

# Toxicidad Aguda y Dosis Letal del Hexafluorosilicato de Magnesio en Ratas

\* Justiniano SOTOMAYOR CAMAYO, Mg. CD

## RESUMEN

Se ha realizado un estudio experimental con el propósito de evaluar la toxicidad del hexafluorosilicato de magnesio en el comportamiento clínico y a nivel del tejido hepático y gástrico de animales de experimentación.

Se seleccionaron 40 ratas albinas, machos de raza de Sprague Dowley de 250 gr. de peso procedentes de camadas similares y se conformaron siete grupos experimentales de acuerdo a la siguiente dosis de hexafluorosilicato demostrado en el agua de consumo: Grupo A: 2.5 mg., Grupo B: 5 mg., Grupo C: 10 mg., Grupo D: 15 mg., Grupo E: 20 mg., Grupo F: 25 mg., Grupo G: 30 mg. Un grupo de 5 fue considerado control al que se administró agua pura.

El comportamiento clínico fue evaluado en 6 horas a través de las siguientes manifestaciones: intranquilidad, depresión, chirrido, vómito, diarrea y muerte.

Las ratas fueron sacrificadas luego de 6 horas de la administración de las dosis y se procedió a la preparación de cortes histológicos de hígado y mucosa gástrica.

Los resultados indican que, con dosis de 20 mg. el síntoma más frecuente fue la depresión (60%), con 25 mg. se apreció depresión (100%) a la primera hora, chirrido (60%) a la tercera hora, muerte (60%) a la sexta hora, vómito (40%) a la cuarta hora, y diarrea (20%) a la quinta hora, con 30 mg., se halló depresión (100%) a la primera hora, chirrido (80%) a la segunda hora, muerte (60%) a la cuarta hora y vómito (40%) a la tercera hora.

A la prueba del chi cuadrado se encontraron diferencias altamente significativas entre el incremento de la dosis y la gravedad de los síntomas evaluados ( $P < 0.001$ ).

Las observaciones histopatológicas indican características normales en dosis menores de 20 mg. Con 20 mg. se observó un 28% congestión vascular y 72% de normalidad, a 25 mg. se observó 76% de congestión vascular y 24% de infiltrado leucocitario. Con 30 mg. se observó 52% de infiltrado leucocitario y 48% de congestión vascular.

Se hallaron diferencias altamente significativas entre el incremento de la dosis y las alteraciones histopatológicas observadas en los animales de experimentación ( $P < 0.001$ ).

---

Palabras clave: Citotoxicidad, histopatología

---

## SUMMARY

We've made an experimental investigation to evaluate the toxicity of hexafluorosilicato of magnesium above the behaviour clinical and the hepatic and gastric tissues reactions from animals of experimentation.

We selection 40 male of albicans rats "sprague dowley" of 250 gr of weight procedents of similars boxes and we sellectionated seven experimental groups about the next dosis of hexafluorosilicato demostrated in water that we used. Group A 2.5 mg., group B 5 mg., group C 10 mg., group D 15 mg., group E 20 mg., group F 25 mg., group G 30 mg. A group of five, it was consideredated control that we agregated pure water.

The clinical action was evaluated in six hours through the clinical characteristics since unquiet to death.

Rats were sacrificated then of six hours of the administration of the dosis and we proceeded in the cut histologic preparation of hepatic and gastric tissues.

The results indicate that dosis of 20 mg. the symptoms morè frequency was the depression (60%). With 25 mg. it demostrated depression (100%) in the first time; chirrido (60%) in the third time; death (60%) in the sixth time; vomit (40%) in the fourth time, and diarrea (20%) in the fifth hour. With 30 mg. we found depression (100%) in the first time; chirrido (80%) in the second time; death (60%) in the fourth time, and vomit (40%) in the third hour.

With the test of chi-cuadrado we found significant differences between the dosis and the critical of the symptoms evaluated  $P < 0.001$  the histologics observations indicate normal characteristics in less dosis of 20 mg.

With 20 mg. we observated 28% vascular congestion and 72% of normaly 25 mg. we noticed 76% of vascular congestion and 24% of leucocitary infiltrated with 30 mg.

We noticed 52% of leucocitary infiltrated and 48% vascular congestion.

We found differents between the increment of the dosis and the histologics modifications observated in the study of the animal ( $p < 0.001$ ).

---

Key words: Citotoxicity, Histopathology

---

\* Profesor Principal del Departamento Académico de Ciencias Básicas- Pre y Post Grado - FO - UNMSM. E-mail: d140069@unmsm.edu.pe

## INTRODUCCION

Diversas investigaciones científicas han demostrado que el ion flúor es un elemento capaz de prevenir la caries dental. Adicionado a diversos vehículos como el agua, la sal y la leche, entre otros alimentos, son formas seguras y efectivas de ser administradas. En efecto hasta hace algunas décadas imperaba el concepto que los fluoruros actuaban principalmente aumentando la resistencia del esmalte a los ácidos producidos por las bacterias en la placa dental. Nuevas investigaciones han aclarado la importancia de otros efectos del fluoruro, entre ellos la remineralización de las lesiones iniciales o previas a la caries y algunos efectos antimicrobianos.

Como se aprecia, las ventajas del uso del flúor han sido extensamente estudiadas, sin embargo, también ha sido motivo de preocupación en la profesión los posibles efectos no deseados así como otros efectos secundarios y nocivos del flúor en caso de sobredosis que conllevaría a la intoxicación aguda y crónica.

Desde 1989, en el Perú se implementa el Programa Nacional de Prevención Masiva de la Caries Dental Mediante la Fluoración de la Sal de Consumo Humano, según el D.S. 010-86 M.S. Para los efectos del programa se utilizó el compuesto hexafluorosilicato de sodio. Actualmente una de las más importantes empresas productoras de sal desea emplear el hexafluorosilicato de magnesio, sin embargo, del compuesto químico no se tienen referencias de su uso en programas de fluoración, así como no se han establecidos las dosis tóxicas y de letalidad.

En base a los conceptos anteriores el presente trabajo de investigación tiene como objetivo evaluar el potencial toxicológico agudo y la dosis letal del hexafluorosilicato de magnesio en animales de experimentación realizado a través de observaciones clínicas e histológicas en laboratorio, así como evaluar la relación entre el incremento de la dosis y la severidad de los signos.

Se utilizaron 40 ratas de laboratorio divididas en 8 grupo iguales, las que fueron sometidas a diversas dosis del hexafluorosilicato de magnesio.

Los resultados de la investigación contribuyen con la información, necesaria para el conocimiento científico del efecto toxicológico clínico e histopatológico del incremento de dosis de hexafluorosilicato de magnesio en el agua de consumo en ratas de laboratorio.

## ANTECEDENTES

Dunipace y col<sup>1</sup>, evaluando los cambios fisiológicos ocurridos en 4 grupos de ratas, expuestas crónicamente a 0.5, 15 y 50 ppm. de Fluor en el agua de beber, durante 3, 6, 12 y 18 meses; determinaron al impacto biológico, cuyos resultados sobre la concentración de flúor en el tejido mineralizado y del flúor total en el esqueleto, se incrementó continuamente conforme envejecían los animales; mientras que en los tejidos blandos, la concentración de flúor no cambió con la duración del tratamiento y en general no presentaron indicios de que el incremento del flúor en los tejidos causará algún efecto fisiológico o genotóxico adverso.

La dosis tóxica oral aguda (DTOA) corresponde a una dosis de flúor de 32 a 64 mg F/Kg, esta dosis es equivalente a un DL100. Cualquier adulto que ingiera tal cantidad espera la muerte, a la vez se concluye que la dosis tóxica probable (DTP) de flúor es de 5 mg F/Kg de peso, esta DTP es definido como la dosis mínima que puede causar signos y síntomas tóxicos incluyendo la muerte.

La toxicidad gástrica dentro del medio ácido del estómago, los iones de flúor se combinan con los protones para formar el ácido lábil HIF. Comparado con el ión, la molécula de HIF atraviesa las membranas celulares y rápidamente se disocia al entrar a la mucosa donde el pH es casi neutro. A continuación se producen alteraciones en el flujo del agua, sodio, potasio, protones entre otros iones hasta desencadenar en una pérdida extensa de la mucosa, presentándose hiperemia, edema y hemorragia. Estos efectos adversos de todos modos son transitorios con un proceso de recuperación de una semana a más.

El hexafluorosilicato de magnesio, compuesto que previene la caries y de acción curativa al permitir la remineralización, siendo su aplicación en la fluoración del agua potable y sal de consumo. Su fórmula química es:  $MgSiF_6 \cdot 6H_2O$

El mecanismo de acción del hexafluorosilicato de magnesio es semejante al flúor.

Los fluoruros pueden afectar las interacciones calcio-potasio durante los estadios de mineralización del esmalte pre y post eruptivos, al igual que durante un proceso carioso.

Los componentes químicos primarios del esmalte son  $Ca^{2+}$ ,  $PO_4^{3-}$ ,  $OH^-$  y  $CO_3^{2-}$ . En el esmalte y la dentina esos componentes están en forma de microcristales y la disposición espacial de estos átomos semeja la hidroxiapatita mineral ternaria pura  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$

El reemplazo de los grupos hidroxilo por iones fluoruro, que dan resultado a la formación de fluorapatitas, determinando un marcado efecto cariostático.

El proceso de eliminación del flúor se da una vez alcanzado cierta proporción de flúor fijado a tejidos calcificados, se manifiesta cuando se incrementa la proporción de flúor en orina, heces y bilis además de procesos descamativas de la epidermis y faneras (uñas y pelos).

El flúor es un oligoelemento, es un constituyente normal de la materia viva tanto vegetal como animal; de aquí la importancia del control analítico para la fluorización del agua y la sal.

Los efectos del flúor se distribuyen según la dosis y el tiempo de exposición en:

#### **Intoxicación Aguda:**

El ión flúor actúa sobretodo precipitando el calcio, evidenciando alteraciones en los tejidos nervioso y muscular así como en la coagulación, también inhibe numerosos sistemas enzimáticos por su poder de ligarse a cationes como  $Fe^{3+}$  y  $Mg^{2+}$ . La dosis mortal generalmente admítida es de 2 a 3gr.

Los primeros síntomas sobrevienen de 5 a 6 horas después de la ingestión, siendo los de orden digestivo: náuseas, vómitos con hematemesis, dolores abdominales, diarreas, etc.; luego aparece signos neuromusculares: agitación, espasmos clónicos y tónicos. Simultáneamente como consecuencia de la hipocoagulación sanguínea, se producen hemorragias difusas especialmente a nivel de cerebro o pulmones y riñones. Finalmente aparece una depresión progresiva del sistema nervioso central y la muerte sobreviene por parálisis del centro respiratorio y paro cardíaco.

#### **Intoxicación crónica**

Una propiedad fundamental del anión  $F^-$  es su afinidad con los fosfatos, por una parte con la formación de fluorapatita y por el calcio con la formación de fluoruro de calcio poco soluble.

Las alteraciones dentales se dan en dientes en vías de desarrollo con formación de manchas moteadas, la cuál es menos resistente y en consecuencia se gasta rápidamente, esto se da con niveles relativamente bajos de flúor (1-2 ppm en el agua de beber). Las alteraciones de tejido óseo o signos de fluorosis esquelética aparecen con niveles altos de ingesta de flúor (8-10 ppm en el agua potable) por un tiempo de 10 años a más, manifestándose según las condiciones de la intoxicación y la naturaleza de los derivados fluorados en dos presentaciones opuestas:

*Hipercalcificación:* se trata de una densificación ósea llamada a veces osteoesclerosis, causada sobretodo por fluoruro de calcio. El hueso pierde su flexibilidad y se pone quebradizo.

*Descalcificación:* conlleva a la osteoporosis, da lugar a fracturas espontáneas. Este fenómeno es causado sobretodo por derivado de fluoruros solubles.

Otros signos son las lesiones degenerativas a nivel renal y hepático, así como alteraciones de glándulas endocrinas en particular la hipófisis.

## **PROBLEMA**

El uso del flúor en odontología ha logrado efectos benéficos en la prevención y el tratamiento de la caries dental; así como toda una corriente de investigaciones que está permanentemente descubriendo nuevos beneficios, cuyo uso incorrecto implica graves perjuicios. En este último punto, la literatura científica se ha ocupado ampliamente sobre los efectos tóxicos que puede presentarse con el consumo del agua y de sal fluoradas. Esto ha motivado a la inclusión de nuevos compuestos como el hexafluorosilicato de magnesio; sin embargo, no se han realizado estudios sobre sus posibles grados de toxicidad, desconociéndose este punto.

## **OBJETIVOS**

### **General**

Evaluar los signos clínicos y cambios histológicos en ratas albinas por intoxicación aguda experimental con diferentes dosis de hexafluorosilicato de magnesio administradas en la dieta.

### **Específicos**

- Determinar las concentraciones no tóxicas y las probabilidades de intoxicación del hexafluorosilicato de magnesio en la dieta.
- Determinar los signos que se presentan por la intoxicación aguda por hexafluorosilicato de magnesio.
- Determinar los cambios histológicos que se presentan por intoxicación aguda provocada por el hexafluorosilicato de magnesio.
- Determinar la relación entre el incremento de la dosis y el grado de severidad de los signos y cambios histológicos producidos por intoxicación aguda con hexafluorosilicato de magnesio.

## HIPOTESIS

El rango de dosis tóxica aguda de hexafluorosilicato de magnesio que evidencia signos y síntomas clásicos de la intoxicación aguda se encuentra entre los 20 y 30 Kg. de peso para ratas de laboratorio.

## MATERIALES Y METODOS

### Tipo de Estudio

Longitudinal, analítico y con carácter experimental

### Muestra

Constituida por 40 ratas macho de laboratorio de 3 meses de edad y 250 gr. de peso promedio distribuidos en 8 grupos; en los cuales se determinó los signos clínicos que presentaron los animales a la intoxicación, y los cambios histológicos en cortes de hígado y mucosa gástrica.

### Metodología

Cada grupo estuvo constituido por 5 animales. Se conformaron 7 grupos experimentales a los que se administraron las diferentes concentraciones de hexafluorosilicato de magnesio y uno constituyó el grupo control, a quienes se les administró agua pura. Se asignó un código a cada grupo que los identificó como de experimentación y control, así como un subcódigo para cada animal.

Grupo	Dosis (mg/Lt)
Control	0
A	2.5
B	5
C	10
D	15
E	20
F	25
G	30

El dosaje de fluoruro se llevó a cabo en una balanza analítica de precisión. Luego es agregado en forma sólida para luego ser agregado en forma sólida a un litro de agua contenido en un depósito esterilizado.

El procedimiento constó de las siguientes partes:

- Preparación de las soluciones
- Preparación del animal (alimentación normal, sin líquidos para promover la sed durante 48 horas)
- Registro de inicio de consumo de agua
- Control clínico periódico (signos clínicos)
- Sacrificio o autopsia de los animales y obtención de órganos para la evaluación histológica.

Además se realizó un estudio piloto con 5 animales con la finalidad de monitorear mejor todo el proceso experimental y realizar las modificaciones del formulario de recolección de datos.

## RESULTADOS

Se ha observado el comportamiento clínico e histológico de ratas albinas con el propósito de evaluar la toxicidad aguda de soluciones de hexafluorosilicato de magnesio en concentraciones de 20 mg., 25 mg. y 30 mg. registrados cada 60 minutos. Se hallaron los siguientes resultados:

\* Con 20 mg. se observaron los siguientes signos clínicos: a la primera hora: 3 ratas (60%) mostraron intranquilidad; desde la segunda a la quinta hora 3 ratas (60%) presentaron depresión y a la sexta hora 2 (50%) presentaron depresión.

\* Con 25 mg. se observó: a la primera hora 5 (100%) presentaron depresión, a la segunda hora 3 (60%) con depresión, a la tercera hora 3 (60%) presentaron chirrido, a la cuarta hora 2 (40%) presentaron chirrido y vómito respectivamente, a la quinta hora 2 (40%) presentaron vómito, y a la sexta hora 3 (60%) murieron.

\* Con 30 mg. se observó: a la primera hora 5 (100%) con depresión, a la segunda hora 4 (80%) con chirrido, a la tercera hora 2 (40%) con chirrido y vómito respectivamente, a la cuarta hora 3 (60%) murieron, a la quinta hora los 2 (40%) restantes presentaron vómito, a la sexta hora murió 1 y la otra presentó vómito. (Tabla

TABLA 1 : Signos clínicos de toxicidad aguda al Hexafluorosilicato de magnesio según dosis (\*)

DOSIS SIGNO	20 mg.		25mg.		30 mg.	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
0 normal	—	—	—	—	—	—
1 Intranquilidad	10	35.72	0	0	0	0
2 Depresión	16	57.14	12	40	7	29.16
3 Chirridos	1	3.57	9	30	7	29.16
4 Vómito	0	0	5	16.6	6	25
5 Diarrea	0	0	1	3.33	0	0
6 Muerte	1	3.57	3	10	4	16.6
TOTAL	28	100%	30	100%	24	100%

(\*) Referido al número de episodios en un mismo animal en 6 horas de observación

Tabla 2 : Cambios histopatológicos de la toxicidad aguda al Hexafluorosilicato de magnesio según dosis

	20 mg.		25mg.		30 mg.	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
0 normal	18	72	0	0	0	0
1 Congestión	7	28	9	76	12	48
2 Infiltrado	0	0	9	24	13	52
TOTAL	25	100%	25	100%	25	100%

X<sup>2</sup>c=55.105 GI=4X2T = 18.477 P>0.001 (Altamente Significativo).

### Cambios histológicos

#### Grupo control: dosis placebo

En todos los casos estudiados se encontró tejido hepático y mucosa gástrica con características normales.

#### Grupo experimental dosis: 2.5 – 15 mg/lit

En todos los casos se observaron características de normalidad con respecto a las variables congestión vascular e infiltrado leucocitario.

#### Grupo experimental dosis: 20 mg/lit

En la primera lámina se aprecia 4 casos (80%) con características de normalidad, con parénquima hepático conservado, con capilares sinusoidales y vena central sin congestión; 1 caso (20%) presentó discreta congestión vascular a nivel de la vena central.

La segunda lámina presentó 3 casos (60%) con congestión vascular y 2 (40%) con características de normalidad. La tercera lámina presentó 4 (80%) con características normales y 1 (20%) con congestión vascular. La cuarta lámina presentó 3 (60%) con características normales y 2 (40%) con congestión vascular. La quinta lámina presentó a todos los casos con características de normalidad.

Como se aprecia, con dosis de 20 mg/lit de hexafluorosilicato de magnesio, la mayoría de las láminas (72%) presentaron características de normalidad en el parénquima hepático y mucosa gástrica.

#### Grupo experimental dosis: 25 mg/lit

En la primera, tercera y cuarta láminas histológicas, se aprecian 4 casos (80%) con congestión vascular y 1 caso (20%) con infiltrado leucocitario perivascular. En la segunda lámina todos los casos presentaron congestión vascular. En la lámina cinco se encontró a 3 casos (60%) con infiltrado leucocitario y 2 (40%) con congestión vascular.

#### Grupo experimental dosis: 30 mg/lit

En la primera y tercera lámina se observó 1 caso (20%) con congestión vascular y 4 (80%) con

infiltrado leucocitario. En el segundo corte, 5 casos (100%) presentaron infiltrado leucocitario. En las láminas cuarta y quinta se observaron a todos los casos (100%) con congestión vascular. (Tabla 2)

### DISCUSION

En la presente investigación se ha demostrado significativamente que la gravedad de los síntomas estudiados: intranquilidad, depresión, chirrido, vómito, diarrea y muerte, se encuentran de acuerdo al aumento de la dosis. Así lo confirman las pruebas paramétrica de correlación de PEARSON y la no paramétrica del chi cuadrado.

Resultados similares fueron hallados por ZHANG<sup>2</sup>, que en 1990 realizó una investigación en ratas que en 3 dosis diferentes de fluoruro de sodio, demostrando que los índices de toxicidad tuvieron cambios significativos con el aumento de la dosis<sup>2</sup>.

WITFORD G y COL.<sup>3</sup> en 1990, usando ratas madres determinaron la dosis letal (DL) agudo en 50 mg., al ser administrados intragástricamente diferentes compuestos fluorados.

Otro estudio fue realizado para examinar la relación entre una solución letal y los valores picos de la concentración de flúor en plasma, se concluye que la muerte debido a los efectos agudos tóxicos de flúor fueron independientemente de la forma química en la que se administró, independientemente del vehículo (dentífico o agua) y no previsible en términos de un rango límite bien definido de concentración pico de flúor en plasma o de valores AUC.

Nuevamente WITHFORD<sup>4</sup> 1990, al estudiar las características fisiológicas y toxicología del flúor establece que la absorción gástrica es influida por la magnitud y dirección de las gradientes del pH entre los comportamientos de fluidos corporales adyacentes.

BAYLES y COL.<sup>5</sup> sostiene que los primeros síntomas sobreviven en general de 5 a 6 horas

después de la ingestión y son de orden digestivo, náuseas, vómitos y las que se corrobora en esta investigación.

**La USPHS AD COMMITTE ON FLOURIDE**<sup>6</sup> 1991 y **ZHAN** 1990, sostiene que luego de una sobredosis de fluoruro aparece una depresión progresiva del S.N.C., que entraña un estado de prostración. La muerte sobreviene por parálisis del centro respiratorio y paro respiratorio en diástole lo que concuerda con los resultados de la presente investigación.

Como consecuencia de la hipocoagulabilidad sanguínea, se producen hemorragias difusas especialmente, a nivel del cerebro, del pulmón, del riñón y también de las uñas que se ponen violáceas por lo tanto se explica que a mayor dosis de hexafluorosilicato de magnesio, mayores serán los daños histológicos.

**LEHNINGER**<sup>7</sup> refiere que a nivel mitocondrial durante el proceso de respiración celular, la aconitasa (aconitato hidrolasa) cataliza la transformación reversible del isocitrato a través de la formación intermedia de ácido carboxílico cis-aconitato, que normalmente no se disocia del centro activo.

La aconitasa puede promover la adición reversible de agua al enlace doble del cis-aconitato unido a la enzima mediante dos caminos diferentes de los que uno conduce a citrato y el otro a isocitrato.

La aconitasa contiene un centro de hierro-azufre que actúa tanto en la fijación del sustrato activo como en la catálisis de la adición o eliminación de agua. El citocromo P-450 cataliza reacciones de hidroxilación.

En esta etapa la hidroxilación del flúor lo hace más hidrosoluble permitiendo su excreción en la orina, desgraciadamente la hidroxilación de algunos productos con el flúor los convierte en sustancias tóxicas con lo que se subvierte el sistema de detoxificación, provocando los signos descritos en la presente investigación. Son necesarias mayores investigaciones al respecto.

## CONCLUSIONES

1. Con dosis de 20 mg. de hexafluorosilicato de magnesio, el síntoma clínico más frecuente hallado en ratas albinas durante las 6 horas de observación fue la depresión (60%) seguido de intranquilidad.
2. Con dosis de 25 mg. de hexafluorosilicato de magnesio, la gravedad de los síntomas en los animales de experimentación se presentó de la siguiente manera: depresión (100%) a la primera hora, chirrido (60%) a la tercera hora, vómito (40%) a la cuarta hora, diarrea (20%) a la quinta hora, muerte (60%) a la sexta hora.
3. Con 30 mg. de hexafluorosilicato de magnesio, la gravedad de los síntomas clínicos, se presentó de la siguiente manera: depresión (100%) a la primera hora, chirrido (80%) a la segunda hora, vómito (40%) a la tercera hora, no se registraron episodios de diarrea, muerte se presentó (60%) a la cuarta hora.
4. Se han hallado diferencias altamente significativas entre la gravedad de los síntomas y el incremento de la dosis de hexafluorosilicato de magnesio ( $p < 0.001$ ) se halló correlación positiva moderada fuertemente significativa en primera, segunda y cuarta hora de observación.
5. Con dosis de 20 mg. de hexafluorosilicato de magnesio se observó una frecuencia de 72% de normalidad histológica, y el 28% de congestión vascular.
6. Con dosis de 25 mg. se observó 76% de congestión vascular y 24% de infiltrado leucocitario.
7. Con dosis de 30 mg. se observó un 52% de infiltrado leucocitario y 48% de congestión vascular.
8. Se han hallado diferencias altamente significativas entre el incremento de la dosis y las alteraciones histopatológicas observadas en los animales de experimentación ( $P < 0.001$ ).

## REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

- 1- **Dunipace, Brizendine, Zang, Wilson. (1995).** Effects of aging on animal response to chronic fluoride exposure. *J Dent Res.* Ene 74:358-368.
- 2- **Withford. (1992).** Acute and chronic fluoride toxicity. *J Dent Res.* May 71:1249-1254.
- 3- **Withford. (1990).** The physiological and toxicological characteristics of fluoride. *J Dent Res.* 69:539-549.
- 4- **Withford. (1989).** The metabolism and toxicity to fluoride in: Myers HM, editor. Monograph in oral science N°3 basel (switzerland) Karger.
- 5- **Bayless, Tinanoff. (1995).** Diagnosis and treatment of acute fluoride toxicity. *JADA.* 110:209-211.
- 6- **USPHS Ad Hoc Committe On Fluoride (1991).** Review of fluoride: benefits and risks. USPHS Department of health and Human Services.
- 7- **Lehninger. (1995).** Bioquímica. Editorial Latinoamericana