

Alteraciones bioquímicas post-partum producidas por la ingestión prolongada de fluoruro en ratas

MARIA LUZ PITA MARTÍN DE PORTELA
y JUAN CLAUDIO SANAHUJA

Departamento de Bromatología y Nutrición Experimental, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

RESUMEN

Se estudiaron los efectos post-partum en ratas que desde el destete habían ingerido dietas conteniendo 50 p.p.m. de fluoruro.

Los resultados obtenidos muestran:

- 1) en plasma: disminución de la actividad de fosfatasa alcalina, disminución de la concentración de calcio y del contenido de sodio y de potasio.
- 2) en glóbulos rojos: alteración de la relación potasio/sodio.
- 3) profunda depleción del potasio muscular.
- 4) elevada mortalidad de las crías recién nacidas.
- 5) elevada concentración de fluoruro corporal de los animales recién nacidos.

INTRODUCCION

En trabajos anteriores (1) y (2) se describieron los efectos producidos, en las ratas, por la ingestión prolongada de dietas conteniendo distintas cantidades de fluoruro, en especial los referentes al consumo alimenticio, absorción y retención de fluoruro, actividad de determinados sistemas enzimáticos y contenido de fluoruro, calcio y magnesio en hueso al término de la experiencia.

Continuando con esos estudios, en el presente trabajo se describen las modificaciones producidas en las ratas hembras luego de la gestación.

Materiales y métodos

Se utilizaron ratas de la cepa Wistar. En el momento del destete se agruparon en lotes de 8 animales cada uno, constituidos por 6 hembras y 2 machos, los que comenzaron a ingerir las dietas experimentales y agua destilada "*ad libitum*".

Los animales se mantuvieron agrupados según el sexo; a los 90 días de edad se aparearon en la proporción de 3 hembras y 1 macho. Las ratas hembras fueron alojadas en jaulas individuales luego de la aparición de los tapones vaginales, índice de fecundación.

Parte de las crías recién nacidas fueron retiradas, sacrificadas (por anestesia con éter), secadas a 102°C durante 24 horas y molidas en un mortero reservándose para su análisis. Las ratas madres continuaron ingiriendo las dietas experimentales por un mes más, siendo luego sacrificadas por decapitación.

La sangre se recogió sobre heparina y el plasma fue separado por centrifugación, recogándose también los eritrocitos.

Los órganos que se indican más adelante fueron extraídos y mantenidos a -20°C hasta la realización de las determinaciones correspondientes.

Dietas

La composición de las dietas figura en la Tabla 1.

Se utilizó una dieta control que contenía 20% de caseína (dieta A) y 5 p.p.m. de fluoruro; la dieta D contenía también 20% de caseína, pero se le agregó fluoruro de sodio de modo que la concentración de fluoruro en la dieta fuese de 50 p.p.m.; la dieta H contenía, al igual que la D, 50 p.p.m. de fluoruro, pero éste provenía de harina de merluza (19%) utilizada como fuente proteica.

Finalmente un 4º lote estuvo constituido por animales que consumen la dieta habitual de nuestro criadero (Forramez) (dieta F) cuyo contenido de fluoruro es de 25 p.p.m.

TABLA N° 1
COMPOSICION DE LAS DIETAS
g/100 g

<u>Dieta</u>	<u>A</u>	<u>D</u>	<u>H</u>	<u>F</u>
Caseína ⁽¹⁾	20.00	20.00	-	-
Harina de pescado ⁽²⁾	-	-	19.00	-
Minerales ⁽³⁾	5.00	5.00	5.00	-
Vit. hidrosolubles ⁽³⁾	0.25	0.25	0.25	-
Vit. liposolubles ⁽³⁾	0.50	0.50	0.50	-
Aceite de maíz	4.50	4.50	4.50	-
Colina	0.15	0.15	0.15	-
Dextrina	69.60	69.49	70.60	-
Fluoruro de sodio	-	0.11	-	-
Farramez ⁽⁴⁾	-	-	-	100
Contenido en fluoruro p.p.m.	5.00 ⁽⁵⁾	50.00	50.00	25.00

- (1) Conteniendo 80% de proteínas (N × 6.25).
 (2) Conteniendo 80% de proteínas (N × 6.25) y 265 p.p.m. de fluoruro.
 (3) Harper, A. E. 1959. J. Nutr. 68, 405.
 (4) Dieta comercial que contiene 17.5% de proteínas provenientes de harinas de sorgo, de carne, de pescado y de soja, conteniendo 25 p.p.m. de fluoruro.
 (5) Proveniente de las materias primas empleadas.

Determinaciones realizadas y métodos

Plasma: Sobre las muestras de plasma recogidas en la forma anteriormente indicada se determinó: sodio, potasio, calcio y fosfatasa alcalina. Las determinaciones de sodio, potasio y calcio se realizaron por espectrofotometría de llama, utilizando un espectrofotómetro Beckman DU y llama de oxígeno-acetileno. Las lecturas se efectuaron a 590, 790 y 554 mμ respectivamente.

La fosfatasa alcalina se determinó por el método de Kind y King (3).

Glóbulos rojos: Se lavaron tres veces con solución isotónica de SO₄Mg (3.6%); se hemolizaron con agua desionizada y —previa centrifugación— se determinó su contenido en sodio y potasio del mismo modo que en plasma.

Músculo: Se utilizó el gastrocnemio, que se hidrolizó a 1 atm. durante 6 horas con 5 ml de $\text{ClH } 6 \text{ N}$, en tubos de polipropilene; el líquido resultante se filtró y se diluyó en forma adecuada para realizar las determinaciones de sodio y potasio por espectrofotometría de llama.

Hígado: Se determinó su contenido en proteínas totales, por el método de Marenzi y col. (4). Las fosfatasas ácida y alcalina se determinaron por el método de Kind y King, utilizando un homogenato en sucrosa 0.25 M. Para la determinación de la fosfatasa alcalina la reacción se efectuó utilizando un buffer de glicina de pH 9.5 y un buffer de citrato de pH 4.5 para la ácida (5) y (6).

Hueso: Se determinó el calcio por espectrofotometría de llama, previa mineralización con una mezcla de $\text{NO}_3\text{H}-\text{ClO}_4\text{H}$ (1:1) y dilución adecuada, realizando la lectura del mismo modo que en plasma. El magnesio se determinó por el método de Péres y Zwingelstein (7) y el fluoruro se determinó por el método de Büttner (8) modificado, utilizando cámaras de microdifusión de polipropileno de Obrink Nº 68.

Crías recién nacidas: Sobre las muestras preparadas en la forma anteriormente indicada se determinó fluoruro por el método de microdifusión de Wharton (9).

RESULTADOS Y DISCUSION

Determinaciones en hígado:

Como se observa en la Tabla 2 existe en el hígado una disminución del porcentaje de proteínas en los dos lotes conteniendo 50 p.p.m. de fluoruro (lotes D y H), aunque en el contenido de proteínas totales las diferencias no son significativas.

La fosfatasa alcalina (Tabla 2) se encuentra disminuída en el lote F solamente, tanto que se exprese como actividad por gramo de tejido, como si se la expresa como actividad específica.

La fosfatasa ácida se encuentra disminuída en los lotes F, D y H con respecto al lote control A; los resultados adquieren mayor uniformidad y las diferencias se hacen significativas

TABLA Nº 2
CONTENIDO DE PROTEINAS HEPATICAS Y ACTIVIDAD DE FOSFATASAS ACIDA Y ALCALINA

<u>Dieta</u>	<u>Nº de anim.</u>	<u>Proteínas</u>		<u>Fosfatasas</u> mg de fenol/g/hora		<u>Fosfatasas</u> mg de fenol/g prot/hora	
		<u>% (2)</u>	<u>Totales(g)(2)</u>	<u>Acida</u>	<u>Alcalina</u>	<u>Acida</u>	<u>Alcalina</u>
A	6	18.29±0.26 ⁽¹⁾	1.32±0.198	38.2±4.80	1.20±0.21	208.7 ±25.74	85.8 ±11.60
F	6	19.45±0.57	1.90±0.227	19.2±1.20 ⁽⁴⁾	0.66±0.05 ⁽⁴⁾	97.66 ±4.82 ⁽⁴⁾	33.90±2.56 ⁽⁴⁾
D	6	15.56±1.45	1.00±0.157	22.7±5.34	1.29±0.06	128.15 ±12.60 ⁽⁴⁾	87.5 ±4.73
H	6	15.75±1.02	1.32±0.097	17.9±1.41 ⁽³⁾	1.03±0.07	115.10 ±11.74 ⁽⁴⁾	68.6 ±7.72

(1) Media ± error estandar.

(2) Referido a peso fresco.

(3) Diferencia altamente significativa ($p < 0.001$) con respecto al lote A.

(4) Diferencia altamente significativa ($p < 0.01$) con respecto al lote A.

($p < 0.01$) cuando se expresan los resultados como actividad específica.

Los animales del lote F en el momento en que fueron sacrificados tenían un peso promedio mayor que los animales de los lotes restantes, aunque las diferencias no son estadísticamente significativas. Esta diferencia puede relacionarse a que la calidad de la dieta F no es idéntica a la de las dietas experimentales. Este hecho, explicaría la disminución de la actividad de la fosfatasa alcalina que se observa en dicho lote, puesto que la actividad de la fosfatasa alcalina hepática está relacionada con el régimen alimenticio, disminuyendo con el aumento de peso corporal (10).

En trabajos anteriores (1) hemos observado una ligera disminución de la fosfatasa ácida sólo cuando se ingieren dietas con 100 p.p.m. de fluoruro, por lo tanto la disminución significativa en la actividad de dicho sistema enzimático que se observa en los lotes F, D y H no podría atribuirse a la acción del fluoruro de la dieta, puesto que su concentración en estas dietas es sólo de 50 p.p.m. Esta disminución podría en cambio relacionarse con la movilización del fluoruro óseo que en forma paralela al del calcio se produce durante la gestación. Debido a ello posiblemente se alcance durante ese período una concentración de fluoruro en los tejidos blandos suficientemente elevada como para que actúe afectando la actividad de dicho sistema enzimático.

Determinaciones en hueso y plasma:

Los valores hallados para la fosfatasa alcalina indican que ésta se halla disminuía en los lotes D y H (dietas con elevado contenido en fluoruro) con respecto a los lotes A y F (Tabla 3), aunque en todos los casos los valores son más elevados que los obtenidos en ratas en condiciones fisiológicas normales alimentadas por 7 meses con dietas que contenían 100 p.p.m. de fluoruro (1).

Además los lotes D y H contienen una concentración de calcio y fluor óseo significativamente superior a los lotes A y F, siendo en cambio significativamente inferior en ellos la concentración de calcio plasmático (Tablas 3 y 4).

TABLA N° 3
CALCIO Y FOSFATASA ALCALINA EN PLASMA

Dieta	Nº de anim.	Calcio	Fosfatasa alcalina
		mg/100 ml	U.K./100 ml ⁽²⁾
A	6	13.70 ± 1.08 ⁽¹⁾	15.6 ± 0.58
F	6	14.40 ± 0.81	13.2 ± 0.90
D	6	11.10 ± 0.66 ⁽³⁾	11.0 ± 3.40 ⁽³⁾
H	6	10.30 ± 0.96 ⁽³⁾	11.9 ± 3.14

(1) Media ± error estandar.

(2) Unidades King/100 ml.

(3) Diferencia significativa ($p < 0.05$) con respecto al lote A.

Los resultados aquí obtenidos evidencian la marcada influencia del proceso de gestación, con respecto a los valores encontrados en animales en condiciones normales.

La movilización del calcio y del fluoruro óseo que se produce durante la gestación se traduce en la baja concentración de ambos en el hueso, en el elevado contenido de calcio plasmático y en los valores elevados de actividad de fosfatasa alcalina (Tabla 3 y 4), que se observan en los lotes A y F.

En los lotes D y H la menor actividad de la fosfatasa alcalina respecto a los lotes A y F, indicaría que el elevado contenido de fluoruro en estas dietas se sumaría el fluoruro proveniente de la movilización ósea de modo que se incrementarían el porcentaje de fluoruro plasmático a niveles capaces de afectar la actividad de la misma, aún durante el postpartum. El alto contenido de calcio en los huesos de estas ratas no puede por lo tanto ser atribuido a un aumento de la actividad de esta enzima como sucede en los animales fisiológicamente normales (1), sino más bien, a una acción directa del fluoruro en el tejido óseo.

Electrolitos

Existen ciertas analogías entre las curvas de consumo de 24 horas, de animales en depleción proteica que ingieren dietas desequilibradas en su composición en aminoácidos (12)

con las de los animales que ingieren dietas conteniendo 50 p.p.m. de fluoruro (2).

Por otra parte se ha comprobado que los animales que ingieren dietas desequilibradas en aminoácidos, muestran alteraciones en su contenido electrolítico (12). Por estas razones hemos tratado de verificar si en los animales que reciben las dietas con fluoruro existen también modificaciones en el contenido de electrolitos similares a las observadas en las primeras.

TABLA Nº 4
CONTENIDO DE CALCIO, MAGNESIO Y FLUORURO EN HUESO

<u>Dieta</u>	<u>Nº de anim.</u>	<u>Calcio</u>	<u>Magnesio</u>	<u>Fluor</u>
		g/100 g de tejido seco	g/100 g de tejido seco	ppm ⁽²⁾
A	6	11.53 ± 0.33 ⁽¹⁾	0.342 ± 0.012	67 ± 9
F	6	11.80 ± 0.33	0.448 ± 0.016 ⁽³⁾	250 ± 33 ⁽⁴⁾
D	6	14.49 ± 0.28 ⁽³⁾	0.442 ± 0.019 ⁽³⁾	1550 ± 31 ⁽³⁾
H	6	14.57 ± 0.31 ⁽³⁾	0.340 ± 0.018	637 ± 50 ⁽³⁾

(1) Media ± error estandar.

(2) Referido a peso seco.

(3) Diferencia altamente significativa ($p < 0.001$) con respecto al lote A.

(4) Diferencia altamente significativa ($p < 0.01$) con respecto al lote A.

TABLA Nº 5
CONCENTRACION DE SODIO Y POTASIO EN PLASMA

<u>Dieta</u>	<u>Nº de anim.</u>	<u>Sodio (mEq/l)</u>	<u>Potasio (mEq/l)</u>	<u>Relación sodio/potasio</u>
A	6	172.0 ± 2.06 ⁽¹⁾	7.0 ± 0.58	24.7 ± 2.45
F	6	155.0 ± 2.50 ⁽³⁾	8.4 ± 0.30	18.5 ± 0.68 ⁽³⁾
D	6	114.4 ± 2.55 ⁽²⁾	4.9 ± 0.47 ⁽⁴⁾	23.8 ± 2.11
H	6	122.8 ± 1.55 ⁽²⁾	3.5 ± 0.20 ⁽²⁾	34.2 ± 1.75 ⁽³⁾

(1) Media ± error estandar.

(2) Diferencia altamente significativa respecto al lote A ($p < 0.01$).

(3) Diferencia altamente significativa respecto al lote A ($p < 0.01$).

(4) Diferencia significativa respecto al lote A ($p < 0.05$).

TABLE N° 6
CONTENIDO EN SODIO Y POTASIO DE LOS GLOBULOS ROJOS(2)

<u>Dieta</u>	<u>Nº de anim.</u>	<u>Sodio</u>	<u>Potasio</u>	<u>Relación potasio/sodio</u>
A	6	19.4± 3.21 ⁽¹⁾	207.7±15.10	10.9±0.93
F	6	21.1± 5.29	189.3±15.30	10.3±1.35
D	6	38.3±11.15	209.0±28.40	7.5±2.35
H	6	17.8±2.13	152.1±7.50 ⁽³⁾	8.4±2.05

(1) Media ± error estandar.

(2) M Eq/kg células secas.

(3) Diferencia significativa ($p < 0.01$) respecto al lote A.

TABLE N° 7
CONTENIDO EN SODIO Y POTASIO DEL MUSCULO(2)

<u>Dieta</u>	<u>Nº de anim.</u>	<u>Sodio</u>	<u>Potasio</u>	<u>Relación potasio/sodio</u>
A	6	17.9±0.53 ⁽¹⁾	61.8±0.46	3.5±0.11
F	6	21.1±0.55 ⁽³⁾	68.1±1.29 ⁽⁴⁾	3.2±0.05
D	6	25.8±1.10 ⁽³⁾	20.9±1.29 ⁽⁴⁾	0.8±0.04 ⁽⁴⁾
H	6	25.6±1.02 ⁽³⁾	22.1±2.00 ⁽⁴⁾	0.9±0.05 ⁽⁴⁾

(1) Media ± error estandar.

(2) M Eq/Kg de tejido fresco.

(3) Diferencia altamente significativa ($p < 0.01$) respecto al lote A.

(4) Diferencia altamente significativa ($p < 0.001$) respecto al lote A.

Los resultados obtenidos señalan que:

a) En plasma (Tabla 5) se observa una disminución del contenido de sodio en los lotes F, D y H, y del potasio en los lotes D y H respecto al Control A.

Estas diferencias son en todos los casos estadísticamente significativas. Sin embargo, la relación sodio/potasio se mantiene sin alteraciones en el lote D y disminuída en el lote F, con respecto al lote control A.

b) En glóbulos rojos (Tabla 6) el contenido de sodio no presenta modificaciones significativas, y el potasio solamente

en el lote H muestra una disminución estadísticamente significativa, con respecto al lote control A.

Pese a ello la relación potasio/sodio muestra una disminución en lotes D y H que no alcanza a ser significativa debido a la dispersión de algunos datos.

c) En músculo (Tabla 7) se observa una profunda depleción del contenido de potasio en los lotes D y H. En contraposición el contenido de sodio está aumentado; ello hace que la relación potasio/sodio esté significativamente disminuída en los lotes D y H, con respecto al lote control A.

Del estudio de estos valores se deduce que si bien existen profundas modificaciones, éstas son diferentes a las producidas por la ingestión de dietas desequilibradas: en estos animales se encuentra un aumento del potasio intraglobular (con aumento de la relación potasio/sodio), una disminución de la relación potasio/sodio en cerebro, no observándose modificaciones a nivel de plasma y músculo. En contraposición, la ingestión de las dietas con fluoruro producen modificaciones, sobre todo a nivel de plasma, músculo y de menor intensidad en los glóbulos rojos, lo cual parece indicar la existencia de una profunda alteración metabólica de distinta naturaleza a la responsable de las alteraciones descritas en los animales que ingieren dietas desequilibradas en aminoácidos.

El fluoruro "in vitro" inhibe la enolasa (13), y la ATPasa (14), (15). El glóbulo rojo depende en un 90% de la glucólisis anaerobia (ciclo de Embden Meyerhoff) para el aporte del ATP necesario para el normal funcionamiento de la bomba de sodio (16): si éste no se realiza con la eficiencia adecuada la bomba de sodio se verá comprometida y el intercambio potasio/sodio, que la bomba realiza contra un gradiente, estará afectado. Este hecho se traducirá en un aumento del contenido de sodio, disminución del de potasio y una disminución de la relación potasio/sodio. Este mecanismo es el responsable de que "in vitro" el fluoruro cause depleción de potasio intraglobular, siendo dicho efecto disminuído por el agregado de piruvato (15).

En experiencias anteriores hemos encontrado inhibición de la colinesterasa plasmática con dietas conteniendo 25 y 100 p.p.m. de fluoruro. Si bien podría esta inhibición ser la res-

ponsable de la depleción de potasio en el eritrocito, Taylor y col. han demostrado, utilizando inhibidores del tipo de la eserina, que ambos hechos no guardan correlación (17) ya que la concentración del inhibidor necesaria para producir depleción de potasio es 10 veces mayor que la necesaria para inhibir la colinesterasa del eritrocito. En consecuencia la alteración electrolítica debe ser la consecuencia de la inhibición sobre alguno de los sistemas enzimáticos mencionados anteriormente.

En músculo la depleción de potasio es mucho más intensa (Tabla 7). Aquí se sumaría a la acción inhibitoria del fluoruro sobre la enolasa su acción bloqueante a nivel de la formación de Acetil-CoA para comenzar el ciclo de Krebs (18) por lo que la alteración sería de mayor intensidad.

TABLA N° 8
CONTENIDO EN FLUORURO DE LAS CRIAS RECIEN NACIDAS

<u>Dieta</u>	<u>Nº de anim.</u>	<u>Fluoruro (ppm)</u>
A	6	4.2 ± 1.22 ⁽¹⁾
F	6	10.5 ± 0.76 ⁽³⁾
D	6	16.9 ± 0.49 ⁽²⁾
H	6	12.5 ± 0.57 ⁽²⁾

(1) Media ± error estandar.

(2) Diferencia altamente significativa ($p < 0.001$) respecto al lote A.

(3) Diferencia altamente significativa ($p < 0.01$) respecto al lote A.

Contenido de fluoruro en las crías:

En la Tabla 8 se observa que el contenido de fluoruro en las crías de los lotes D, F y H está significativamente aumentado con respecto al lote control A.

El pasaje de fluoruro a través de la placenta ha sido un punto altamente discutido. Feltman y Kosel en humanos (19) encuentran niveles más altos de fluoruro en la sangre del cordón de mujeres que han ingerido fluoruro durante el embarazo con objeto de prevenir la aparición de caries en el chico. Estos hechos así como los datos hallados en la presente expe-

riencia confirman la existencia del pasaje de fluoruro a través de la placenta.

Fluoruro y harinas de pescado:

En general se sostiene que el fluoruro de las harinas de pescado es absorbido en menor proporción que el incorporado en la dieta como fluoruro de sodio. Es así como Zipkin y col. (20) en base a sus experiencias deducen que el fluoruro de los concentrados proteicos de pescado es solamente utilizable entre un 25% y un 50% con respecto al agregado como fluoruro de sodio. Estos autores no han realizado estudios de balance de fluoruro sino que fundamentan sus conclusiones sobre la base del fluoruro depositado en los tejidos duros. Sus resultados en ese sentido son semejantes a los hallados por nosotros (Tabla 4).

Sin embargo, nuestros estudios de absorción (21) y los resultados que se reflejan en las modificaciones enzimáticas o en el contenido de electrolitos descriptos en la presente experiencia están indicando que la utilización del fluoruro procedente de las harinas de pescado no es diferente del incorporado como fluoruro de sodio. Los estudios de balance de Spencer y col. (22) en humanos indican también igual porcentaje de absorción en el fluoruro procedente de ambas fuentes.

El análisis de las modificaciones halladas en el contenido de electrolitos muestran que:

a) Las alteraciones a nivel muscular encontradas en el lote H son similares a las halladas en el lote D: depleción de potasio y aumento de sodio, con disminución de la relación potasio/sodio (Tabla 7).

b) En el plasma, en ambas dietas H y D, existe una disminución del contenido de sodio y potasio que es significativa, con respecto al lote A. La relación sodio/potasio se mantiene normal en la dieta D, pero está aumentada en la H ($p < 0.01$) (Tabla 5).

c) En el glóbulo rojo ocurre un fenómeno similar: la relación potasio/sodio está ligeramente disminuída en los lotes H y D, con respecto al control A pero existe depleción de potasio en el lote H ($p < 0.01$) (Tabla 5) y no en el D.

Todos estos hechos confirman que el desequilibrio electro-lítico es aún mayor en la dieta a base de harina de pescado que en la de caseína, con iguales concentraciones de fluoruro.

La depleción de potasio que se observa en la dieta H no puede atribuirse a una menor concentración de potasio en la dieta, puesto que todas las dietas experimentales contienen la misma cantidad (490 mg/100 g de dieta) proveniente de la mezcla de sales; a esa cifra todavía hay que agregar, en la dieta H, el potasio presente en la harina de pescado (40 mg por 100 g de dieta).

Todo lo anteriormente expuesto estaría indicando un efecto más pronunciado del fluoruro de la dieta que contiene harina de pescado que el de la caseína, a iguales concentraciones. Este hecho no puede correlacionarse con los resultados de absorción, que como hemos visto, son semejantes en ambos casos. Esta diferencia podría explicarse en cambio en razón de que en las harinas de pescado, el fluoruro se halla bajo forma de compuestos de calcio ya que procede fundamentalmente de los tejidos duros, por lo cual su absorción es lenta y gradual por liberación progresiva en el tracto digestivo del fluoruro de esos compuestos; ello se traduciría en el mantenimiento durante más tiempo, de niveles elevados de fluoruro en los flúidos orgánicos, con los efectos consiguientes.

Graham y col. (23) utilizando concentrados proteicos de pescado en la recuperación de niños con malnutrición, observaron que la recuperación no era tan rápida como cuando se utilizaba leche descremada, pese a que el valor biológico de tales concentrados proteicos, determinado por el método del PER, era superior al de la caseína. Observaron también que los niños alimentados con esos concentrados proteicos eran incapaces de repleccionar los niveles de albúmina plasmática y posiblemente de otras proteínas lábiles corporales.

En Sud Africa, Pretorius y col. (24) con dietas semejantes han encontrado resultados todavía menos satisfactorios. Sin embargo han observado que suplementando con potasio esas dietas a base de harina de pescado mejoraba la retención nitrogenada, y la recuperación de los niños era similar a la de los tratados con leche descremada. Estos autores atribuyen las diferencias al bajo contenido en potasio de las harinas

de pescado, puesto que se sabe que se necesitan cantidades adecuadas de potasio para que el metabolismo proteico se realice eficientemente (25).

Es posible que los resultados encontrados por Pretorius y Graham no sean debidos totalmente al bajo contenido en potasio de las dietas sino también a la presencia de fluoruro en las harinas de pescado. En los niños con malnutrición existe una profunda depleción de potasio. La presencia de fluoruro impediría una adecuada respuesta que obligaría al uso de un suplemento de potasio más elevado para restaurar el equilibrio nitrogenado.

SUMMARY

Some biochemical post-partum alterations in rats produced by chronic fluoride intake

Post-partum effects were studied in rats which had been fed diets containing 50 p.p.m. fluoride from weaning.

The results obtained showed the following changes:

- 1) Plasma: Decreased alkaline phosphatase activity.
Decreased concentration of calcium sodium and potassium.
- 2) Erythrocytes: Abnormal potassium to sodium ratio.
- 3) Muscle: Marked potassium depletion.
- 4) Pups: High concentration of fluoride in the pups with a high percentage of mortality.

BIBLIOGRAFIA

1. Portela, M. L. P. M. de y J. C. Sanahuja. Efectos bioquímicos de la ingestión prolongada de fluor, en la rata. *Arch. Latinoamer. Nutr.* 22, 291-308, 1972.
2. Portela, M. L. and J. C. Sanahuja. Influence of dietary fluoride on food consumption and plasma amino acids in the rat. *Nutr. Rep. Int.*, 2, 193-201, 1970.
3. Kind, P. R. and E. J. King. Estimation of plasma phosphatase by determination of hidrolized phenol with amino-antipyrine. *J. Clin. Path.*, 7, 322-326, 1954.
4. Marenzi, A., J. Moglia y F. Vilallonga. Estudio comparativo de algunos métodos de valoración de las proteínas del suero. I: Proteínas totales. *An. Cent. Invest. Tis.* 9, 133-143, 1945.
5. Ross, M. H., J. O. Ely and J. G. Arches. Alkaline phosphatase activity and pH optima. *J. Biol. Chem.* 192, 561-568, 1951.
6. Nelson, B. D. Rat liver acid phosphatase: differences in lysosomal and cytoplasmatic forms. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 121, 998-1001, 1966.
7. Péres, G. et Zwingelstein. Contribution a l'étude du dosage du magnesium dans les tissus animaux. *Bull. Soc. Sciences Veterin. de Lyon*, 64, 347-351, 1962.

8. Bütter, V. W., S. Schulke und S. Soyka. Eine einfache Bestimmung Kleiner Mengen von Fluor (5-30 ug.) in Knochen und Zahnhartgeweben durch Diffusion. *Deuts. Zahnärztl. Zeitschr. Heft.*, 1, 25-33, 1963.
9. Wharton, H. W. Isolation and determination of microgram amounts of fluoride in materials containing calcium and orthophosphate. *An-Chem.*, 34, 1296-1298, 1962.
10. Ross, M. H. Aging, nutrition and hepatic enzyme activity patterns in the rat. *J. Nutr.*, 97, 563-601, 1969.
11. Sanahuja, J. C. and M. E. Río. Effect of imbalanced diets containing natural proteins on appetite and body composition in the rat. *J. Nutr.*, 95, 295-302, 1968.
12. Río de Gómez del Río, M. E., M. L. P. M. de Portela y J. C. Sanahuja. Las modificaciones del contenido de potasio y sodio del organismo, en relación a la ingestión de proteínas desequilibradas, por la rata en crecimiento. II Reunión Científica de S.L.A.N. Chile, 2-6-12, 1970.
13. Warburg, O. and W. Christian. Isolierung und Kristallisation des Gärungsfermente Enolase. *Biochem. Z.*, 310, 384-390, 1942.
14. Opit, L. J., H. Potter and J. S. Carnock. The effect of anions on (Na^+K^+) activated ATPase. *Biochim. Biophys. Acta*, 120, 159-161, 1966.
15. Eckel, R. E. Effect of fluoride on potassium transfer in human erythrocytes in vitro. *Fed. Proc.*, 12, 317-318, 1953.
16. Oski, F. A. The metabolism of erythrocytes and its relation to hemolytic anemias in the newborn. *Ped. Clin. N. America*, 12, 687-711, 1965.
17. Taylor, I. M., J. M. Weller and A. B. Hastings. Effect of cholinesterase and cholinacetylase inhibitors on the potassium exchange of human erythrocytes. *Amer. J. Physiol.*, 168, 658-665, 1952.
18. Aisemberg, A. C. and R. Van Potter. Effect of fluoride and dinitrophenol on acetate activation in kidney and liver homogenates. *J. Biol. Chem.*, 215, 737-749, 1965.
19. Feltman, R. and G. Kossel. Prenatal ingestion of fluoride and their transfer to the foetus. *Science*, 122, 560-561, 1955.
20. Zipkin, I., S. M. Zugas and B. R. Stillings. The availability of fluoride from fish protein concentrate. *J. Nutr.*, 100, 293-299, 1970.
21. Portela, M. L. P. de. Efectos nutricionales y bioquímicos del fluoruro: su interrelación con otros elementos de la dieta. Tesis. Universidad de Buenos Aires, 1971.
22. Spencer, H., D. Osis, E. Wiatrowski and J. Samachson. Availability of fluoride from fish protein concentrate and from sodium fluoride in man. *J. Nutr.*, 100, 1415-1424, 1970.
23. Graham, G. G., J. M. Baertf and A. Cordano. Dietary protein quality in infants and children. *Amer. J. Dis. Child.*, 110, 257-259, 1965.
24. Pretorius, P. J. and Wehmeyer A. S. An assesment of nutritive value of fish flour in the treatment of convalescent kwashiorkor patients. *Am. J. Clin. Nutr.* 14, 147-149, 1964.
25. Sanslone, W. R. and E. Muntwyler. Intracellular pH changes associated with protein and potassium deficiency. *Metabolism*. 17, 1084-1093, 1968.