuando la fuente de abastecimiento de agua proviene del subsuelo, como es en el caso de las zonas áridas y semiáridas (Carrillo et al., 2002).

Cuando el agua subterránea se desplaza por el subsuelo, interactúan procesos físicos, químicos y biológicos que modifican su calidad para el consumo. Prácticamente la composición del agua subterránea, está determinada por su tiempo de residencia en el acuífero y por las características de los materiales por donde circula, pH, flujo, así como presencia de aniones y cationes (Moore et al., 2005). Siendo los principales problemas asociados a su consumo la alta salinidad, dureza excesiva, alta concentración de hierro y la presencia de elementos potencialmente dañinos como el arsénico, plomo, cromo, manganeso y flúor, entre otros (Moore et al., 2005).

Evaluación del Riesgo

Cuando son identificados elementos contaminantes en el agua, es recomendable realizar una evaluación del riesgo a la salud que éstos generan sobre la población expuesta. La evaluación del riesgo es una herramienta que se utiliza para estimar la magnitud de los efectos adversos sobre la salud humana, causados por compuestos químicos presentes en el medio ambiente. Consta básicamente de cuatro etapas: identificación de los peligros, relación-dosis respuesta, evaluación de la exposición y caracterización del riesgo (ATSDR, 2005; Moreno-Grau, 2003; Díaz-Barriga, 1999).

La identificación de los peligros, consiste en determinar los efectos adversos que una sustancia es intrínsecamente capaz de provocar. Se realiza mediante la recopilación y análisis de información disponible sobre los efectos en salud del contaminante, es decir, los estudios realizados sobre sus efectos tóxicos, sus propiedades fisicoquímicas y su comportamiento en el medio ambiente (ATSDR, 2005; Moreno-Grau, 2003; Díaz-Barriga, 1999)

La relación dosis respuesta es la estimación de la incidencia y la gravedad del efecto en función del nivel de exposición a una sustancia. Se establece mediante el análisis de la información toxicológica, de la cual se deduce el vínculo cuantitativo entre dosis y efectos adversos sobre la salud. Está conformada por la RfD (dosis de referencia en la cual no se ha observado efecto adverso), la NOAEL (Dosis máxima en la cual no se ha observado

efecto adverso) y la LOAEL (Dosis mínima en la cual ya se observó algún tipo de efecto adverso) cuyos valores para diferentes sustancias químicas se encuentran registrados en la EPA (Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos), la ATSDR (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades) o en el banco de datos IRIS (Sistema de Información de Riesgo Integrado) (ATSDR, 2005; Moreno-Grau, 2003; Díaz-Barriga, 1999).

La evaluación de la exposición es el proceso de cálculo de la dosis externa del contaminante recibida por la población; es decir, la estimación de la magnitud del contacto entre la población expuesta y los contaminantes. Se utilizan cálculos matemáticos de la dosis de exposición, tomando en cuenta cual o cuales son las rutas de exposición y la concentración del compuesto en el medio contaminado, es el cálculo aproximado de la dosis del contaminante que está siendo absorbida por el individuo expuesto (ATSDR, 2005; Moreno-Grau, 2003; Díaz-Barriga, 1999)

Finalmente, la caracterización del riesgo consiste en la integración de la información obtenida en la identificación de los peligros, la relación dosis-respuesta y la evaluación de la exposición, con el objeto de predecir el riesgo de padecer los efectos adversos del contaminante en la población expuesta y facilitar la toma de decisiones tendentes a reducir dichos riesgos a niveles tolerables (ATSDR, 2005; Moreno-Grau, 2003; Díaz-Barriga, 1999)

GENERALIDADES DEL FLÚOR

Uno de los principales contaminantes del agua de consumo es el flúor (Smedley et al., 2002; OMS, 2004; Ravenscroft et al., 2009). Cuya prevalencia se ha registrado tanto en países industrializados como Estados Unidos y Canadá, como en países en desarrollo tales como India, Argentina y México (Carrillo et al., 2002, Ortiz-Pérez et al., 2003). Dentro de la República Mexicana, se han identificado estados con acuíferos contaminados por flúor, entre ellos se encuentran Aguascalientes, Baja California, Chihuahua, Durango, Guanajuato, Jalisco, San Luis Potosí, Sonora, Tamaulipas y Zacatecas (Soto-Rojas et al., 2004).

a) Características

El flúor es un elemento químico del grupo de los halógenos, que fue aislado por Moisson en 1886; su peso atómico es de 19, su punto de fusión de $-223\text{ }^{\circ}\text{C}$ y su punto de ebullición de $-187\text{ }^{\circ}\text{C}$; su electroafinidad es de -90 kcal/mol y su energía de enlace de 38 kcal/mol . En estado puro el flúor tiene el aspecto de un gas débilmente amarillo y su principal característica es su gran electronegatividad que lo predispone a combinarse con otros elementos; razón por la cual, es muy difícil encontrarlo puro en la naturaleza. La forma combinada en la que más se le encuentra es el fluoruro cálcico, espatoflúor o fluorita (Gómez et al., 2002; López et al., 2006).

Por su alta solubilidad el flúor forma parte de la cadena alimenticia del ser humano, ocupando el decimotercer lugar en orden de abundancia en nuestro organismo (Gómez et al., 2002; López et al., 2006; Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades, 2003).

Las aplicaciones del flúor son numerosas, los más importantes son el hexafluoruro de uranio (UF_6), que se utiliza para el enriquecimiento de uranio en la industria nuclear; el hexafluoruro de azufre (SF_6), usado como gas dieléctrico para equipos eléctricos o electrónicos o como gas para trazar movimientos de gases o aire en edificios y el fluoruro de hidrógeno, que se utiliza para manufacturar aluminio y producir polímeros como el teflón y compuestos de fluorocarburos (CFCs), los cuales se emplean como aerosoles, refrigerantes y solventes (ATSDR, 2003).

Dentro de las sales que se generan a partir del fluoruro de hidrógeno, el fluoruro sódico (NaF) es la más importante. Esta sal fue el primer derivado empleado en la fluoración del agua de bebida. Además del NaF , en los sistemas de fluoración de aguas se usan otros derivados como el ácido fluorosilícico, subproducto en la fabricación de fertilizantes fosforados y el hexafluorosilicato de sodio, obtenido por neutralización alcalina de ácido fluorosilícico (Masten, 2001).

La aplicación de los derivados de fluoruros a la medicina también está ampliamente extendida. Numerosos fármacos con fluoruros en su composición se emplean como

anestésicos, antibióticos, agentes anticancerígenos y antiinflamatorios (Strunecká et al., 2004). Asimismo, derivados sintéticos de fluoruros como el monofluorofosfato sódico (Na_2FPO_3) se emplean en la elaboración de pastas dentífricas, debido a su compatibilidad con los abrasivos empleados en este tipo de productos (EFSA, 2008).

b) Distribución

En la naturaleza el flúor es un elemento abundante, aunque su distribución en la corteza terrestre no es homogénea. Lo podemos encontrar principalmente en minerales sobre todo de origen volcánico, formando parte de las rocas y del suelo; también lo podemos encontrar en el organismo, las plantas, los animales y el agua. Aunque en la atmósfera el aire normal no contiene flúor, éste suele aparecer por las erupciones volcánicas o por la contaminación industrial (López et al., 2006; ATSDR, 2003).

Todas las aguas contienen flúor en concentraciones variables dependiendo de la zona geográfica en la que se encuentren. Su concentración en el agua depende de la porosidad y acidez del suelo y las rocas, de la temperatura y de la profundidad del pozo, entre otros factores (US EPA, 2010; Price, 2007). Generalmente las aguas superficiales contienen bajos porcentajes, mientras que las aguas subterráneas adquieren concentraciones más altas, las cuales varían de acuerdo a la época de lluvia o estiaje en las diferentes zonas del país. Para conocer la cantidad de flúor en una región determinada, solo basta con promediar

estas dos épocas (NRC, 2006; Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades, 2003).

El agua de mar contiene concentraciones de flúor que van de entre 0.8 y 1.4 mg/l, el agua dulce presenta grandes oscilaciones en forma de fluoruros alcalinos y las aguas localizadas en las zonas montañosas o en las áreas con depósitos geológicos de origen marino, como en el Sureste Asiático y el Noroeste de África son las de mayor contenido (Gómez et al., 2002; Price, 2007).

c) Exposición

De acuerdo a la OMS (Organización Mundial de la Salud) la principal fuente de exposición a fluoruros es el agua de consumo y los alimentos cocinados con dicha agua. No obstante, el aire también constituye una fuente de exposición a través de la producción de fertilizantes, cenizas de carbón y actividad volcánica (WHO, 2006).

Durante el movimiento del agua subterránea, el flúor pasa rápidamente a la solución, convirtiéndose en un contaminante natural del agua de consumo; ya que el agua subterránea es la principal fuente de abastecimiento público (Price, 2007; Bocanegra, 2006; CONAGUA, 2010). De esta manera, la incorporación de flúor en el organismo se realiza fundamentalmente por la ingestión de agua; cuyo factor más importante para determinar el volumen consumido, es la temperatura diaria máxima que prevalece en cada zona

(Mascarenhas, 2000; López et al., 2006; Molina-Frechero et al., 2006; Núñez-Mendieta, 2011).

Hábitos en las comunidades como hervir el agua; ocasiona un aumento de la concentración de flúor (Ortiz-Pérez, 2011). De tal manera, que un bebé alimentado con fórmula láctea preparada con agua contaminada con flúor (0.6-1.2 mg/l) y hervida; puede llegar a consumir hasta 300 veces más flúor, que un bebe amamantado (Connet, 2004).

Existe además una cantidad adicional inadvertida de flúor a causa del efecto en cascada o amplificador, que consiste en el uso de agua contaminada por flúor para la elaboración de bebidas y alimentos; en el regadío de las verduras; en el suministro de agua a los animales etc. (Miñana, 2002). Por lo que algunos alimentos terminan siendo ricos en flúor como el té (175 mg/l); tomate (41 mg/Kg); lentejas (18 mg/Kg); cereza (6 mg/Kg); espinacas (3.8 mg/Kg); hígado (5.5 mg/Kg) y riñón de vaca (2.5 mg/Kg); carne de pollo, ternera y cordero (1 mg/Kg); sardina (15 a 25 mg/Kg); salmón y bacalao (5 a 7 mg/Kg) (López et al., 2006).

El efecto halo o de difusión juega también un papel importante en el consumo de flúor, ya que algunas veces las bebidas o alimentos dentro de una población no contaminada por flúor, son preparados en otros lugares, en donde la contaminación por flúor en el agua es elevada (Jiménez-Farfán et al., 2001). Un ejemplo de ello es Estados Unidos (principal exportador de alimentos a México) en donde el plaguicida más usado es la criolita (fluoruro de aluminio y sodio); existiendo más de treinta frutas y verduras tratadas con ella, las cuales

son exportadas a diversas partes del mundo. El estándar de la EPA de 7 mg/l de residuos de flúor es cinco veces superior al estándar que había establecido el Departamento de Agricultura de Estados Unidos en 1933, de 1.2 mg/l como nivel máximo de residuos de flúor en las frutas y verduras (Beltrán-Salazar, 2012; www.fluoridealert.org).

En algunas regiones, las fuentes de exposición a flúor provienen de la fluoración intencionada de las aguas de consumo público y alimentos como la sal, así como de la prescripción médica de flúor vía tópica (Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades, 2003; Gómez et al., 2002).

Existen además otras fuentes de exposición a flúor como las pastas dentales (1000 a 1500 mg/Kg), enjuagues bucales (230 a 900 mg/l) y suplementos dietéticos (Valdez-Jimenez et al., 2010); asados y frituras en sartenes de teflón y otras exposiciones ambientales (Beltrán-Salazar, 2012).

d) Metabolismo

La principal vía de absorción del flúor es el tracto gastrointestinal, aunque también puede ingresar al organismo a través de los pulmones (debido al fluoruro presente en la atmósfera) y la piel, aunque esto último sólo bajo condiciones muy especiales y sobre todo por contacto con ácido fluorhídrico (ATSDR, 2003; Rivas-Gutiérrez et al., 2005).

La absorción del flúor presente en la dieta dependerá de factores como la concentración, solubilidad y grado de ionización del compuesto ingerido, así como de otros componentes de la dieta. Cuando el flúor proviene de compuestos solubles, la absorción es rápida y casi completa (>90%); sin embargo, puede reducirse ligeramente por la presencia de otros elementos en la dieta como el calcio, magnesio o el aluminio que son minerales capaces de formar complejos insolubles con el flúor (López et al., 2006; Rivas-Gutiérrez et al., 2005; Barbier et al., 2010).

Aproximadamente el 40% del flúor ingerido es absorbido en el estómago en forma de ácido fluorhídrico. Dicho compuesto, es una molécula sin carga, que atraviesa rápidamente por difusión simple las membranas biológicas, incluyendo la mucosa gástrica. El flúor que no es absorbido en el estómago (aproximadamente 45% del flúor ingerido), lo será rápidamente en el intestino delgado, el cual posee una gran capacidad de absorción debido a su mayor área superficial, acrecentada por la presencia de microvellosidades; a través de difusión facilitada, aunque se desconoce cuáles son las proteínas acarreadoras (Rivas-Gutiérrez et al., 2005; Ekstrada et al., 1994; Barbier et al., 2010; Martínez-Mier et al., 2012).

La concentración plasmática máxima de flúor, se alcanza aproximadamente a los treinta minutos de haber sido ingerido; una vez en el plasma, éste es distribuido por todo el organismo, fijándose específicamente en los tejidos calcificados por los que tiene gran afinidad, como los huesos y los dientes. Finalmente, el flúor es eliminado por todas las vías

de excreción principalmente por orina, a través de la cual se libera el 50% del flúor absorbido (Gómez et al., 2002; López et al., 2006; Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades, 2003; ATSDR, 2003; Barbier et al., 2010).

e) Toxicidad

Aguda

Son muy raros los casos de intoxicación aguda por flúor y los únicos descritos se han relacionado con la adición accidental de cantidades excesivas al agua potable en plantas de fluoración, a través de su uso como insecticida, por intentos de suicidio e intoxicación accidental (Gómez et al., 2002; López et al., 2006).

La toxicidad de las pastas de dientes convencionales es muy baja, la concentración estándar es de 0.1% de flúor y de 0.05% en las pastas infantiles. En el caso de suplementos dietéticos y aplicaciones tópicas de flúor, la intoxicación es poco probable ya que se usan bajo prescripción médica (Gómez et al., 2002).

Los síntomas de intoxicación aguda por flúor incluyen náuseas, vómitos, hipersalivación, dolor abdominal y diarrea (por formación en el estómago de ácido fluorhídrico con efecto irritante local). En casos severos pueden presentarse convulsiones, arritmia cardíaca, estado comatoso, parálisis respiratoria y muerte debido a la acidosis sistémica, hipocalcemia e hiperpotasemia (López et al., 2006; Martínez-Mier, 2012).

La dosis letal para adultos está establecida en 32-36 mgF/kg de peso y para niños en 15 mgF/kg de peso. La dosis tóxica probable (DTP), que es la dosis a partir de la cual hay que realizar un tratamiento de urgencia, es de 0.5 mgF/kg de peso corporal para niños menores de 6 años (López et al., 2006).

Los efectos tóxicos del flúor se deben principalmente a la quema de tejidos por el ácido fluorhídrico cuando entra en contacto con la humedad, a la limitación de la función nerviosa debido a la disminución del calcio en el organismo, a la intoxicación celular a través de la inhibición de sistemas enzimáticos y a la limitación de la función cardíaca al causar un desequilibrio electrolítico que conduce a la hiperpotasemia (Martínez-Mier, 2012).

Crónica

La intoxicación crónica por flúor es mucho más frecuente y es originada principalmente a través del agua de consumo. El tipo de daño ocasionado por el flúor dependerá de factores individuales del organismo como la edad, dieta, factores genéticos, actividad metabólica ósea, procesos patológicos y estado fisiológico y nutricional del individuo; así como de la dosis, tiempo y tipo de exposición (Bonilla-Petriciolet et al., 2002; Huang et al., 2008), la temperatura media de la zona y hábitos como hervir el agua fluorada (Mascarenhas, 2000; López et al., 2006; Molina-Frechero et al., 2006; Núñez-Mendieta, 2011). Siendo la población más vulnerable a los efectos del flúor los niños, ancianos y diabéticos; así como

los sujetos que padecen malnutrición (deficiencias de calcio, magnesio, vitamina C, vitamina D o yodo) y personas con dietas bajas en proteínas (ATSDR, 2003).

Los principales efectos del flúor a nivel celular comprenden: estrés oxidativo, mediante la inhibición de enzimas involucradas en la producción de energía, en la transferencia de iones y en la neurotransmisión; inducción de apoptosis, por la peroxidación de lípidos y procesos celulares alterados; daño mitocondrial, evaluado por pérdida del potencial de membrana, correlacionado al aumento en la generación de superóxidos en las células beta del páncreas; generación de óxido nítrico; inducción de especies reactivas de oxígeno y reducción del sistema de defensa antioxidante celular (Barbier et al., 2010; Shivarajashankara et al., 2002; Vani et al., 2000).

En combinación con el aluminio (Al), el flúor interfiere con índices de crecimiento y hormonas; como en el caso de uno de los primeros ensayos de fluoración en Estados Unidos, que reveló que en promedio las niñas en una comunidad fluorada, alcanzaban la menstruación unos 5 meses antes que las niñas en comunidades no fluoradas (Connet, 2004; www.fluoridealert.org). Así mismo, Ortiz-Perez et al. (2003) reportaron una disminución de testosterona libre e inhibina-B, además de un aumento significativo de FSH (hormona folículo estimulante) en varones expuestos ocupacional y ambientalmente a fluoruros (Ortiz-Perez et al., 2003).

Por otro lado, estudios realizados en los últimos años sugieren que el flúor es un agente neurotóxico, ya que diversas investigaciones realizadas en poblaciones expuestas a éste (con concentraciones en agua mayores a 3 mg/l), apoyan la hipótesis de que el flúor disminuye el coeficiente intelectual (CI) en niños (Lu et al., 2000; Rocha-Amador et al., 2007; Choi et al., 2012); ya que es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica, lo que puede producir cambios bioquímicos y funcionales en el sistema nervioso central durante la gestación. El flúor se acumula en el tejido cerebral antes del nacimiento, ejerciendo un efecto específico sobre la síntesis de proteínas en el cerebro, lo que conlleva a cambios degenerativos en las neuronas, pérdida en diferente grado de la sustancia gris y cambios en las células de Purkinje en la corteza cerebelar (Valdez-Jimenez et al., 2010; Choi et al., 2012). Además, el flúor provoca hinchamiento de las mitocondrias y del retículo endoplásmico; agrupamiento de cromatina; daño en la membrana nuclear y disminución en el número de sinapsis, mitocondrias, microtúbulos y vesículas sinápticas; así como daño a nivel de la membrana sináptica, lo que indica que el flúor puede retardar el crecimiento y la división celular en la corteza. Así mismo, el menor número de mitocondrias, microtúbulos y vesículas en la terminal sináptica podría disminuir la eficacia entre las conexiones neuronales y producir un funcionamiento sináptico anormal e influir en el desarrollo cognitivo durante la vida posnatal (Connet, 2004; Valdez-Jimenez et al., 2010; Xiang et al., 2003; Lu et al., 2000; Dhar et al., 2009).

Debido a que el flúor tiende a almacenarse en las áreas ricas en calcio, provoca enfermedades como la fluorosis dental y la esquelética (ATSDR, 2003; NRC, 2006; Connet, 2004; OMS, 2004). La fluorosis esquelética, es una patología en donde se producen cambios en la estructura y funcionalidad ósea. Dentro del hueso, el flúor estimula el reclutamiento y proliferación de los osteoblastos o impide la resorción al formar un mineral tisular menos soluble. Durante la fluorosis esquelética se produce pérdida del movimiento en las articulaciones, osteoesclerosis en la pelvis y en la columna vertebral, calcificación de los ligamentos y efectos neurológicos secundarios a la compresión de los nervios a nivel de la columna vertebral (ATSDR, 2003; Hidalgo-Gato et al., 2007). La mayoría de los expertos coinciden en que la ingestión de 20 mg de flúor por día, durante 20 años o más, puede causar fluorosis esquelética avanzada y que las dosis de 2-5 mg por día pueden causar sus etapas pre-clínicas y clínicas (Puche et al., 2007).

La fluorosis dental es la enfermedad más frecuentemente relacionada con la exposición crónica al flúor. Tiene su origen durante la formación y calcificación del órgano dentario, periodo que abarca desde la etapa embrionaria hasta los 12 o 13 años de edad. Razón por la cual, nunca aparecerá fluorosis dental una vez que el esmalte esté formado (Gómez et al., 2002; López et al., 2006; Jiménez-Farfán et al., 2001; Espinosa et al., 2012).

GENERALIDADES DEL ÓRGANO DENTARIO

Para conocer el mecanismo de acción del flúor sobre el órgano dentario, es necesario conocer las piezas dentarias y sus estructuras, así como comprender sus etapas de formación y calcificación.

El ser humano posee una doble dentición: la dentición temporal que emerge en los primeros años de la vida y tiene una duración limitada a los años en que el crecimiento craneofacial y corporal es más intenso y la dentición permanente o definitiva, la cual posee órganos dentarios preparados para durar la vida adulta del individuo (Barbería, 2001).

La dentición temporal se pierde aproximadamente de los 10 a los 12 años de edad, momento en el que ya se encuentra instaurada totalmente la dentición permanente. Entre los 6 y 12 años se produce el recambio entre ambas denticiones, coexistiendo dientes temporales y permanentes, lo que se conoce como dentición mixta (Gallego-Rodríguez, 2008).

Cada una de las piezas dentarias, tanto temporales como permanentes, está constituida por tres partes: la corona, el cuello y la raíz. La corona es la parte visible en la cavidad bucal que sobresale de la encía, el cuello es la parte que divide a la corona de la raíz y la raíz es la parte más larga del diente que se encuentra cubierta tanto por hueso como por encía. Estas estructuras dentarias están constituidas a su vez por cuatro tejidos: el esmalte que es la parte más dura y externa del diente que cubre a la corona, el cemento que es la parte

más externa que cubre a la raíz; la dentina que otorga sensibilidad a lo largo del diente y la pulpa que proporciona el riego vascular (Gallego-Rodríguez, 2008; Riojas, 2006).

a) Etapas de formación del órgano dentario

La formación de cada uno de los tejidos del diente se lleva a cabo en varias etapas. Los dientes temporales se forman en su mayoría, durante la gestación. Al nacer, no hay ningún diente en la boca, pero ya están prácticamente calcificadas las coronas de los dientes temporales e incluso, durante los primeros meses de vida, se empieza a calcificar la corona del primer molar permanente (Gómez et al, 2002; Riojas, 2006).

Básicamente, la formación de los tejidos del órgano dentario consta de cuatro etapas: lámina dental, yema, casquete, campana y folículo.

La lámina dental es la primer estructura que origina a los órganos dentarios, aparece durante la sexta semana de vida intrauterina; está formada por células epiteliales alargadas en su superficie y de forma poliédrica en su porción central (Albertí et al., 2007).

Durante la etapa de yema, sobre esta lámina se forma un abultamiento en forma de disco que constituye la yema epitelial, cuando el mesénquima subyacente entra en contacto con ésta, se forma una condensación esférica de células mesenquimatosas que evolucionan en

la papila dental (Barbería, 2001; Gallego-Rodríguez, 2008; Riojas, 2006; Albertí et al., 2007).

Cuando están diferenciados el órgano dental epitelial, la papila dental y el saco dental, se lleva a cabo la etapa de casquete, en donde comienza la formación de todos los tejidos del diente y del periodonto. Durante esta etapa, en la parte cóncava del órgano dental se forma el epitelio adamantino interno, en donde las células se vuelven cilíndricas; en la porción convexa, se forman el epitelio adamantino externo, en el cual las células permanecen cuboideas y el retículo estrellado, debido a la segregación de glicosaminoglicanos de las células poliédricas centrales del órgano dental (Barbería, 2001; Gallego-Rodríguez, 2008; Albertí et al., 2007).

Los patrones de la anatomía coronaria dental (cúspides y fisuras) se forman durante la etapa de campana, en donde además se desarrolla el estrato intermedio entre el retículo estrellado y el epitelio adamantino interno, el cual es esencial en la formación del esmalte, ya que se producen los materiales que pasan a los ameloblastos (células que se diferencian a partir de las células cilíndricas del epitelio dental) y a la matriz del esmalte durante la amelogénesis (formación del esmalte). Durante esta etapa, también se diferencian los odontoblastos a partir de la papila, los cuales formaran la dentina y la pulpa; además el saco dental, a partir del cual se formará el cemento, el ligamento periodontal y el hueso

alveolar propio, adopta la forma circular (Gallego-Rodríguez, 2008; Bhaskar, 2000; Albertí et al., 2007; Nanci, 2007).

Durante la etapa de folículo, el epitelio adamantino interno muestra una intensa actividad citogenética. La dentina, constituida por colágeno en un 90%, es el primer tejido dentario que se forma y una vez conformadas las primeras capas de dentina se inicia la secreción de la matriz del esmalte, por proceso de inducción recíproca. La primera matriz de esmalte que se deposita, forma una capa delgada en contacto con la dentina que recibe el nombre de membrana dentinoesmáltica. Luego de la formación de ésta, la matriz del esmalte se sigue depositando en dirección al epitelio adamantino externo hasta formar el total del esmalte dentario (Bhaskar, 2000; Albertí et al., 2007; Nanci, 2007). Coincidentemente con la deposición de la matriz, aparecen dentro de ella los cristales de hidroxiapatita, que al parecer son segregados por las vesículas del polo secreto del ameloblasto y al mismo tiempo que se lleva a cabo este proceso, se inicia la formación del resto de los tejidos (Albertí et al., 2007; Bhaskar, 2000).

b) Calcificación del órgano dentario

Simultánea a la formación de los tejidos dentarios se produce su calcificación, la cual se lleva a cabo en tres etapas: la impregnación por estratos, en donde la matriz se impregna

con el 25 o 30 % de la masa total de sales que deben contener los tejidos. La impregnación en masa, donde le llega el 60 o 70 % de su masa total de sales, con lo que se completa el 90 o 95 % de la sustancia inorgánica. La última etapa es la cristalización, la cual se inicia en la superficie de las cúspides o bordes incisales y progresa hacia la zona cervical, en ella las sales de calcio se movilizan al estado de solución o de compuestos orgánicos coloides y se conforman los cristales de hidroxiapatita (Albertí et al., 2007).

c) Erupción del órgano dentario

El patrón de erupción de los órganos dentarios varía entre los temporales y permanentes. Los dientes temporales empiezan a erupcionar a los 6 o 7 meses y terminan su erupción aproximadamente a los 2 años. Entre los 6 o 7 años erupcionan los incisivos y el primer molar permanente y ya prácticamente están calcificadas las coronas del canino, premolares y segundos molares. Entre los 9 y 12 años erupcionan el canino, ambos premolares y los segundos molares y se empieza a calcificar la matriz del tercer molar que suele erupcionar entre los 17 y 21 años (Gómez et al., 2002). El proceso de erupción y desarrollo de la oclusión dura de 13 a 15 años (Barbería, 2001).

d) Mecanismos de toxicidad del flúor en el órgano dentario.

La incorporación del flúor al esmalte se hace de manera diferente según el período de desarrollo en que se encuentre.

Durante la formación del diente, la incorporación de flúor se realiza fundamentalmente a través de la pulpa, la cual contiene vasos sanguíneos. El flúor ingerido pasa de la sangre a la pulpa, en donde la célula formadora del esmalte, el ameloblasto; se encuentra formando una matriz proteica que posteriormente se calcificará. Si por alguna razón, durante esta etapa del desarrollo se ingieren cantidades excesivas de flúor, éste interferirá con el metabolismo del ameloblasto (McDonagh et al., 2000); facilitando la formación de cristales de fluorapatita e hidroxifluorapatita, por sustitución de uno o dos iones de la molécula de hidroxiapatita; la cual conforma el 96% de la superficie del esmalte (Gómez et al., 2002; López et al., 2006; Vieira et al., 2003).

La sustitución de los cristales de hidroxiapatita genera un desorden de mineralización, en donde las secciones del diente, pueden volverse hipermineralizadas o hipomineralizadas; aumentando la porosidad del esmalte, lo que se conoce como fluorosis dental e incluso afectando la erupción dentaria, ya que se ha reportado que entre más flúor se ingiera, más se demora el diente en hacer erupción (Hidalgo-Gato et al., 2007; Vieira et al., 2003).

FLUOROSIS DENTAL

La fluorosis dental se define como una hipomineralización permanente que afecta la integridad de los dientes, debido a la erosión producida en el esmalte (EFSA, 2005). Es un defecto en la mineralización del órgano dentario, caracterizado por un aumento de la porosidad en la superficie del diente, que le confiere un color opaco (Gómez et al., 2002; Espinosa et al., 2012). Clínicamente, durante la fluorosis dental se producen cambios continuos que van desde finas líneas opacas y blancas hasta una superficie porosa hipomineralizada (Fejerskov et al., 1990; Fomon et al., 2000; Espinosa et al., 2012). En sus grados más intensos, se presenta una hipoplasia grave en el esmalte y el órgano dentario presenta una coloración pardusca marrón con pérdida de gran parte del esmalte, ya que éste puede romperse incluso con las fuerzas masticatorias.

Generalmente, durante la fluorosis dental las lesiones son distribuidas simétrica y bilateralmente sobre la superficie del esmalte y su severidad varía entre los diferentes grupos dentarios dependiendo del tiempo de exposición y la cronología de la formación dentaria (Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades, 2003). Si el nivel de exposición a flúor es relativamente constante, todas las superficies de un diente dado se afectarán por igual (Gutiérrez-Trujillo et al., 2006). Sin embargo, los dientes cuyo proceso de mineralización es más corto, tendrán una afección menor; mientras que los que tardan más en mineralizarse, serán más severamente afectados (Gómez et al.,

2002; Espinosa et al., 2012). Por ello el patrón de presentación de fluorosis dental en los dientes temporales, es diferente al que se presenta normalmente en la dentición permanente. En la dentición temporal las manchas predominantes son las de color blanco y los segundos molares, los primeros molares y los caninos son los órganos dentarios más afectados, probablemente debido a que la maduración del esmalte de los molares in útero, toma más tiempo que los dientes anteriores y a que una parte de su desarrollo se realiza en el periodo posnatal (Loyola-Rodríguez et al., 2000). En cambio, en la dentición permanente los más afectados son los incisivos ya que su calcificación se produce desde el nacimiento hasta los cinco años y la coloración del manchado es café (Gómez et al., 2002).

A pesar de que la fluorosis dental es fácilmente detectable por su asociación a exposiciones elevadas de flúor, es necesario diferenciarla de otras opacidades del esmalte no inducidas por el flúor, como lesiones de caries temprana, hipoplasia del esmalte, amelogénesis y dentinogénesis imperfecta; así como de tinciones por medicamentos y otras (Gómez et al., 2002; Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades, 2003).

En el siguiente cuadro, se presenta el diagnóstico diferencial entre la fluorosis dental y algunas otras opacidades del esmalte no inducidas por el flúor (Cuadro 1).

Cuadro 1. Diagnóstico diferencial entre la fluorosis dental y otras opacidades del esmalte no inducidas por el flúor.

CARACTERÍSTICA	FLUOROSIS DENTAL	OPACIDADES DEL ESMALTE
Área afectada	Todas las superficies del diente están afectadas	Normalmente limitada a superficies lisas y de extensión limitada
Forma de la lesión	Se asemeja a trazos de líneas sombreadas. Líneas que se fusionan con aspecto nublado. Las cúspides y bordes incisales dan imagen de copo de nieve	Redondo u oval
Delimitación	Distribución difusa sobre toda la superficie del esmalte	Claramente diferenciada del esmalte adyacente
Color	Líneas o manchas blancas opacas, color de gris, a veces con aspecto marrón.	De blanco opaco o amarillo-cremoso a rojizo-naranja en el momento de la erupción
Dientes afectados	Generalmente dientes homólogos. Cuanto más tardía sea la erupción mayor será la afectación.	Lo más común es en superficies labiales de dientes aislados, a veces homólogos. Cualquier diente puede estar afectado, pero suelen estarlo más los incisivos.
Hipoplasia severa	Ninguna. El puntilleo del esmalte no ocurre en las formas más leves. La superficie del esmalte tiene apariencia glaseada, es liso a la exploración.	Desde ausentes a graves. La superficie del esmalte puede verse rugosa y áspera al explorar
Visibilidad	Frecuentemente invisible bajo la luz fuerte; más fácilmente detectable con la luz tangencial reflejada en la corona del diente.	Se ve más fácilmente bajo la luz fuerte en línea visual perpendicular a la superficie del diente.
Distribución	Casi simétrica. La mayoría de los dientes están afectados	Muy rara vez simétrica. Solo uno o un pequeño número de dientes son afectados

FUENTE: Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades, 2003.

a) Bases moleculares de la fluorosis dental.

Como se sabe, la fluorosis dental es una enfermedad irreversible que afecta a miles de personas en el mundo. En México su prevalencia se encuentra entre 30-100% en las áreas donde el agua está naturalmente fluorada y de 52-82% en las áreas donde no existe fluoruro en agua y se utiliza sal fluorurada (Soto-Rojas et al., 2004).

A pesar de que existe una fuerte asociación entre la exposición al fluoruro y la fluorosis dental, existen varios estudios que han reportado una correlación baja entre ellos (Vieira et al., 2005; Dawson et al., 2009; Everett et al., 2002; Raghavan et al., 2014). Sugiriendo la presencia de alteraciones genéticas asociadas, como los polimorfismos.

Una alteración genética es una condición patológica en el genoma, el cual está constituido por un conjunto de genes. Un gen es un segmento de ADN que contiene la información necesaria para la síntesis de una proteína o de un ARN, cuya estructura está conformada por secuencias no codificantes llamadas intrones y secuencias codificantes llamadas exones (Alberts et al., 2002; González-Lamuño et al., 2008).

Cuando existen variaciones en la secuencia genética de los individuos, estamos en presencia de las mutaciones, estas pueden ser originadas por errores en los mecanismos de replicación y reparación del ADN, así como por factores ambientales (Checa, 2007).

Pueden tener efectos deletéreos y causar enfermedades o dar lugar a lo que se conoce como polimorfismos (Checa, 2007).

Aunque no está muy claro el uso de los términos mutación y polimorfismo, el término mutación se suele atribuir a situaciones poco frecuentes y que están asociadas a una patología, mientras que el término polimorfismo, se asocia a una variación común en una población más o menos estable y no es causa directa de una patología; las diferentes formas de los polimorfismos son más frecuentes que las mutaciones; ya que tienen una frecuencia de uno de sus alelos superior al 1% en la población, (Checa, 2007; Torrades, 2002).

Polimorfismo significa literalmente “muchas formas” y existen numerosos mecanismos moleculares bien conocidos que los pueden originar como la recombinación homóloga, la segregación de cromosomas, las duplicaciones, las transposiciones y la mutación del ADN.

Los polimorfismos pueden encontrarse en las regiones codificantes del genoma (regiones que codifican para una proteína), recibiendo el nombre de polimorfismos génicos. También podemos encontrarlos en las regiones no codificantes (regiones que no codifican para ningún producto génico, pero que pueden tener una función reguladora o simplemente estructural) que son los llamados polimorfismos genéticos (Torrades, 2002).

Básicamente existen dos tipos de polimorfismos, los que derivan de la sustitución de un nucleótido por otro y los que derivan de la inserción, delección o cambios en el número de secuencias repetidas de ADN. Los más frecuentes son los primeros, que son conocidos como SNP (polimorfismo de un solo nucleótido, por sus siglas en inglés) (Checa, 2007). Los SNP se localizan en cualquier parte de la estructura de los genes y el genoma. Algunos SNP desempeñan un papel biológico importante en el desarrollo de enfermedades comunes, debido a que constituyen SNP funcionales, los cuales pueden afectar al gen, al ARN mensajero de genes que sintetizan proteínas y a las mismas proteínas (Ramírez-Bello et al., 2013). La gran mayoría de los SNP tienen dos alelos, los cuales están representados por una sustitución de una base por otra. En las poblaciones, este tipo de alelos se clasifican en alelo principal o silvestre y alelo raro o mutante. Debido a que los humanos son diploides, un individuo puede tener uno de tres genotipos: homocigoto (alelos idénticos) para el alelo más frecuente, heterocigoto (alelos diferentes), u homocigoto para el alelo menos frecuente (Checa, 2007).

Los SNP pueden estar presentes en regiones codificantes (exones) y provocar un cambio en un aminoácido, a este tipo de SNP se les conoce como no sinónimos y debido a que éstos afectan directamente la función de la proteína son los más investigados. Pueden además estar localizados en la región promotora del gen, influenciando su actividad transcripcional (modulando la unión de factores de transcripción), en intrones (modulando la estabilidad de la proteína), en sitios de splicing (sitios donde ocurre la eliminación de

intrones y unión de exones) o en regiones intragénicas; originando variaciones funcionales que pueden producir alguna enfermedad o susceptibilidad a ésta. Otros pueden no alterar la conformación del gen, aunque se ha descrito que pueden tener consecuencias funcionales, dichos SNP son los llamados sinónimos o silenciosos (Checa, 2007).

Cuando la variación en un solo nucleótido afecta el sitio de restricción de una enzima, estamos en presencia de los llamados polimorfismos de restricción o RFLP (polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción). En este caso, el cambio de un nucleótido altera la diana (región conocida del genoma) para una determinada enzima de restricción y podemos detectar el polimorfismo en función de la variación que éste genera en el patrón de restricción. El número de variantes alélicas que se genera es siempre dos (C: corta / NC: no corta) y los genotipos como ya se mencionó anteriormente son tres: homocigota (C/C), heterocigota (C/NC) y homocigota (NC/NC) (Checa, 2007; Torrades, 2002).

De esta manera, la detección de este tipo de polimorfismos se lleva a cabo a través del análisis de los RFLP; aunque la forma más directa para cualquier polimorfismo es la secuenciación del ADN, la cual es más compleja (Torrades, 2002). El análisis de los RFLP se basa en la detección de aquellas variaciones de secuencia del ADN, que tienen como consecuencia un cambio en una diana de restricción, la cual se puede cortar con unas proteínas conocidas con el nombre de enzimas de restricción, las cuales realizan la función

de tijeras. Los fragmentos que se obtienen mediante estas enzimas de restricción, serán de diferente tamaño en función de los alelos que se presenten (Checa, 2007; Torrades, 2002).

En la actualidad, los polimorfismos son utilizados como marcadores de algunas enfermedades; ya que la presencia de éstos, puede ser la causa de riesgo para el desarrollo o progresión de alguna enfermedad (Checa, 2007).

La mayoría de los polimorfismos asociados a la fluorosis dental son en genes relacionados con la formación y metabolismo óseo, debido a la similitud en la constitución y formación del hueso con el diente. Uno de estos genes candidatos es el gen COL1A2 el cual codifica para una proteína del colágeno tipo 1 (Willing et al., 2003; Dawson et al., 2006).

El colágeno tipo I, está conformado por dos cadenas α I idénticas y una cadena α II genéticamente diferente (López et al., 2010). Cada cadena, tiene 338 repeticiones ininterrumpidas de un triplete GXY, donde G es glicina, X prolina e Y, hidroxiprolina (Gracia et al., 2002). Ambas cadenas están codificadas por los genes COL1A1 Y COL1A2 respectivamente. El gen COL1A1 está localizado en la posición q 21.3 del cromosoma 17 y el gen COL1A2 en la posición 22.1 del brazo q del cromosoma 7 (MalaCards human disease database).

En particular, las mutaciones en el gen COL1A2 son las que más se les ha relacionado con las enfermedades del hueso como la osteogénesis imperfecta, el síndrome de Ehlers-Danlos, la osteoporosis idiopática y el síndrome atípico de Marfan entre otras; así como con la dentinogénesis imperfecta y la fluorosis dental (MalaCards human disease database).

De hecho, Huang et al. (2008), investigaron la relación entre la fluorosis dental y la presencia de polimorfismos en este gen en niños de China, registrando que los niños que fueron homocigotos para el genotipo PP de COL1A2 tuvieron un aumento significativo del riesgo de fluorosis dental, en comparación con los niños que llevan el genotipo pp en una comunidad de fluorosis endémica (Huang et al., 2008).

Se sabe que el gen COL1A2 es expresado por los odontoblastos durante la etapa de formación de la corona de los órganos dentarios, motivo por el cual la dentinogénesis imperfecta tipo I, se encuentra asociada a la presencia de defectos en este gen (López et al., 2010). Además, debido al proceso de inducción recíproca, se sabe que la formación del esmalte, no continúa hasta que se inicia la mineralización de la dentina (Bordoní, 2010). Por lo tanto, cualquier alteración en la formación de dentina, provocada por la presencia de un polimorfismo a nivel del gen COL1A2, generará una alteración en la formación del esmalte; ya que existe una clara y dependiente relación en el proceso de formación de ambos tejidos.

De forma interesante, no se han llevado a cabo estudios acerca de la presencia de polimorfismos en este gen dentro de población mexicana.

ANTECEDENTES DE LA ZONA DE ESTUDIO

Dentro de la República Mexicana existen diversos estados que poseen una contaminación natural por flúor del agua de consumo. En el año 2000 se llevó a cabo una evaluación de la concentración de flúor de la red de distribución de agua potable en varias comunidades de diferentes estados del país, encontrando concentraciones de flúor de 0.94 a 3.52 mg/l en Aguascalientes, de 10.27 a 11.89 mg/l en Durango, de 0.5 a 12.18 mg/l en Guanajuato, de 1.12 a 5.32 mg/l en Jalisco, de 0.84 a 3.70 mg/l en Zacatecas y de 0.74 a 4.16 mg/l en el estado de San Luis Potosí (Alvarado, 2001).

En el Estado de San Luis Potosí, existen zonas con características litológicas y estructurales en las rocas que indican que hubo diferentes eventos geológicos de tipo orogénico asociados con actividad volcánica; en cuyas rocas fracturadas se encuentra la fuente natural de flúor (Price, 2007). Razón por la cual los acuíferos de algunas de sus localidades poseen altas concentraciones de este mineral, siendo éstos la principal fuente de abastecimiento de agua potable en la mayoría de ellas.

En el 2006, dentro de un estudio de evaluación de la Calidad del agua de 91 pozos profundos en la ciudad de San Luis Potosí y 23 del municipio más cercano, Soledad de Graciano Sánchez; se determinó que el 71.43% de las muestras de la ciudad y el 35.71% de las muestras del municipio de Soledad de Graciano Sánchez, excedieron la concentración de flúor en agua según la Modificación a la NOM-127-SSA1-1994 de 1.5 mg/l, con un intervalo de concentración de 0.34 a 3.07 mg/l (Landín, 2006).

En el mismo año, Bocanegra (2006) en su estudio de 237 muestras de agua de pozo correspondientes a 157 localidades ubicadas en 33 municipios del estado de San Luis Potosí, registró que el 28.5% de las muestras analizadas sobrepasaron el límite permitido por la norma mexicana (1.5mg/l), las cuales correspondieron a trece municipios: Charcas, Guadalcázar, Mexquitic de Carmona, Moctezuma, Salinas de Hidalgo, Santa María del Río, Santo Domingo, Villa de Arriaga, Villa de Guadalupe, Villa de Ramos, Villa de Reyes, Villa de Zaragoza y Villa Juárez. Una de las comunidades cuya concentración de flúor en el agua sobrepasó el límite de la norma mexicana fue La Reforma, Salinas de Hidalgo, en donde el 80% de la población infantil, presentó concentraciones mayores a los 4 mgF/g creatinina, nivel máximo ocupacional que recomienda el Instituto Nacional de Seguridad y Salud Ocupacional (NIOSH, por sus siglas en inglés), indicando que de continuar la exposición, la población infantil presentará fluorosis esquelética en un período de veinte años (Bocanegra, 2006; NIOSH, 1984).

a) La Reforma, Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí.

La localidad de La Reforma está situada en el municipio de Salinas de Hidalgo, al noroeste del estado de San Luis Potosí, en la región denominada Altiplano Potosino. Sus coordenadas geográficas son: longitud 1013854, latitud 22 4527 y altura de 2040 metros sobre el nivel del mar (INEGI, 2013).

La población total de la comunidad es de 855 personas, de las cuales 423 son masculinos y 432 son femeninas. La población de entre 6 y 11 años de edad es de 136 habitantes y de 3 a 5 años de edad es de 67 (CONAPO, 2010).

El grado de marginación en la comunidad es alto. Existen en total 170 hogares y 195 viviendas, de las cuales 32 tienen piso de tierra y 6 constan de una sola habitación. Aproximadamente 53 de las viviendas tienen instalaciones sanitarias y 163 tienen acceso a la luz eléctrica (CONAPO, 2010).

Datos reportados en 2012 indican que esta comunidad posee concentraciones de flúor en el agua de consumo de 4.13 mg/L (COEPRIS, 2012).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la comunidad de la Reforma, el agua de consumo sobrepasa el límite permisible de flúor de 1.5 mg/l, según la Modificación a la NOM-127-SSA1-1994, con una concentración de 4.13 mg/l (COEPRIS, 2012).

La falta de conocimiento en la población, sobre los efectos adversos del flúor en el organismo, trae como consecuencia su uso continuo; no solo para beber sino también para cocinar. Exponiendo de esta manera a la población infantil, la cual constituye la etapa de mayor vulnerabilidad a los efectos del flúor (Gómez et al., 2002; López et al., 2006; Jiménez-Farfán et al., 2001). Sumado a ello, la comunidad de La Reforma presenta un alto grado de marginación (CONAPO, 2010).

JUSTIFICACIÓN

El flúor no solo es causa de fluorosis dental, sino que puede originar otras enfermedades en el organismo de carácter irreversible como fluorosis esquelética, deformaciones en huesos, fracturas de cadera, daños neurológicos y algunas otras patologías (Connet, 2004; Hurtado-Jiménez et al., 2005; Sánchez-García et al., 2004).

Se ha sugerido que la presencia de polimorfismos en el gen COL1A2, está asociada a la fluorosis dental; ya que este gen juega un papel importante en la formación de hueso, la cual es similar a la formación dentaria (Huang et al., 2008; Lau et al., 2004).

OBJETIVOS

a) General

Evaluar la prevalencia de fluorosis dental y la presencia de polimorfismos genéticos en la comunidad de La Reforma, Salinas de Hidalgo afectada por contenido de flúor en el agua de consumo

b) Específicos

-Caracterizar la contaminación por flúor en el agua de consumo de la comunidad de La Reforma, Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí.

-Determinar el nivel de exposición a flúor a través de la orina, en los escolares de la comunidad de La Reforma, Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí.

-Evaluar el efecto a través del diagnóstico de la fluorosis dental.

-Determinar la presencia del polimorfismo rs 412777 en el gen COL1A2 como indicador de susceptibilidad genética.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación fue observacional, de tipo transversal, analítica.

El estudio fue gratuito, anónimo, voluntario y cumplió con todos los requisitos del Comité de Bioética de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP) (Anexo 1); así como con los principios de estudios epidemiológicos de campo y cualitativos para investigaciones de salud de la OPS (Organización Panamericana de Salud) (Encuestas nacionales de salud bucodental, 1997). El principio del consentimiento informado fundamentado y libre, que implica que los padres o tutores de los niños deberán, de manera individual, comprender las razones de la recopilación de la información y dar su conformidad para ello (Anexo 2). El principio de la confidencialidad que implica que la recopilación de información en la investigación, se basará en la confianza mutua. El principio de beneficencia, que implica que los padres o tutores tendrán derecho a estar informados sobre cualquier afección revelada durante el estudio, así como a estar informados acerca del resultado del estudio y sobre cualquier posible implicación. Cumpliendo con la obligación ética de desempeñar una función de promoción de la causa para mejorar el estado de salud de la comunidad, a partir de los resultados del estudio

Población de estudio

Para llevar a cabo el estudio se seleccionó una muestra de 111 niños pertenecientes a la escuela primaria “Mártires de Tacubaya” de entre 6 y 12 años de edad, los cuales representan el 82% de la población infantil en la comunidad con este rango de edad. Se habló con los participantes, así como con las autoridades correspondientes como presidente municipal, comisariado ejidal, director de la escuela primaria y padres de familia con la finalidad de explicarles los objetivos y la metodología del estudio. Se aplicaron cuestionarios para obtener sus datos personales e información relacionada con la ingesta de agua.

Los criterios de inclusión de la muestra fueron la residencia desde el nacimiento en la zona de estudio, la edad de entre 6 y 12 años, contar con dentición permanente y tener firmado por el tutor el consentimiento informado. Los criterios de exclusión fueron no tener el consentimiento informado y no contar con dentición permanente.

Una vez seleccionados los participantes, se les pidió una muestra del agua de consumo y de la primera orina de la mañana, con el fin de caracterizar la contaminación por flúor y evaluar el nivel de exposición.

Cuantificación de flúor

La recolección de las muestras de agua y orina de cada uno de los participantes se llevó a cabo en recipientes de plástico previamente etiquetados. La cuantificación de los iones fluoruro de las muestras se llevó a cabo utilizando el método potenciométrico con electrodo ion selectivo de acuerdo al método 3808 del NIOSH (NIOSH, 1984). Se construyó una curva de calibración de 0.1 a 10.0 mg/l. Las muestras se mezclaron con buffer de alta fuerza iónica (TISAB por sus siglas en inglés) en una proporción 1:1 para su cuantificación. Finalmente, la concentración de flúor de la muestra se determinó por interpolación del potencial en la curva de calibración. Como control de calidad se utilizó el material de referencia SRM 2671^a "Fluoride in Freeze-Dried Urine" (NIST) con una recuperación del $97 \pm 6\%$. La corrección del efecto de dilución de la orina fue realizada por gravedad específica (Barber et al., 1986).

Estimación del riesgo a la salud

A partir de la concentración de flúor registrada en el agua de consumo de la comunidad, se calculó la dosis de exposición, con la que se obtuvo el factor de riesgo tomando en cuenta la dosis de referencia señalada por la ATSDR para fluorosis dental (ATSDR, 2003). La descripción de la metodología se describe en el Anexo 3.

Evaluación del efecto

Con la finalidad de evaluar el daño a la salud ocasionado por el flúor, se llevó a cabo el diagnóstico de fluorosis dental en la población de estudio, mediante el uso de una historia dental clínica (Anexo 4). El examen clínico se realizó de acuerdo a los requerimientos señalados por la OMS (1997); tomando como referencia un tiempo de 10 minutos para el examen básico de un niño. Se preparó la zona del examen con las medidas de higiene y seguridad requeridas; mediante el uso de instrumentos previamente esterilizados y teniendo fácil acceso a la esterilización de los mismos, utilizando un espejo plano y una sonda periodontal.

El diagnóstico del grado de fluorosis dental se llevó a cabo aplicando el índice de Dean (Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades, 2003; OMS, 1997) (Anexo 5) y el índice TF (Thylstrup, et al 1978) (Anexo 6), que es más sensible con clasificaciones individuales de los órganos dentarios dentro de diez categorías. En este índice, el grado cero nos indica un esmalte sano; los grados uno a cuatro, manchas sobre la superficie del esmalte, las cuales aumentan conforme aumenta el nivel. En los grados cinco al nueve se observa destrucción del esmalte, en donde el grado cinco representa un esmalte moteado con orificios de menos de 2mm de diámetro, los cuales se fusionan en el grado seis formando bandas de menos de 2mm de profundidad. En los grados siete, ocho

y nueve existe una destrucción de la superficie del esmalte de un 25%, 50% y 100% respectivamente.

Para obtener el grado de fluorosis dental a nivel comunidad, se clasificaron los grados TF de acuerdo al índice de Dean. Los grados TF0, TF1, TF2, TF3 y TF4 correspondieron respectivamente a los grados sano, cuestionable, muy leve, leve y moderado del índice de Dean y los grados del TF5 al TF9 fueron clasificados en el grado severo de Dean. Posteriormente, se calculó el índice comunitario de fluorosis dental (ICF) el cual se obtuvo multiplicando el número de niños de cada grado Dean por su respectiva ponderación, sumando los resultados y dividiendo entre el número de niños examinados. Finalmente, con el resultado obtenido se determinó la significancia de salud pública, tomando como referencia un valor de 0.6 (Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades, 2003; OMS, 1997) (Anexo 7).

Cabe mencionar, que previo a la evaluación dental se llevó a cabo la calibración interexaminador e intraexaminador (>0.89 Kappa), con los índices usados.

Determinación de la susceptibilidad genética

La evaluación de la variabilidad genética se llevó a cabo a partir de la extracción del ADN de células epiteliales provenientes de la mucosa bucal de cada uno de los participantes.

Las células epiteliales fueron obtenidas mediante el raspado de la mucosa bucal del carrillo con el uso de cepillos citológicos. Previamente se llevó a cabo una limpieza dental y se les pidió se enjuagaran con colutorio libre de flúor y alcohol, diluido 1:4 con agua de garrafón. Las células se almacenaron a 4°C en 3ml de PBS 1x estéril (Solución Amortiguada de Fosfatos) y fueron procesadas dentro de las 24 horas después de haber sido tomadas.

Con la finalidad de llevar a cabo la extracción del ADN, las células se centrifugaron a 2500 rpm por 10 min y el precipitado fue resuspendido en 200 µl de PBS 1x en un tubo de 1.5 ml. El procedimiento de extracción del ADN se llevó a cabo de acuerdo al protocolo del Kit de extracción de ADN Quiagen. A cada muestra resuspendida se le agregaron 20 µl de proteinasa k y 200 µl de la solución AL mezclando en vórtex con pulsos de 15 seg. Se incubó a 56°C por 10 min. y se añadieron 200 µl de etanol concentrado, se mezcló en vórtex por 15 seg. y se centrifugó a 8000 rpm por 1 min. La mezcla obtenida se vertió en la columna Dneis incluida en el kit previamente colocada en el tubo colector; se cerró la tapa y se centrifugó a 8000 rpm por 1 min. Se vació el contenido del tubo colector y se volvió a colocar en la columna, se adicionaron 500 µl de la solución AW1 y se centrifugó nuevamente la muestra a 8000 rpm por 1 min. Se vació el contenido del tubo colector y éste se volvió a colocar en la columna, se agregaron 500 µl de la solución AW2 y se centrifugó a 14000 rpm por 3 min. Se colocó bajo la columna un tubo colector nuevo y se adicionaron 100 µl de la solución AE, para posteriormente incubar a temperatura ambiente por 1 min. Pasado este

tiempo se centrifugó a 8000 rpm por 1 min. El ADN obtenido se almacenó a -20°C, previa determinación de su pureza y cuantificación.

Los oligos utilizados durante la amplificación del ADN, fueron diseñados basándose en el uso de un marcador genético utilizado en estudios anteriores (Huang et al., 2008), con algunas modificaciones. El marcador genético de referencia fue la RFLP PvuII (en exón 25) la cual es una enzima de restricción que reconoce la secuencia 5'-TGG CCC AGC T GG-3' en donde se tiene reportado el polimorfismo evaluado en el presente trabajo (intercambio de una A por una C) (MalaCards human disease database). Así mismo, se apoyó en el programa In silico PCR amplification (Insilico PCR) para el diseño de los oligos.

El Foward del oligo estuvo constituido por la secuencia 5'AGG TCC TGT CGT AAG TAT TGC TC-3' y el Reverse por la secuencia 5'AAG TGG CCT GCA GTT TTC CT-3' para producir un fragmento de ADN de 705 Pb.

La amplificación del ADN se llevó a cabo mediante la técnica de PCR punto final. Para la preparación de la reacción se adicionaron 12.5 µl de Super Mix gotaq Green (no incluido en el kit), 0.5 µl de cada oligo (Fw y Rw), 1.0 µl de ADN (a una concentración de 10 mg/ µl) y 10.5 µl de solución inyectable para una solución final de 25 µl.

La amplificación del ADN fue visualizada en geles de agarosa ultrapura al 1% teñido con bromuro de etidio (sustancia que se intercala entre las bases de ADN y es fluorescente

cuando se ilumina con luz ultravioleta) (Stryer et al., 2003; Nelson et al., 2001), sumergido en TAE1x (solución conductora tampón) dentro de una cámara de electroforesis. Se colocaron 10 µl de cada producto de PCR sobre los pozos del gel, así como los marcadores de peso molecular de 100 y 50 pb para identificar la ubicación de cada señal de producto de PCR. Se corrió la electroforesis a 120 volts por aproximadamente una hora y la señal de cada producto de PCR fue visualizada mediante la colocación del gel en un fotodocumentador.

Para preparar la reacción de digestión se tomaron aproximadamente 2 µl de producto de PCR con 1 µl de enzima PvuII, 5 µl de buffer y 42 µl de solución inyectable de acuerdo al protocolo incluido en el kit de la enzima de restricción. La reacción se incubó a 37°C durante 30 min. Para correr la electroforesis del producto de digestión se prepararon geles de agarosa Metaphore al 2%, ya que este tipo de agarosa proporciona poros adecuados tanto para fragmentos pequeños de ADN como para grandes a diferencia de la agarosa ultrapura. Los productos de digestión fueron colocados en los pozos del gel sumergido en TAE1x dentro de la cámara de electroforesis y después de correr la electroforesis a 120 volts por una hora, el gel se colocó en el fotodocumentador en donde se pudo visualizar el sitio de corte específico (fragmentos de 510 y 195 pares de bases).

Con la finalidad de confirmar los datos obtenidos de la digestión se mandaron secuenciar las muestras de ADN al Laboratorio Nacional de Biotecnología Agrícola Médica y Ambiental

(LANBAMA), del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT) en San Luis Potosí, S.L.P., para determinar el orden de los nucleótidos.

Análisis estadístico de datos

Una vez obtenidos los datos de la cuantificación de flúor en las muestras de agua y orina, la evaluación dental clínica y la determinación de la susceptibilidad, éstos fueron vaciados en una base de datos en EXCEL que posteriormente fue analizada en el paquete estadístico SPSS versión 21. Las variables fueron evaluadas en forma univariada para obtener porcentajes y distribuciones. Se analizaron medias, desviaciones estándar e intervalos de confianza. Se realizó la distribución de frecuencia por grupos de edad y se efectuó el análisis de varianza entre el índice de fluorosis dental TF y los grupos de edad. En el caso de la susceptibilidad genética a partir de la genotipificación de los participantes se realizó una tabla de contingencia de 2x2 y la χ^2 de bondad de ajuste.

Para establecer las correlaciones entre las variables se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson.

RESULTADOS

La concentración de flúor registrada en el agua de consumo de la población evaluada se encontró por arriba de los límites permitidos (1.5 mg/l) según la Modificación a la NOM-127-SSA1-1994, con una media de 4.54 mg/l \pm 0.46. Incluso, de acuerdo a la guía de evaluación de medios ambientales (EMEG) calculada en el presente estudio, la norma mexicana no protege a la población de los efectos adversos del flúor, ya que la EMEG calculada refiere una concentración de flúor en agua alrededor de 0.97 mg/l, con el fin de evitar algún efecto adverso del flúor. La dosis de exposición calculada fue de 0.23 mg/Kg/día, con un factor de riesgo a la salud de 4.6 veces partiendo de la RfD sugerida por la ATSDR (2003) para fluorosis dental (Anexo 8).

El nivel de concentración de flúor registrado en orina reveló un nivel de exposición importante, ya que se encontró por encima del valor sugerido por la OMS de 1mg/l, con una media de 3.14 \pm 1.09 mg/l (Figura1), siendo el nivel mínimo de exposición a flúor 1.1 mg/l el cual se presentó únicamente en dos niños de 6 y 7 años de edad y el nivel máximo de exposición de 5.9 mg/l, que se presentó también en dos niños pero con edades de 9 y 11 años.

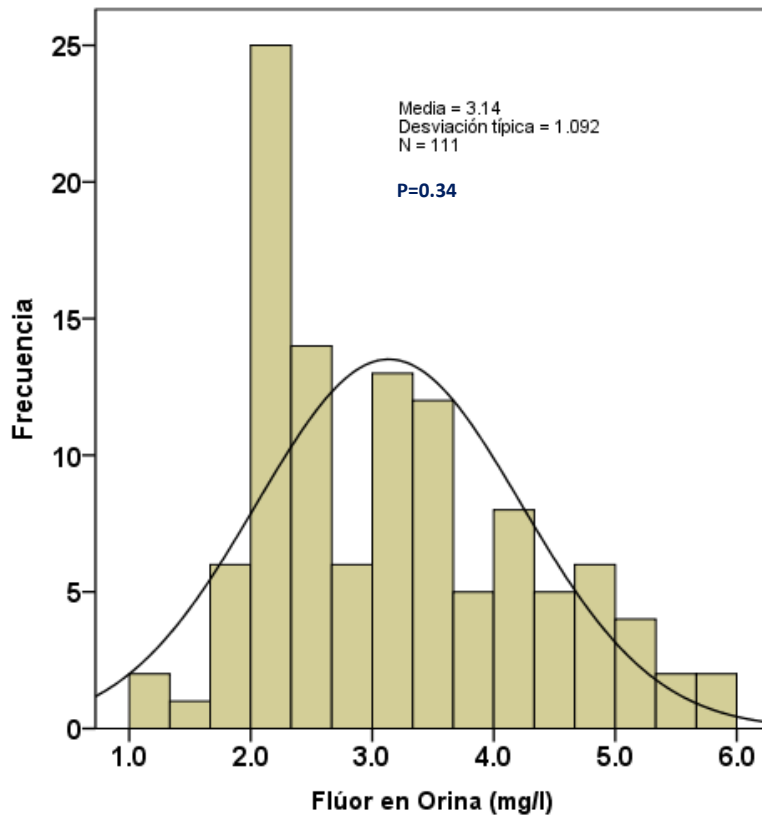


Figura 1.- Distribución general de la concentración de flúor en orina en la población de estudio.

Para fines estadísticos se llevaron a cabo varias categorías. La muestra fue categorizada en tres grupos de acuerdo a la edad: el grupo 1 formado por 35 niños de 6 y 7 años de edad, el grupo 2 formado por 37 niños de 8 a 10 años y el grupo 3 formado por 39 niños de 11 y 12 años. La concentración de fluoruro en orina fue clasificada en cuatro niveles: de 1 a 2 mg/l, de 2.01 a 3 mg/l, de 3.01 a 4 mg/l y de >de 4 mg/l. La severidad de la fluorosis dental fue categorizada en tres grupos: niños con TF4 y TF5, niños con TF6 y TF7 y niños con TF8 y TF9.

En relación al nivel de exposición de acuerdo a la edad, se puede observar en el grupo de 6 y 7 años predominio de los niveles de exposición a flúor de 2.01-3 mg/l y bajo predominio (8.6%) de los niveles de exposición más altos (>4 mg/l). En los grupos de edad de 8 a 10 años y de 11 y 12 años el porcentaje de niños con los niveles de exposición más altos tuvo una tendencia a aumentar, mientras que el porcentaje de niños con las exposiciones más bajas tuvo una tendencia a disminuir, indicando que a mayor edad, mayor exposición a flúor (Figura 2).

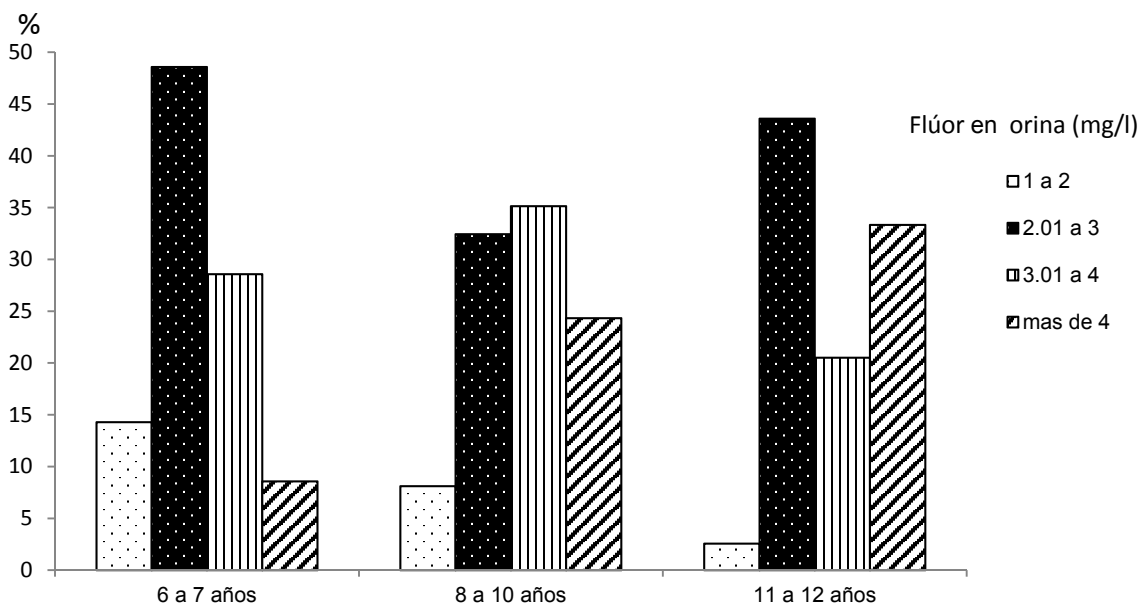


Figura 2. Concentración de flúor en orina en niños de la zona de estudio por grupo de edad en porcentaje.

De hecho, en el cuadro 2 se puede observar que la media del nivel de exposición a flúor en los niños de 11 y 12 años aumento con respecto a la media de los niños de 6 y 7 años existiendo una diferencia estadísticamente significativa entre ambos ($p=0.002$) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Flúor en orina en los diferentes grupos de edad.

Edad	Número de niños	Flúor orina (mg/l)
6 y 7 años	35	2.72 ± 0.79
8 a10 años	37	3.21 ± 1.03
11 y 12 años	39	3.43 ± 1.28
Total	111	3.14 ± 1.09

p=0.002

En cuanto a la prevalencia de fluorosis dental, ésta se presentó en el 100% de la población evaluada, de los cuales el 95% presentó un nivel severo en base al índice de Dean (Figura 3).

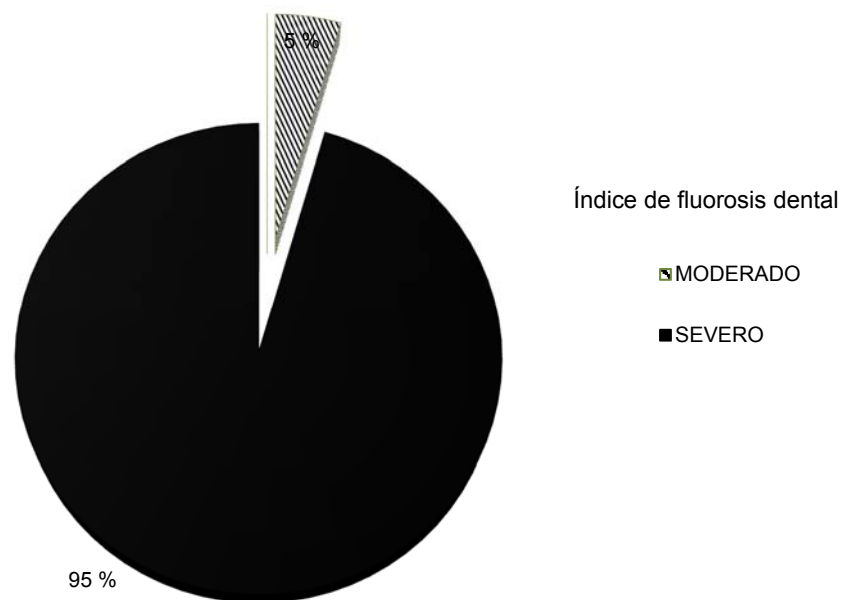


Figura 3. Distribución de la fluorosis dental en porcentaje, de acuerdo al índice de Dean en la zona de estudio

El índice comunitario de fluorosis dental en la comunidad evaluada fue de 3.9, el cual estuvo 6.5 veces por encima del valor de referencia (0.6), por lo que la fluorosis dental en la presente comunidad es un problema de salud pública grave (Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades, 2003).

De acuerdo al índice TF los niños que presentaron el menor daño al esmalte TF4 y TF5, constituyeron el 30% de la población estudiada y los niños que presentaron una severidad mayor constituyeron el 70%, de los cuales el grupo con TF6 y TF7 representaron el 45% y el grupo TF8 y TF9 el 25% (Figura 4).

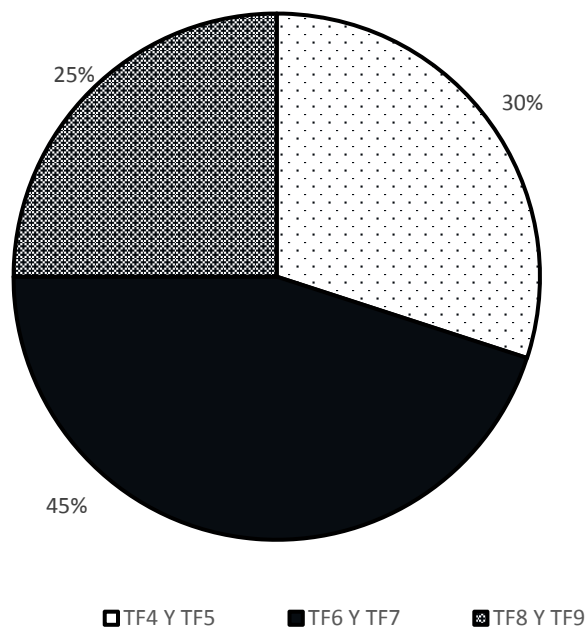


Figura 4. Distribución de la fluorosis dental en porcentaje, de acuerdo al índice TF en la zona de estudio

Con respecto a la edad, en el grupo de 6 y 7 años los índices TF4 y TF5 prevalecieron en un 61%, los grados TF6 y TF7, TF8 y TF9 predominaron en los niños de 8 a 10 años en un 77%, mientras que los niveles de mayor severidad TF8 y TF9 se observaron a la edad de 11 y 12 años en un 50%, existiendo diferencias significativas entre los grupos de edad y la severidad de la fluorosis dental $p < 0.000$ (Figura 5). Este resultado de alguna manera está relacionado con el nivel de exposición, pues los niños que presentaron mayores niveles de flúor en orina están entre los 11 y 12 años.

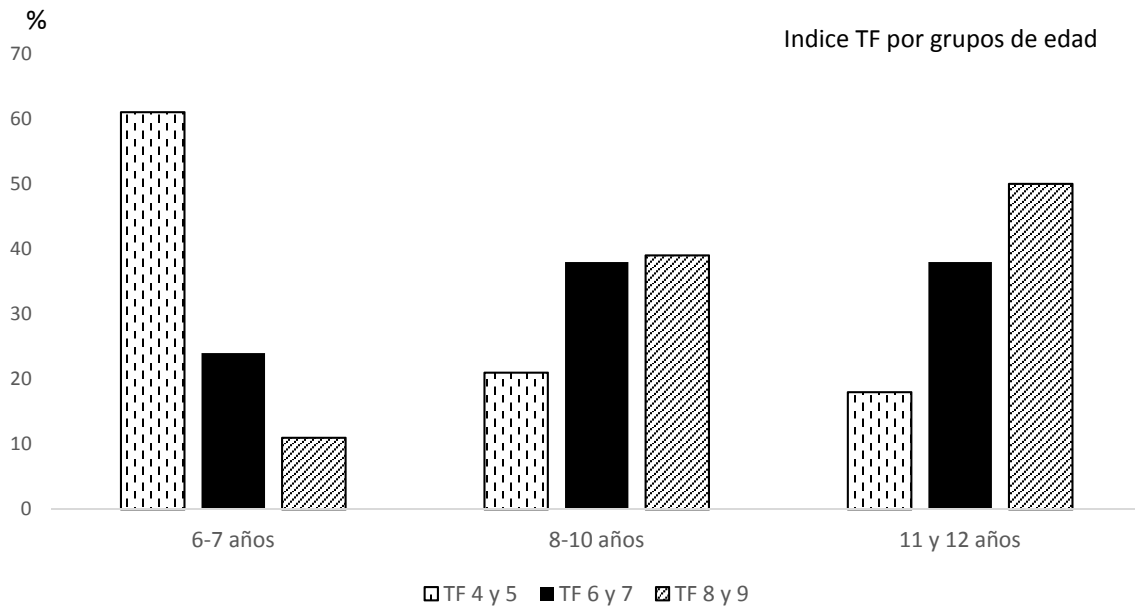


Figura 5. Distribución de la fluorosis dental según el índice TF por grupos de edad en porcentaje.

En relación a la correlación entre la severidad de la fluorosis dental y el nivel de exposición, se pudo observar que la media del nivel de exposición a flúor de cada grupo de fluorosis dental fue de 2.66 ± 0.89 (IC 95% 2.35-2.98) en los 33 niños con TF4 y TF5, de 3.11 ± 1.06 (IC 95% 2.81-3.41) en los 50 niños con TF6 y TF7 y de 3.75 ± 1.10 (IC95% 3.32-4.18) en los 28 niños con TF8 y TF9, existiendo una correlación significativa entre la severidad de la fluorosis y el nivel de exposición a flúor $r= 0.993$ $p<0.01$ (Figura 6).

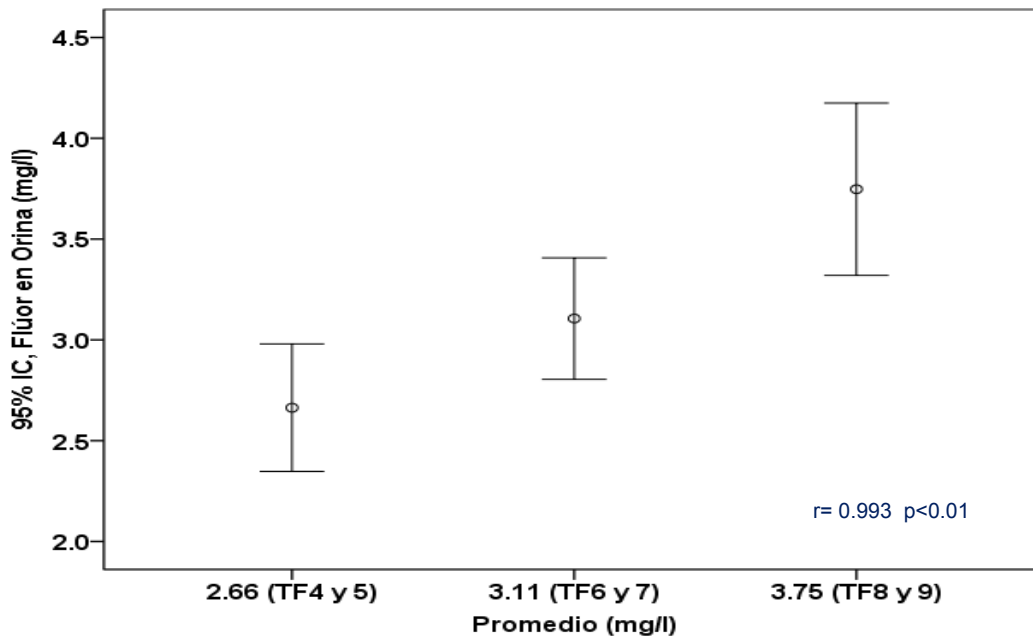


Figura 6.- Niveles de concentración de flúor en orina y su relación con los rangos de fluorosis dental

En cuanto al polimorfismo evaluado rs412777 en el gen COL1A2, la prevalencia en la población fue del 47.5%, de los cuales el 94.7% fueron heterocigotos para el polimorfismo (AC) y el 5.3% fueron homocigotos (CC).

La frecuencia de los alelos en la población fue del 75% para el alelo silvestre (A) y del 25% para el alelo mutante (C) y de acuerdo a la ley de Hardy-Weinberg, las frecuencias genotípicas estuvieron en equilibrio ($p=0.79$).

En la determinación de la susceptibilidad genética participaron únicamente 80 niños, los cuales fueron divididos en dos grupos: el grupo 1 constituido por 38 niños los cuales presentaron el polimorfismo y el grupo 2 conformado por 42 niños los cuales no presentaron el polimorfismo.

Dentro del análisis de correlación entre la severidad de la fluorosis dental y el nivel de exposición a flúor, se pudo observar que en el grupo de niños que presentaron el polimorfismo esta correlación fue más alta ($r=0.96$) en comparación con el grupo de niños que no lo presentaron ($r=0.85$), existiendo una diferencia estadísticamente significativa entre ambos (Figura 7).

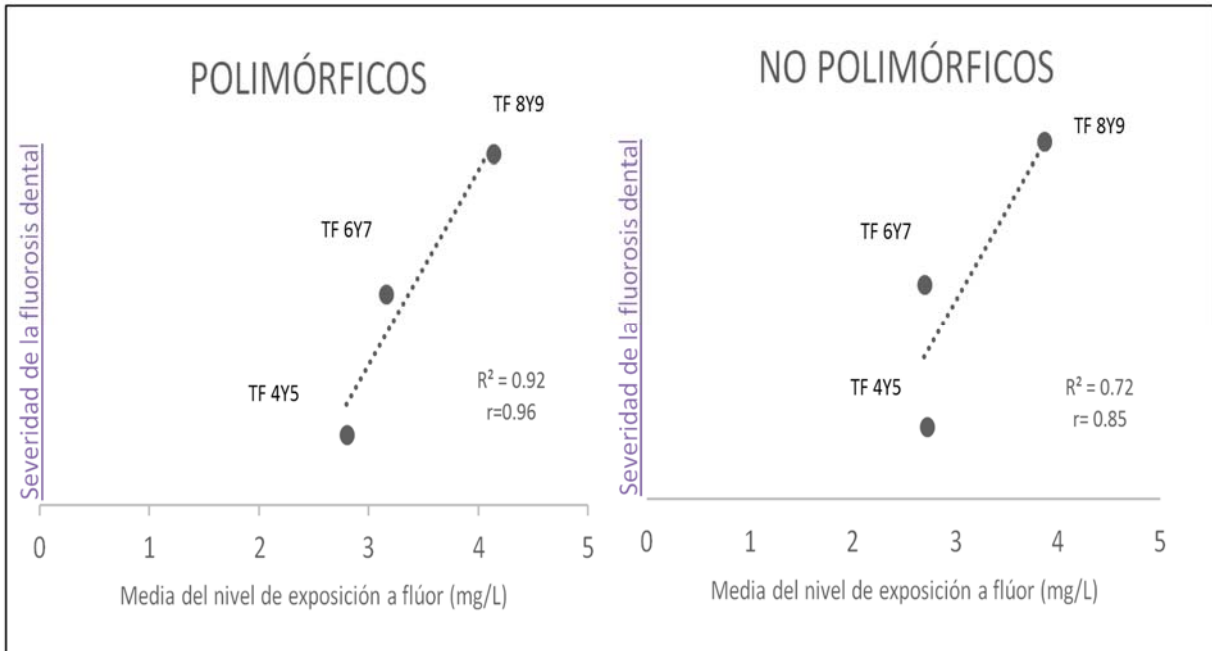


Figura 7. Correlación entre el nivel de exposición a flúor y la severidad de la fluorosis dental en los grupos de niños polimórficos y no polimórficos.

Esto se puede ver reflejado en el análisis expuesto en el cuadro 3, en donde se llevó a cabo una comparación entre los niños que presentaron el polimorfismo y los que no presentaron a través del análisis de una tabla de contingencia de 2x2. En este análisis se agrupó el nivel de exposición en dos categorías partiendo de la media de exposición registrada en la población: el grupo de niños con las exposiciones por arriba de 3mg/L y el grupo de niños con niveles de exposición por debajo de 3mg/L. De la misma forma se agruparon los niveles de fluorosis dental en dos categorías: el grupo de niños registrados con los grados de menor severidad del esmalte (TF4 y TF5) y el grupo de niños que

presentó una afección mayor (TF6, TF7, TF8 y TF9). Dentro del análisis se puede observar que el grupo de niños que presentaron el polimorfismo, tuvieron un riesgo más alto (OR= 2.24, 95% CI: 0.55-9.02) de presentar los grados de mayor severidad de fluorosis dental ante las exposiciones más altas, en comparación con los niños que no presentaron el polimorfismo (OR= 1.65, 95% CI: 0.44-6.17). Ambos con un valor de $p > 0.05$.

Cuadro 3. Asociación entre la severidad de la fluorosis dental y el nivel de exposición en los grupos de niños polimórficos y no polimórficos

FLUOROSIS EXPOSICIÓN A F	POLIMORFICOS n=38				NO POLIMÓRFICOS n=42			
	Mayor severidad TF6, 7, 8, 9	Menor severidad TF4,5	TOTAL (n)	OR (95%IC)	Mayor severidad TF6, 7, 8, 9	Menor severidad TF4,5	TOTAL (n)	OR (95%IC)
>3mg/l	16	5	21	2.24 (0.55- 9.02)	17	6	23	1.65 (0.44- 6.17)
<3mg/l	10	7	17		12	7	19	
TOTAL (n)	26	12	38		29	13	42	

DISCUSIÓN

Dentro de la presente comunidad la principal fuente de exposición a flúor fue el agua de grifo. Esto a razón de que el 84% de la población refirió utilizar el agua de tubería para beber y el 100 % para cocinar, lo cual representó un factor de riesgo asociado a la exposición a flúor, tal como lo exponen Loyola et al. (2000) y Beltrán (2012) ya que al preparar los alimentos el agua hierve, incrementándose las concentraciones de flúor en un 60-70% (Loyola et al., 2000; Beltrán, 2012). Únicamente el 16% de la población refirió utilizar de forma esporádica el agua de garrafón para beber, cuya media de concentración de flúor fue de 1.5 mg/l, la cual no fue tomada en cuenta dentro del análisis de resultados, debido a su bajo consumo y a que la purificadora de agua tiene en promedio tres años de abastecer a la comunidad.

La concentración de flúor registrada en el agua de consumo de la población estudiada, se encontró por arriba del límite permitido según la Modificación a la NOM-127-SSA1-1994 de 1.5 mg/l, con una media de 4.54 mg/l \pm 0.46, lo cual indicó el importante riesgo a la salud en el que se encuentra la población expuesta; ya que incluso, de acuerdo a la guía de evaluación de medios ambientales (EMEG) calculada en el presente estudio, ni la norma mexicana protege a la población infantil de los efectos adversos del flúor, ya que ésta se encuentra por arriba de la EMEG, la cual refiere una concentración de flúor en el agua alrededor de 0.97 mg/l para evitar daños a la salud. Por lo que ni la purificadora presente

en la comunidad en estudio, posee concentraciones adecuadas de flúor en el agua de consumo (1.5 mg/l).

Sumado a ello, existen estudios en la literatura que reportan alteraciones en el coeficiente intelectual en poblaciones expuestas a concentraciones de flúor en agua >3 mg/l (Lu et al., 2000; Rocha-Amador et al., 2007). Qin-qing et al. realizaron un meta-análisis sobre el impacto del flúor en la inteligencia de los niños, registrando que los niños que viven en áreas con hiperfluorosis tienen cinco veces más posibilidad de tener un coeficiente intelectual bajo que aquellos que viven en lugares sin dicho problema (Qin-qing et al., 2008). Por lo que probablemente la población evaluada presente problemas neurológicos.

Asimismo, Hurtado-Jiménez et al. (2005) muestran como la población que consume agua potable con concentración de flúor mayor a 4.0 mg/l, está expuesta a enfermedades fluoróticas severas como fluorosis esquelética, fracturas óseas, trastornos gastrointestinales y alteraciones renales (Hurtado-Jiménez et al., 2005). Alarcón-Herrera et al. (2001) en el Valle del Guadiana, Durango reportan que la prevalencia de fracturas óseas, en personas de entre 13 y 60 años de edad que consumieron durante nueve años agua con concentraciones de flúor de entre 1.5 y 8.5 mg/l, es del 30% (Alarcón-Herrera et al., 2001). Inclusive, McDonagh et al. (2000) reportan que un consumo prolongado de flúor a través del agua mayor a 1.0 mg/l, es capaz de provocar etapas preclínicas de fluorosis esquelética (McDonagh et al., 2000). Por lo que la población del presente estudio, muy probablemente también manifieste algún tipo de enfermedades óseas.

La dosis de exposición calculada, a partir de la concentración de flúor registrada en el agua de consumo, tomando en cuenta la media del peso corporal de los niños evaluados, su tasa de ingesta y un factor de exposición a flúor de 0.97, fue de 0.23 mg/Kg/día lo cual representó un factor de riesgo de 4.6 veces, por lo que la presencia de un efecto adverso en la población era de esperarse, en este caso fluorosis dental.

Debido a que existe una relación proporcional entre la cantidad ingerida de flúor y su nivel en orina, dichas mediciones constituyeron un marcador de hiperfluorosis en el presente estudio (Puche et al, 2007). Cuyo valor (3.14 mg/l) reveló un nivel de exposición importante, el cual fue mayor en los niños de mayor edad; existiendo diferencias significativas entre las medias del nivel de exposición del grupo de niños de 6 y 7 años y el grupo de niños de 11 y 12 años. Esto probablemente sea debido a que los niños de mayor edad han estado más tiempo expuestos al flúor, sumado al probable consumo mayor de agua.

Como parte de la evaluación de riesgo, sumado a los altos niveles de exposición registrados en la población estudiada, con una media de concentración de flúor de 3.14 veces por encima del valor sugerido por la OMS (1 mg/l); dentro del presente estudio, se evaluó la presencia de fluorosis dental como efecto adverso en la población.

El diagnóstico de la fluorosis dental se llevó a cabo mediante el uso del índice de Dean y el índice TF. Este último se utilizó debido a que proporciona una categorización adicional del grado severo del índice de Dean (Thylstrup et al., 1978); ya que en la presente población, de acuerdo a la evaluación de riesgo y al nivel de exposición registrados, era de esperarse

que existirían casos de fluorosis dental severa, por lo que era necesario un índice que distinguiera los grados de severidad. De hecho, dentro de la revisión de Akpata (2014), este índice es el más adecuado para su uso en el tratamiento clínico de la fluorosis dental, ya que detecta con mejor precisión el grado de severidad (Akpata, 2014).

La población evaluada tuvo una prevalencia de fluorosis dental del 100%, de la cual el 95% fue en grado severo de acuerdo a Dean. Esta prevalencia fue mayor que la registrada en 2013 dentro de una localidad del estado de San Luis Potosí, en la cual la prevalencia de fluorosis dental fue del 50%, probablemente sea debido a que la concentración de flúor en el agua evaluada era menor, en un rango de 1.4-3.0 mg/l (Betancourt-Lineares et al., 2013).

La significancia de salud pública en la población estudiada, fue grave con un ICF de 3.9, cuyo valor estuvo 6.5 veces por encima del valor de referencia (0.6), por lo que la fluorosis dental en la presente comunidad es un problema de salud pública que merece ser atendido.

De acuerdo al índice TF, los grados de mayor severidad de fluorosis dental TF8 y TF9 fueron registrados en los niños de 11 y 12 años en un mayor porcentaje, seguramente se debió a que los niveles de exposición a flúor más altos fueron registrados en estos niños, probablemente debido a que han estado más tiempo expuestos al flúor. Además, los niños de mayor edad cuentan con una cantidad mayor de órganos dentarios, por lo que en estos niños, podría ser mayor el número de dientes involucrados.

La presencia de los niveles más severos de fluorosis dental TF8 y TF9 involucra un grave problema de salud en la población de estudio, ya que probablemente ocasionara que estos niños padezcan problemas intestinales, debido a que la función masticatoria está alterada; desnutrición, ya que no les es posible consumir ciertos alimentos por su dureza y problemas psicológicos y de autoestima, originados por el daño estético que se genera. Incluso, posiblemente estos niños padezcan enfermedades óseas, de acuerdo al estudio de Alarcón-Herrera et al. (2001) en donde reportaron una correlación lineal entre la frecuencia de fracturas óseas, tanto en niños como en adultos y la severidad de la fluorosis dental (Alarcón-Herrera et al., 2001).

Los órganos dentarios de los niños evaluados se encuentran frágiles y sensibles a la ruptura y los tratamientos protésicos que detienen la destrucción dentaria son costosos, así que muchas veces no pueden pagarlos, lo que lleva a la pérdida de la dentadura, así que estos niños carecerán de órganos dentarios en la época de mayor crecimiento y desarrollo, en donde es indispensable la correcta masticación de los alimentos para su aprovechamiento. Además, la edad infantil es la etapa del aprendizaje de la pronunciación de los fonemas, para lo cual los dientes son indispensables. Así mismo, durante esta etapa los órganos dentarios favorecen el crecimiento y desarrollo de las estructuras craneofaciales óseas y musculares del ser humano por lo que la pérdida de la dentadura constituye un problema serio (Gallego-Rodríguez, 2008).

Diferentes autores han encontrado que el impacto en la calidad de vida de los niños tiene relación con el grado de afección de la enfermedad. Crosanto et al. (2005), Biazevic et al. (2008), concluyen que individuos con bajo grado de fluorosis TF1 y TF2 no vieron modificada su calidad de vida según los resultados de sus investigaciones; sin embargo altos grados de fluorosis si impactaron el nivel de calidad de vida (Crosanto et al., 2005; Biazevic et al., 2008). En el caso del presente estudio, la menor afección registrada fue el TF4 que correspondió al 30% de la población estudiada y el resto presentó los grados más severos (70%). Por lo tanto, un importante porcentaje de niños evaluados, podría ver afectada su calidad de vida.

Sumado a ello, Costa et al. (2013) dentro de su estudio, concluyen que a mayor severidad de fluorosis dental se incrementa la susceptibilidad a desarrollar caries dental, por lo que la población del presente estudio se encuentra propensa a la caries dental (Costa et al., 2013).

A diferencia de los estudios de Núñez-Mendieta (2011) y de Raghavan et al. (2014) en una zona rural, en donde correlacionaron la frecuencia y la severidad de la fluorosis dental con la concentración de flúor en el agua de consumo (2.8-8.0 mg/l), registrando una asociación nula (Núñez-Mendieta, 2011; Raghavan et al., 2014). En el presente estudio no se estableció este nivel de correlación, ya que las concentraciones de flúor registradas en el agua, fueron similares entre la población de estudio, debido que provenían de la misma fuente. Se tomó en cuenta el nivel de exposición a flúor evaluado en orina, cuya correlación con la severidad de la fluorosis dental en la presente población fue de 0.993; ya que los

niveles de severidad de la fluorosis dental aumentaron conforme aumentaron los niveles de exposición a flúor.

El factor confundente del estado nutricional (evaluado por personal capacitado) no se tomó en cuenta dentro del análisis de resultados del presente estudio, ya que únicamente el 8% de la población presentó desnutrición leve. Sin embargo, pese a la correlación existente entre el nivel de exposición y la severidad de la fluorosis, dentro del presente estudio se evaluó un factor de riesgo, que probablemente podría estar asociado al desarrollo de la fluorosis dental en poblaciones expuestas a flúor, el cual es exacerbado por la susceptibilidad genética.

La presencia del polimorfismo rs412777 en el gen COL1A2 de la población de estudio, podría de alguna manera influir en la severidad de la fluorosis dental, de acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio; ya que el grupo de niños que presentaron el polimorfismo tuvo un riesgo ligeramente más alto de presentar los grados de mayor severidad de fluorosis dental (OR= 2.24, 95% CI: 0.55-9.02) ante las exposiciones más elevadas de flúor (>3mg/l), en comparación con la población que no presentó el polimorfismo (OR= 1.65, 95% CI: 0.44-6.17). Sin embargo, esta diferencia no fue tan evidente, probablemente porque el nivel de exposición a flúor fue muy alto en ambos grupos y era de esperarse un riesgo alto de presentar fluorosis dental severa en todos los casos. Por lo que valdría la pena realizar el estudio en poblaciones portadoras del polimorfismo

evaluado, con niveles de exposición a flúor menores, con el fin de corroborar esta asociación.

De acuerdo a la literatura, las mutaciones silenciosas alteran un nucleótido formando un mismo aminoácido, pudiendo afectar a varios procesos de la síntesis de proteínas en las células (Chamary et al, 2009). El polimorfismo registrado consistió en el intercambio de una A (adenina) por una C (citosina), cuya consecuencia funcional originó un codón sinónimo (mutación silenciosa) por sustitución de una prolina por otra. Por lo que probablemente la presencia de este polimorfismo en la población evaluada, esté provocando una alteración en la síntesis del colágeno, el cual es necesario para la formación de la matriz proteica del órgano dentario, lo cual podría predisponer genéticamente a la población portadora del polimorfismo, para desarrollar fluorosis dental.

Huang et al. (2008) asociaron un polimorfismo en el gen COL1A2 con la fluorosis dental en niños de China, encontrando que los niños que fueron homocigotos para el polimorfismo tuvieron un riesgo mayor a desarrollar fluorosis dental en comparación con los heterocigotos y con los que no lo tuvieron. En el presente estudio, no hubo diferencia clínica de severidad de fluorosis dental entre los homocigotos y los heterocigotos para el polimorfismo; ya que ambos presentaron un riesgo ligeramente más alto de presentar una severidad mayor de fluorosis dental, en relación a los no polimórficos.

Existen reportes de la presencia de diferentes polimorfismos en el gen COL1A2 en población asiática y americana (Constantinou et al., 1990; Huang et al., 2008). Sin embargo, el polimorfismo rs 412777 encontrado en el presente estudio, no ha sido reportado en población mexicana. Por lo que la presencia de éste polimorfismo es sin duda un hallazgo importante. No obstante, la muestra fue pequeña (80 niños) a diferencia de los otros estudios (Constantinou et al., 1990; Huang et al., 2008). Por consiguiente, es importante ampliar el tamaño de muestra, realizar el estudio en otras comunidades que se encuentren bajo las mismas condiciones, para conocer la prevalencia de esta y otras posibles variabilidades genéticas en población mexicana, ya que aproximadamente 6 millones de personas viven en zonas con acuíferos contaminados por flúor y es altamente preocupante que el 35% de esas personas son niños (Díaz-Barriga et al., 2000; Smedley, 2002).

CONCLUSIONES

La concentración de flúor en el agua de consumo de la comunidad evaluada se encontró por encima del valor permitido por la norma mexicana. Esto se vio reflejado en los altos niveles de exposición a flúor registrados en la población, lo cual concordó junto con la evaluación de riesgo realizada, con la prevalencia de fluorosis dental en el 100% de los niños examinados de los cuales el 95% presentó el grado severo. Por lo que la fluorosis dental en la comunidad de La Reforma, representa un grave problema de salud pública.

La correlación entre la severidad de la fluorosis dental y el nivel de exposición a flúor fue significativa. Sin embargo, la presencia del polimorfismo rs412777 en el gen COL1A2 en el 47.5% de los niños evaluados, sugiere un nuevo biomarcador para el riesgo de desarrollar fluorosis dental en poblaciones expuestas a flúor.

RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio es importante evitar el consumo de agua de grifo de la comunidad de La Reforma, Salinas de Hidalgo ya que ésta posee concentraciones de flúor nocivas para la salud.

En base a los estudios reportados en la literatura, sobre los efectos tóxicos del flúor incluso a concentraciones en agua de 1.0 mg/l (McDonagh et al, 2000), de acuerdo a la EMEG calculada dentro de la presente investigación, la cual indica una concentración de flúor en agua de 0.97 mg/l para evitar efectos adversos, valor cercano al sugerido por Ortiz-Pérez (2011) de 0.7 mgF/l, se recomienda disminuir el límite permitido para flúor en el agua de consumo; ya que el establecido por la norma mexicana no protege a la población infantil de sus efectos tóxicos.

Es necesario proteger a la población vulnerable a los efectos adversos del flúor, entre ellos a los niños y a las mujeres embarazadas. Mayormente cuando la población es portadora del polimorfismo evaluado en la presente investigación; ya que probablemente su presencia podría hacerlos susceptibles a los efectos del flúor. No obstante, es necesario ampliar la muestra para confirmar los resultados de asociación entre la presencia del polimorfismo y los efectos del flúor, llevando este estudio a poblaciones más grandes y bajo las mismas condiciones de riesgo.

La presencia del polimorfismo genético evaluado en el presente estudio implica, además de la fluorosis dental, otros problemas de salud de carácter óseo. Por lo que es importante llevar a cabo una evaluación de la presencia de enfermedades óseas en la población portadora del polimorfismo.

BIBLIOGRAFIA

1. Akpata E S. (2014). Therapeutic management of dental fluorosis: A critical review of literature; S J Oral Sci;1(1).
2. Albertí Vázquez L, Más Sarabia M, Martínez Padilla S, Méndez Martínez M J. (2007). Histogénesis del esmalte dentario. Consideraciones generales. Archivo Médico de Camagüey; 11(3).
3. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. (2002), Molecular biology of the cell. 4a ed, Garland Science, New York.
4. Alvarado Silva L F. (2001). Cuantificación de arsénico y flúor en agua de consumo en localidades de seis Estados de la República Mexicana con hidrofluorosis endémica. Tesis de licenciatura en Q.F.B., UASLP, México
5. ATSDR, (2003). Agency for Toxic Substances and Disease Registry U.S. Toxicological Profile for Fluorides, Hydrogen Fluoride, and Fluorine (F). Department of Health & Human Services, Public Health Service. Atlanta GA.
6. ATSDR, (2005). Agency for Toxic Substances and Disease Registry U.S."Toxicology Course communities". Department of Health & Human Services, Public Health Service. Atlanta GA.
7. Barber T E, Wallis G. (1986). Correction of urinary mercury concentration by specific gravity, osmolality and creatinine. Journal of occupational medicine; 28 (5) 354-359.
8. Barbería E. (2001). Erupción dentaria. Prevención y tratamiento de sus alteraciones. Pediatr Integral; 6(3):229-240.

9. Barbier O, Arreola-Mendoza L, Del Razo L M. (2010). Molecular mechanisms of fluoride toxicity. *Chemico-Biological Interactions*; 188:319–333.
10. Beltrán-Salazar M. (2012). Investigar las consecuencias del efecto acumulativo del flúor, una necesidad imperante de la profesión odontológica. *Revista Colombiana de Investigación en Odontología*;3:(7):55-72.
11. Betancourt-Lineares A, Irigoyen-Camacho M. A., Mejía-González A., Zepeda-Zepeda M, Sanchez-Pérez L. (2013). Prevalencia de fluorosis dental en localidades mexicanas ubicadas en 27 estados y el D.F. a seis años de la publicación de la Norma Oficial Mexicana para la fluoruración de la sal. *Revista de Investigación Clínica*; Vol I. 65, Núm . 3 :237-247
12. Bhaskar S N. (2000). *Histología y embriología bucal de Orban*. Ed. 11º. México: Editorial Prado.
13. Biazevic M G, Rissotto R R, Crosato M E, Mendes L A, Mendes M O. (2008). Relationship between oral health and its impact on quality of life among adolescents. *Braz Oral Res*;;22(1):36-42.
14. Bocanegra-Salazar M. (2006). Evaluación de riesgo en salud por la exposición a fluoruro y arsénico en agua de pozo para consumo de las Zonas Altiplano, Centro y Media del Estado de San Luis Potosí. Tesis de Maestría en Ciencias Ambientales, UASLP, México.

15. Bonilla-Petriciolet A, Trejo-Vázquez R, Márquez-Algara C. (2002). Análisis del riesgo para la salud pública ocasionado por la exposición a fluoruros en el Estado de Aguascalientes, México. *Rev. Int. Contam. Ambient.*;18:(4):171-177.
16. Bordoni N. (2010). *Odontología Pediátrica 1ra ed.*, Ed. Panamericana. Buenos Aires.
17. Carrillo-Rivera J, Cardona A, Edmunds W. (2002). Use of abstraction regime and knowledge of hydrogeological conditions to control high-fluoride concentration in abstracted groundwater: San Luis Potosi basin, Mexico, *J. Hydrology*; 261:24-47.
18. Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades. (2003). *Manual para el uso de fluoruros dentales en la República Mexicana*. Publicada en el diario oficial de la federación el 23 de julio de 2003.
19. Chamary, J V, Hurst-Laurence D. (2009). ¿Qué es un gen?. *Investigación y Ciencia*. Ed. española de Scientific American. No. 395.
20. Checa Caratachea M A. (2007). Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex*;20:(3): 213-221.
21. Choi A, Sun G, Zhang Y, Grandjean P. (2012). Developmental Fluoride Neurotoxicity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Environ Health Perspect*; 120(10): 1362–1368.
22. COEPRIS Comisión Estatal para la protección contra Riesgos Sanitarios, San Luis Potosí, S.L.P., México. (2012).
23. CONAGUA Comisión Nacional del Agua (2010). *Estadísticas del agua en México*, ed. 2010; 19-74.

24. CONAPO Consejo Nacional de Población. (2010). Índice de marginación por localidad. San Luis Potosí. Revisado el 12 de marzo del 2014.
25. Connet P. (2004). 50 Razones para Oponerse a la Fluoración. *Journal Medical Veritas*;1:70–80
26. Constantinou C D, Spotila L D, Zhuang J, Sereda L, Hanning C, Prockop D J. (1990). PvuII polymorphism at the COL1A2 locus. *Nucleic acids research* (Impact Factor: 8.28).18(18):5577. Source: PubMed.
27. Costa S de M, Abreu M H, Vargas A M, Vasconcelos M, Ferreira E, Castilho L S. (2013). Dental caries and endemic dental fluorosis in rural communities, Minas Gerais, Brazil; *Rev Bras Epidemiol*; 16(4): 1021-8.
28. Crosato M E, Biazevic M G, Crosato E. (2005). Relationship between dental fluorosis and quality of life: a population based study. *Braz Oral Res*;19(2):150-5.
29. Dawson D V, Levy S M, Warren J J, Broffitt B, Hong L, Kanellis M, and Willing M C. (2006). Candidate gene analysis of fluorosis phenotypes in the permanent dentition. Abstract No. 2442; IADR Meeting, Brisbane.
30. Dawson D V, Xiao X, Levy S M, Santiago-Parton S, Warren J J, Broffitt B, Kanellis M, Willing MC. (2009). Candidate gene associations with fluorosis in the early permanent dentition. Abstract No. 0009; IADR Meeting, Toronto.
31. Dhar V, Bhatnagar M. (2009). Physiology and toxicity of fluoride. *Indian J Dent Res*;20:350-355.

32. Díaz-Barriga F, Organización Panamericana de la salud. (1999). Metodología de identificación y evaluación de riesgos para la salud en sitios contaminados, Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente, Lima.
33. EFSA European food safety authority. (2005). Opinion of the scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the commission related to the tolerable upper Intake level of fluoride. The EFSA Journal;192:1-65.
34. EFSA European Food Safety Authority. (2008).Sodium monofluorophosphate as a source of fluoride added for nutritional purposes to food supplements. The EFSA Journal;886:1-18.
35. Encuestas nacionales de salud bucodental: Métodos básicos. (1997). Organización Mundial de la Salud,Ginebra. 4ta ed. ISBN92 4 354493 4.
36. Espinosa F R, Valencia H R, Ceja A I. (2012). Fluorosis dental, etiología, diagnóstico y tratamiento, Madrid: Ripano; 2012.
37. Everett E T, McHenry M A, Reynolds N, Eggertsson H, Sullivan J, Kantmann C, Martinez-Mier E A, Warrick J M, Stookey G K. (2002). Dental fluorosis: variability among different inbred mouse strains. J Dent Res 81:794–798
38. Fejerskov O, Manji F, Baelum V. (1990). The nature and mechanisms of dental fluorosis in man. J Dent Res 69(Spec Iss): 692-700.

39. Fluoride Action Network Sources of Fluoride. Disponible en: <http://www.fluoridealert.org/fluoride-dangers/sources-of-fluoride.aspx#top>. Visto el 24 de mayo 2013.
40. Fomon S J, Ekstrand J, Ziegler E E. (2000). Fluoride intake and prevalence of dental fluorosis: trends in fluoride intake with special attention to infants. *J Public Health Dent* 60;3:131-9.
41. Franco Vera L. (2003). Doble Hélice, Genes y Cromosomas. *Rev. Real Academia de Ciencias Exactas Físicas y Naturales*;97:2:203-222.
42. Gallego-Rodríguez C R. (2008). Los dientes cuentan la historia. *Cuba arqueológica*; 1;25-31.
43. Gómez G, Gómez D, Martín M. Flúor y fluorosis dental. (2002). Pautas para el consumo de dentífricos y aguas de bebida en Canaria; ed. 1ª: Santa Cruz de Tenerife. Edita: Dirección General de Salud Pública. Servicio Canario de la Salud.
44. González-Lamuño D, García Fuentes M. (2008). Enfermedades de base genética. *An. Sist. Sanit. Navar.* 2008; 31 (Supl. 2): 105-126
45. Gracia Bouthelier R, González Casado I. (2002). Tratamiento de la osteogénesis imperfecta. *An Esp Pediatr*;56 (Supl 4):72-75.
46. Gutiérrez-Trujillo G, Flores-Huerta S, Fernández-Gárate I H, Martínez-Montañez O G, Velasco-Murillo V, Fernández-Cantón S, Muñoz-Hernández O. (2006). Estrategia de prestación y evaluación de servicios preventivos. *Revista Médica Instituto Mexicano Seguro Social*; 44 (Supl 1): S3-S21. (Suplemento Programas Integrados de Salud).

47. Hidalgo-Gato I, Duque de Estrada-Riverón J, Mayor-Hernández F, Zamora-Díaz JD. (2007). Fluorosis dental: no solo un problema estético. Revista Cubana de Estomatología. 44 (4).
48. http://www.colpos.mx/wb_pdf/ProteccionCivil/Mapa%20de%20riesgos%20municipio%20Salinas.pdf
49. Huang H, Ba Y, Cui L, Cheng X, Zhu J, Zhang Y, Yan P, Zhu C, Kilfoy B, Zhang Y. (2008). COL1A2 gene polymorphisms (Pvu II and Rsa I), serum calciotropic hormone levels, a dental fluorosis. Community Dent Oral Epidemiol;36(6):517-22
50. Hurtado-Jiménez R, Gardea-Torresdey J. (2005). Estimación de la exposición a fluoruros en Los Altos de Jalisco, México. Salud Pública de México;47:58-63.
51. INEGI Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2013). Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, Salinas, San Luis Potosí, 2009. Revisado el 14 de febrero del 2014.
52. Insilico PCR. <http://insilico.ehu.es/PCR/>
53. Jiménez-Farfán M D, Sánchez-García S, Ledesma Montes C, Molina Frechero N, Hernández-Guerrero J C. (2001). Fluorosis dental en niños radicados en el suroeste de la Ciudad de México. 68 (2);52-55.
54. Landín-Rodríguez L E. (2006). Parámetros fisicoquímicos y concentración de flúor y arsénico en el agua de los pozos de la ciudad de San Luis Potosí y zona conurbada. Alternativa de tratamiento: adsorción de flúor y arsénico en la Interfase Al₂O₃ activada/ solución acuosa. Tesis de maestría en ciencias ambientales. UASLP. México.

55. Lau E M, Choy D T, Li M, Woo J, Chung T, Sham A. (2004). The relationship between COLI A1 polymorphisms (Sp 1) and COLI A2 polymorphisms (Eco R1 and Puv II) with bone mineral density in Chinese men and women. *Calcif Tissue Int*;75:133–7.
56. López Jordi M C, Amaral Schiaffino R, Kalil S. (2010). Proteolisis enzimática del colágeno dentinario. *Odontoestomatología*;XII:14.
57. López-Molina M I, Hernández-López M. (2006). Flúor, aplicaciones preventivas y terapéuticas. *Spin cero cuadernos de ciencia*; No.10.
58. Loyola-Rodríguez J P, Pozos-Guillén A de J, Hernández-Guerrero JC, Hernández-Sierra JF. (2000). Fluorosis en dentición temporal en un área con hidrofluorosis endémica. *Salud Pública de México*;42 (3).
59. Lu Y, Sun Z R, Wu L N, Wang X, Lu W, Liu S S. (2000). Effect of high-fluoride water on intelligence in children. *Fluoride* 33(2): 74-78.
60. MalaCards human disease database. <http://www.malacards.org/> Revisado el 24 de mayo 2013.
61. Martínez-Mier E A. (2012). Fluoride: Its metabolism, toxicity, and role in dental health. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*;17:(1):28-32
62. Mascarenhas A K. (2000). Risk factors for dental fluorosis: a review of the recent literature. *Pediatr Dent* 22:269–277
63. Masten S. (2001). Toxicological summary for sodium hexafluorosilicate [16893-85- 9] and fluorosilicic acid [16961-83-4]: USA National Toxicology Program.

64. McDonagh M S, Whiting P F, Wilson P M, Sutton A J, Chestnutt I, Cooper J, Misso K, Bradley M, Treasure E, Kleijnen J. (2000). Systematic review of water fluoridation. *Br. Med. J*;321:855-859.
65. Miñana V. (2002). Agua de bebida en la infancia. *Revista de educación integral del pediatra extrahospitalario*;61-68.
66. Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994. Salud ambiental, agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. *Diario oficial de la Federación*.
67. Molina-Frechero N, Castañeda-Castaneira E, Bologna-Molina R, Hernández-Guerrero I C, Juárez-López A. (2006). Fluorosis endémica en una población asentada a la altitud de 2,100 m \S *Rev Mex Pediatr*; 73(5); 220-224.
68. Moore J E, Zaporozec A, Mercer J W. (2005). Una introducción al agua subterránea. Instituto de Geología. Folleto Técnico No. 128. Universidad Autónoma de San Luis Potosí;83.
69. Moreno-Grau M. (2003). *Toxicología Ambiental. Evaluación de riesgo para la salud humana*, Mc Graw Hill Interamericana, España
70. Nanci A. (2007). Development of the tooth and its supporting tissues. En Nanci A. *Ten Cate's oral histology: development, structure and function*. ed 7 $^{\circ}$. St Louis, Missouri: Mosby;79-111.
71. Nelson D L, Cox M M. (2001). *Principios de Bioquímica*, 3 $^{\text{a}}$ ed. Editorial Omega (Barcelona, España);1119-1128.

72. NIOSH National Institute for occupational safety and Health. (1984). Fluoride in urine. Us Department of health and human Services, Manual of analytical Methods. Third Ed. 11 p8308-18308-3.
73. Norma Oficial Mexicana NOM-040-SSA1-1993. Bienes y Servicios, Sal yodatada y sal yodatada fluorurada. Especificaciones sanitarias
74. NRC National Research Council. (1993). Health effects of ingested fluoride. National Academy Press, USA.
75. NRC National Research Council. (2006). Fluoride in Drinking Water: A Scientific Review of EPA's Standards, Committee on Fluoride in Drinking Water. National Academies Press, USA.
76. Núñez-Mendieta, H A. (2011). Fluorosis dental en niños de localidades del Paraguay con elevado tenor de flúor en las aguas de consumo humano. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud;9:(1);35-42.
77. Olsen T, Johansen E. (1978). Fluoride content of human fluorosed enamel. J Dent Res;57:281.
78. OMS. (2004), Guidelines for drinking water quality: recommendations. Third edition Vol. 1, World Health Organization, Geneva
79. Ortiz-Pérez M D, Rodríguez M, Martínez F, Borja-Aburto V H, Castelo J, Grimaldo J I, De la Cruz E, Carrizales L, Díaz-Barriga F. (2003). Fluoride induced disruption of reproductive hormones in men. Environmental Research;93:(1): 20-30.
80. Ortiz-Pérez M D. (2011). El Agua de Consumo Humano en México.

81. Price M. (2007). Agua Subterránea. (Noriega). México, D.F. México: Limusa S. A.
82. Puche R C, Rigalli A. (2007). Determinación de la concentración de Flúor en Muestras Biológicas. Actualizaciones en osteología; 1:27-34^a).
83. Puche R C, Rigalli A. (2007). Fluorosis esquelética. Actualizaciones en osteología;3:(1):50-52.
84. Qin-qing T, Jun D, Heng-Hui M. (2008). Fluoride and Children's Intelligence: A Meta-analysis. Biological Trace Element Research;126:115-120.
85. Raghavan R, Bipin N, Abraham A. (2014). Prevalencia de fluorosis dental y el contenido de fluoruro del agua potable en las zonas rurales del distrito de Malappuram, Kerala. Int J Med Sci. Salud Pública; 3 (1):. 27-30.
86. Ramírez-Bello J, Vargas-Alarcón G, Tovilla-Zárate C, Fragoso JM. (2013). Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP): implicaciones funcionales de los SNP reguladores (rSNP) y de los SNP-ARN estructurales (srSNP) en enfermedades complejas. Gaceta Médica de México. 2013;149:220-8
87. Ravenscroft P, Brammer H, Richards K. (2009). Arsenic Pollution: A Global Synthesis (Wiley, United Kingdom, 2009)
88. Riojas M. (2006) Anatomía dental. México: El manual moderno
89. Rivas-Gutiérrez J, Huerta-Vega L. (2005). Fluorosis dental: metabolismo, distribución y absorción del fluoruro. Revista de la Asociación Dental Mexicana. Vol. LXII, No. 6;225-229.

90. Rocha-Amador D O. (2005). Efectos sobre el sistema nervioso central por la exposición simultánea a flúor y arsénico. Tesis para obtener el grado de maestría en ciencias ambientales. UASLP, SLP.
91. Rocha-Amador D, Navarro M E, Carrizales L, Morales R, Calderón J. (2007). Decreased intelligence in children and exposure to fluoride and arsenic in drinking water. *Cad Saude Publica*;23 Suppl. 4:S579-87.
92. Russell A L. (1962). Dental fluorosis in Grand Rapids during the seventeenth year of fluoridation. *J Am Dent Assoc*;65:608–612.
93. Sánchez-García S, Pontigo-Loyola A P, Heredia-Ponce E, Ugalde-Arellano J A. (2004). Fluorosis dental en adolescentes de tres comunidades del estado de Querétaro. *Revista Mexicana de Pediatría*;71(1); 5-9.
94. Shivarajashankara Y M, Shivarajashankara A R, Gopalakrishna Bhat P, Hanumanth Rao S. (2002). Brain lipid peroxidation and antioxidants systems of young rats in chronic fluoride intoxication. *Fluoride*;35:(3);197-203.
95. Smedley P, Kinniburgh D. (2002). A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters, *Applied Geochemistry*;17: 517-568.
96. Soto-Rojas A E, Ureña-Cirett J L, Martínez-Mier E A. (2004). A review of the prevalence of dental fluorosis in Mexico. *Rev Panam Salud Publica*; 15: 9-17.
97. Strubczewski N, Yin D, Tokuyama Y, Zhang Ch, Rust W; ATCC, Manassas, VA. Poster presented at the ISSCR Annual Meeting, June 2011. The essentials of life science research, globally delivered.

98. Strunecká A, Patočka J, Connett P. (2004). Fluorine in medicine. *J Appl. Biomed*; 2(3):141-150.
99. Stryer L, Berg J M, Tymoczko J L. (2003). *Bioquímica*, 5ª ed. Editorial Reverté (Barcelona, España):152-154.
100. Thylstrup A, Fejerskov O. (1978). Clinical appearance and surface distribution of dental fluorosis in permanent teeth in relation to histological change. *Community Dent Oral Epidemiol*:6:315-328.
101. Torrades S. (2002). Diversidad del genoma humano: los polimorfismos. *OFFARM*:21(5).
102. U.S. EPA United States Environmental Protection Agency. (2010). Fluoride. Exposure and relative source contribution analysis. Health and ecological criteria division office of water.
103. Valdez-Jimenez L, Soria-Fregozo C, Miranda-Beltrán ML, Gutiérrez-Coronado O, Pérez-Vega MI. (2010). Efectos del flúor sobre el sistema nervioso central. *Neurología* 2011; 26(5): 297-300.
104. Vani M L, Reddy K P. (2000). Effects of fluoride accumulation on some enzymes of brain and gastrocnemius muscle of mice. *Research report*;33:(1);17-26.
105. Vieira A P, Hancock R, Eggertsson H, Everett E T, Grynopas M D. Tooth quality in dental fluorosis genetic and environmental factors. *Calcif Tissue Int*. 2005 Jan;76(1):17-25.

106. Vieira A, Hancock R, Limeback H, Schwartz M, Grynblas M. (2003). How does fluoride concentration in the tooth affect apatite crystal size?. *J Dent Res* 82:(11):909-913.
107. Wang G, Ba Y, Yang Y, Ren L, Zhu J, Yin G, Yu B, Cheng X, Cui L. (2010). ER β gene RsaI polymorphism and children's dental fluorosis. *Life Science Journal*;7:(1), 20.
108. WHO World Health Organization. (2006). *Fluoride in Drinking Water*.
109. Willing M C, Torner J C, Burns T L, Janz K F, Marshall T, Gilmore J, Deschenes S P, Warren J J, Levy S M. (2003). Gene polymorphisms, bone mineral density and bone mineral content in young children: the Iowa bone development study. *Osteoporos Int.*:14(8):650-8.
110. Xiang, Q, Liang Y, Chen L, Wang C, Chen B, Chen X, Zhouc M. (2003). Effects of fluoride in drinking water on children's intelligence. *Fluoride* 36:(2): 84-94.

ANEXOS

ANEXO 1. Carta de bioética



COMITÉ DE BIOÉTICA E INVESTIGACIÓN
FACULTAD DE MEDICINA
UASLP

San Luis Potosí, S.L.P. 21 de Noviembre de 2013


Dr. José de Jesús Mejía Saavedra
Presente

El Comité de Bioética e Investigación de esta Facultad, recibió el protocolo "Escenarios de riesgo por acuíferos contaminados: el caso de la contaminación por arsénico y flúor en los acuíferos de Durango, Guanajuato y San Luis Potosí" para ser sometido a evaluación por el Comité de Bioética e Investigación de la Facultad de Medicina.

De acuerdo con las recomendaciones de los integrantes del Comité, tiene el Dictamen de: **Autorizado**

Sin más por el momento, aprovecho la ocasión para enviarle cordiales saludos.

A T E N T A M E N T E
"SIEMPRE AUTÓNOMA POR MI PATRIA EDUCARÉ"


DR. ANTONIO AUGUSTO GORDILLO MOSCOSO
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE BIOÉTICA E INVESTIGACIÓN

ANEXO 2. Consentimiento informado.



Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Carta Consentimiento Informado

TÍTULO DEL PROYECTO

Escenarios de riesgo por acuíferos contaminados: el caso de la contaminación por arsénico y flúor en los acuíferos de Durango, Guanajuato y San Luis Potosí.

Este proyecto se realiza por parte de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, siendo representado por el Dr. José de Jesús Mejía Saavedra, M.C. Yolanda Rodríguez y Rodríguez, Lic. Lizet del Carmen Jarquín Yáñez, Psic. Cesar Villaseñor Lozano y Psic. Efraín Gaytan Jiménez, del Laboratorio de Toxicología Ambiental-Centro de Investigación Aplicada en Ambiente y Salud (CIAAS) Teléfono: 826.23.00 ext 8472.

Este estudio está dirigido a niños de primaria y al primer año de secundaria, por lo que a su hijo (a) se le ha invitado a participar en este estudio de investigación. Antes de decidir si desea o no participar, deberá conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este procedimiento se conoce como **consentimiento informado**. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto. Su participación es de gran importancia para alcanzar los objetivos buscados en esta investigación.

Objetivo del Estudio: Evaluar el riesgo en la salud por la exposición a Arsénico(As) y Flúor (F) en agua de consumo a nivel molecular, neurológico y genético en población infantil de comunidades pertenecientes al Altiplano del Estado de San Luis Potosí. Además de diseñar un programa de comunicación enfocado a reducir los riesgos asociados al consumo de agua proveniente de acuíferos contaminados.

Beneficios del Estudio:

- Estudio gratuito, confidencial y voluntario.
- Se conocerá la condición física y genética actual de las familias que participen en el estudio con relación a la exposición a Arsénicos y Flúor.
- La población participante conocerá el riesgo a la salud que representa la exposición a As y F a través de agua de consumo lo que permitirá que se generen estrategias para la prevención.
- Se entregará un reporte de resultados al Sector Salud y CONAGUA con la finalidad de informar los riesgos que representa el consumo de agua contaminada con As y F y junto con las comunidades generar estrategias o programas de prevención.

Procedimiento: Una vez aceptada la participación de su hijo (a) deberá responder una encuesta para conocer algunos hábitos alimenticios y de vida, así como antecedentes médicos e información general. Se le pedirá que tanto usted como su hijo (a) nos proporcione 3 muestras de orina. Se les realizará un raspado de mucoso bucal y una muestra de sangre, las cuales serán tomadas por personal capacitado. Asimismo, se le realizará a cada niño pruebas de neurotoxicidad y revisión dental.

Aclaraciones: La decisión de permitir a su hijo (a) participar en el estudio es completamente gratuita, voluntaria y confidencial. Una vez teniendo los resultados se le hará entrega personal para conocer el estado de salud en el que se encuentran los integrantes de su familia en el estudio. Es importante mencionar que Usted podrá retirarse del estudio en el momento en que decida.

Nombre del hijo (a) _____ Edad: _____ Año que cursa: _____
Nombre del hijo (a) _____ Edad: _____ Año que cursa: _____
Nombre del hijo (a) _____ Edad: _____ Año que cursa: _____
Nombre del hijo (a) _____ Edad: _____ Año que cursa: _____
Nombre del hijo (a) _____ Edad: _____ Año que cursa: _____

"He leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria, por lo que convergo en permitir participar a mi Hijo (a) en este estudio".

Nombre del padre o madre: _____

Domicilio y teléfono: _____

ANEXO 3. Estimación del riesgo a la salud (ATSDR, 2005).

Paso 1.- Identificación del riesgo

En la literatura, la dosis de referencia para fluorosis dental es de 0.05 mg/Kg/día. Concentraciones de flúor en agua > 3 mg/l provocan daños neurológicos (Lu et al., 2000; Rocha-Amador et al., 2007) y concentraciones >4 mg/l ocasionan enfermedades fluoróticas severas como fluorosis esquelética, fracturas óseas, trastornos gastrointestinales y alteraciones renales (Hurtado-Jiménez et al., 2005).

2.- Relación dosis-respuesta

La ATSDR ha estimado que para el caso de los fluoruros, la RfD y el NOAEL corresponden a 0.05 mg/kg/día para el efecto adverso de fluorosis dental.

Paso 3.- Evaluación de la exposición

$$\text{Dosis de exposición estimada (mg/Kg/día)} = \frac{\text{Conc. mg/l} * \text{TI (L/día)} * \text{FE}}{\text{PC (Kg)}}$$

Donde:

Conc: Concentración del contaminante en el agua de consumo (4.54 mg/l)

PC: Peso corporal (media en los niños del presente estudio: 29 Kg)

TI: Tasa de ingestión de agua en niños (En promedio: 1.5 l/día)

FE: Factor de exposición (absorción de flúor por vía oral: 0.97)

En el presente estudio la dosis de exposición fue la siguiente:

$$\text{Dosis de exposición} = \frac{4.54 \text{ mg/l} * 1.5 \text{ l/día} * 0.97}{29 \text{ Kg}} = 0.23 \text{ mg/Kg/día}$$

Paso 4.- Caracterización del riesgo

Se integra la información obtenida en la identificación del riesgo, la relación dosis-respuesta y la evaluación de la exposición, con objeto de predecir el riesgo de padecer efectos adversos por los individuos o poblaciones expuestas.

En el presente estudio el factor de riesgo, a partir de la RfD establecida por la ATSDR para fluorosis dental fue el siguiente:

$$\text{Factor de Riesgo} = \text{Dosis de exposición} / \text{Rfd} = 0.23 \text{ mg/Kg/día} / 0.05 \text{ mg/Kg/día} = 4.6$$

(Valor de referencia: 1)

Se puede calcular además, la guía para evaluación de medios ambientales (EMEG), ya que lejos de ser una norma ambiental, ésta nos sirve como referencia para evitar algún efecto nocivo del contaminante en la población, debido a que toma en cuenta la RfD para determinado efecto. Cuando la concentración del contaminante supera a la EMEG, teóricamente debería ser sujeto a un análisis toxicológico.

En el presente estudio la EMEG calculada, tomando en cuenta la RfD establecida por la ATSDR para fluorosis dental, fue la siguiente:

$$\text{EMEG} = \frac{\text{RfD} * \text{PC}}{\text{TI}} \qquad \frac{0.05 \text{ mg/Kg/día} * 29 \text{ Kg}}{1.5 \text{ l/día}} = \boxed{0.97 \text{ mg/L}}$$

Donde:

RfD: Dosis de referencia

PC: Peso corporal

TI: Tasa de ingesta al día

ANEXO 4. Historia dental clínica

DIAGNÓSTICO DENTAL DE FLUOROSIS

Folio

ÍNDICE DE FLUOROSIS THYLSTRUP-FEJERSCOV Y DEAN

18	17	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26	27	28
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
			55	54	53	52	51	61	62	63	64	65			
			<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>			
			<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>			
			85	84	83	82	81	71	72	73	74	75			
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
48	47	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36	37	38

E (excluido)
Diente primario
o parcialmente
erupcionado

OBSERVACIONES:

EXAMINADOR:

ANEXO 5. Índice de fluorosis dental de Dean (Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades, 2003; OMS, 1997).

CODIGO	APARIENCIA CLÍNICA
Sano o normal "0"	El esmalte del diente tiene su translucidez usual, la superficie es lisa, brillante, generalmente es de color crema pálido; se incluyen dientes con características de esmalte sano y se añaden las alteraciones del esmalte que no son originadas por la fluorosis
Cuestionable "1"	Pequeñas aberraciones en la translucidez del esmalte normal, que pueden ir desde unas sombras blanquecinas a manchas blancas de uno o dos milímetros de diámetro
Muy leve "2"	Se observan áreas blancas opacas irregulares sobre la superficie de los dientes, especialmente en sus caras labiales; menos del 25 % de la superficie de los dientes está afectada
Leve "3"	Las líneas y áreas opacas del esmalte ocupan por lo menos la mitad, 50% de la superficie del diente; las caras oclusales de los dientes afectados muestran una atrición moderada
Moderada "4"	Toda la superficie del diente está afectada, hay marcado desgaste de las superficies sujetas a atrición; puede o no presentar pigmentación
Severa "5"	La superficie del esmalte está muy afectada; se observan puntos hipoplásicos en la superficie dental y en algunos casos la forma del diente puede estar afectada

ANEXO 6. Índice de fluorosis dental de TF (Thylstrup et al., 1978).

CODIGO	APARIENCIA CLÍNICA
0	Traslucencia normal del esmalte después del secado
1	Líneas finas opacas sobre toda la superficie del diente
2	Líneas opacas más pronunciadas y en ocasiones se fusionan para formar áreas nubosas esparcidas por la superficie del diente
3	Las líneas se fusionan y forman áreas opacas que se extienden por la mayor parte de la superficie del diente, entre estas áreas se pueden también ver líneas opacas
4	Toda la superficie del diente forma una marcada opacidad o presenta un aspecto de tiza.
5	Toda la superficie del diente es opaca con pérdida localizada de esmalte en hoyos de menos de 2mm de diámetro
6	Se ven pequeños hoyos frecuentemente fusionados sobre el esmalte opaco formando bandas de menos de 2mm de profundidad
7	Pérdida de la parte más externa del esmalte en áreas irregulares que suponen menos de la mitad total de la superficie
8	La pérdida del esmalte afecta a más de la mitad de la superficie
9	La pérdida de la mayor parte del esmalte supone un cambio de la forma anatómica del diente. A veces se observa un borde de esmalte opaco en área cervical

ANEXO 7. Índice comunitario de fluorosis dental (ICF) de acuerdo a Dean (Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades, 2003).

CONDICIÓN	CÓDIGO DE DEAN	PONDERACIÓN
Sano	0	0
Cuestionable	1	0.5
Muy leve	2	1
Leve	3	2
Moderado	4	3
Severo	5	4

$$\text{ICF} = \frac{\sum \text{de individuos con fluorosis} \times \text{ponderación}}{\text{Número total de individuos examinados}}$$

Interpretación del ICF: Por arriba de 0.6 empieza a constituir un problema de salud pública.