

JAIME APARECIDO CURY

**Estudo do Metabolismo do Fluor em Função da Sua Administração
a Ratas por Períodos Pré-natais Sucessivos**

Tese apresentada para o Concurso de
Livre-Docente na Área de Bioquímica do
Departamento de Ciências Fisiológicas da
Faculdade de Odontologia de Piracicaba,
UNICAMP

PIRACICABA - S. P.

1984

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Neste momento crítico nacional de indefinição de valores, dedico este trabalho a minha esposa ALTAIR, que na comunhão de ideais tem possibilitado que preservemos uma conduta independente do ambiente, irradiando-a para que no futuro, ANDRÊ e RENATA, nossos filhos, com autonomia expressem livremente a verdade.

AGRADECIMENTOS

Pedindo desculpas àqueles que possam ter sido esquecidos, agradeço às pessoas que efetivamente tornaram possível a realização deste trabalho:

Ao senhor *MOYSÉS JOSÉ MARIA DA SILVA*, pela colaboração no manuseio dos animais;

ao jovem *WALDOMIRO VIEIRA FILHO*, técnico de laboratório da Área de Bioquímica desta Faculdade, pela indispensável participação na parte experimental deste trabalho, e também pelo traçado dos gráficos, desenhos e diagrama desta tese;

à senhora *MARIZA DE JESUS CARLOS SOARES*, técnica de laboratório da Área de Bioquímica desta Faculdade, pela efetiva colaboração nas análises laboratoriais;

ao Dr. *ALCIDES GUIMARÃES*, Professor Livre-Docente de Fisiologia desta Faculdade, pelo fornecimento das ratas para o início deste trabalho;

ao Dr. *RENÉ GUERRINI*, Professor Titular de Odontopediatria desta Faculdade, pelo empréstimo das gaiolas;

ao Dr. *PEDRO BERTOLINI*, Professor Titular de Microbiologia e Imunologia desta Faculdade, no momento aposentado, pela utilização da sala de biotério;

à senhorita *MARIA APARECIDA NALIN* pelo eficiente serviço de datilografia e pelo atendimento que sempre me prestou;

ao Dr. *GUILHERME BLUMEN*, Professor Titular de Histologia e Embriologia desta Faculdade, pela gentileza de permitir o uso da máquina de datilografia do Departamento sob sua chefia.

C O N T E Ú D O

	Pag.
INTRODUÇÃO	1
REVISTA DA LITERATURA	4
1. FLUORETO NO SANGUE vs O INGERIDO	5
2. FLUORETO NO SANGUE vs A DO OSSO	10
3. FLUORETO NO SANGUE vs DO DENTE	20
4. FLUORETO NO SANGUE MATERNO vs FETO	28
5. FLUORETO NO SANGUE vs TOXICIDADE	35
MATERIAL E MÉTODOS	39
1. ANIMAIS	40
2. MÉTODOS	42
RESULTADOS	51
1. FUNCIONAMENTO DO ELETRODO	52
2. CONCENTRAÇÃO DE ÍON FLUOR NOS FILHOTES	54
3. CONCENTRAÇÃO DE ÍON FLUOR NO PLASMA DAS RATAS	60
4. CONCENTRAÇÃO DE ÍON FLUOR NO FEMUR DAS RATAS: NO OSSO TOTAL PULVERIZADO	64
5. CONCENTRAÇÃO DE ÍON FLUOR NO FEMUR DAS RATAS: ANÁLISE ESTRATIFICADA PERIÓSTEO - ENDÓSTEO	69
6. CONCENTRAÇÃO DE ÍON FLUOR NA MANDÍBULA DAS RATAS ...	81
7. CONCENTRAÇÃO DE ÍON FLUOR NOS DENTES INCISIVOS DAS RATAS	85
8. CORRELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE ÍON FLUOR NOS FILHOTES COM A DO PLASMA DAS RATAS	90
9. CORRELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE ÍON FLUOR NO PLASMA COM AS DO FEMUR E MANDÍBULA DAS RATAS	92
10. CORRELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE ÍON FLUOR NOS DENTES COM AS DO PLASMA DAS RATAS	96

DISCUSSÃO	98
1. FLUORETO NO SANGUE	99
2. FLUORETO NOS FILHOTES	102
3. FLUORETO NOS OSSOS	107
4. FLUORETO NO DENTE	113
CONCLUSÕES	116
RESUMO	119
SUMMARY	121
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	123

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
FIGURA 1	53
FIGURA 2	56
FIGURAS 3 e 4	58 e 59
FIGURAS 5 e 6	62 e 63
FIGURA 7	65
FIGURAS 8 e 9	67 e 68
FIGURAS 10 a 19	71 a 80
FIGURAS 20 e 21	83 e 84
FIGURAS 22 e 23	88 e 89
FIGURA 24	91
FIGURAS 25 a 27	93 a 95
FIGURA 28	97

ÍNDICE DE TABELAS

	Pág.
TABELA I	53
TABELA II	57
TABELA III	61
TABELA IV	66
TABELA V	82
TABELA VI	87

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

A obtenção de um estado de equilíbrio é uma condição desejável aos seres vivos. Particularmente, com relação ao fluoreto* (F), a condição de um estado de equilíbrio em sua concentração sanguínea implicaria em uma situação em que se esperaria uma relação dose-efeito diretamente proporcional. Os estudos do metabolismo do fluor** mostram duas linhas antagônicas de pensamento. Assim, SINGER E ARMSTRONG (1960), ARMSTRONG (1961), SINGER e ARMSTRONG (1964), ARMSTRONG e SINGER (1972) e MURRAY (1976) afirmam que a concentração de fluoreto no sangue é mantida constante, independente da dose ingerida, sugerindo que mecanismos reguladores existem no organismo animal. Por outro lado, TAVES e GUY (1979) sustentam que não existem evidências para um controle homeostático da concentração de fluoreto no sangue e deste modo o modelo simples de HALL e cols. (1977) explicaria adequadamente o comportamento deste íon no sangue. Segundo estes autores, o sangue funcionaria como um compartimento central interligando, através coeficientes de velocidade de transferência de fluoreto, os demais compartimentos do organismo.

Em face disto e da indefinição quanto a su-

* Ou íon fluor - forma iônica e fisiologicamente ativa do elemento fluor.

** Termo genérico para indicar as formas - iônica, ionizante e não ionizante do elemento fluor.

plementação de fluor pré-natal (HOROWITZ, 1980), o objetivo deste trabalho foi estudar a relação entre a concentração de fluoreto ingerida e a encontrada nos vários compartimentos do organismo de ratas prenhes, assim como verificar a interrelação dos mesmos.

REVISTA DA LITERATURA

REVISTA DA LITERATURA

1. FLUORETO NO SANGUE vs O INGERIDO

A quantificação de fluor em amostras biológicas foi por um século uma fonte de frustração e controvérsia entre pesquisadores. A observação de que silicone facilita a separação do fluoreto por difusão, a técnica de extração e a introdução do eletrodo específico para íon fluor permitiram demonstrar que o plasma humano contém formas orgânicas (derivado do ácido perfluorooctanóico) e inorgânicas de F, fornecendo subsídios para o melhor entendimento do metabolismo do íon fluor (GUY, 1979).

Em 1950, SMITH, GARDNER e HODGE relataram que quando a concentração de fluoreto na água de abastecimento aumentava de dezenove vezes (0,06 a 1,12 ppm), a concentração no sangue aumentava de três vezes (0,014 a 0,040 ppm).

Entretanto, SINGER e ARMSTRONG divulgaram em 1960 que havia uma constância na concentração de fluoreto no plasma de indivíduos ingerindo água de 0,15 a 2,5 ppmF, observando-se somente uma ligeira elevação quando água de abastecimento continha 5,4 ppmF.

BRZEZINSKI e cols. (1961) estudaram o metabolismo do fluor em ratas prenhes e não prenhes submetidas a uma dieta cuja água continha de zero a 100 ppmF. Somente quando a ingestão excedeu 14,55 ppmF é que houve um ligeiro aumento na concentração de fluoreto no sangue, não havendo diferenças quer estivessem os animais prenhes ou não.

Resultados semelhantes foram obtidos por SINGER e ARMSTRONG (1964). A ratos recém desmamados foi fornecida água contendo de zero a 50 ppm de fluoreto por 60 dias. Imediatamente após esse tratamento ou seguida da ingestão de água destilada por mais 30 dias, os resultados mostraram que a concentração de fluoreto no soro se manteve constante em todos os grupos.

TAVES em 1966 publicou os resultados de um novo método de análise de fluoreto no sangue, advertindo que os valores geralmente aceitos para a concentração de F no sangue eram tão altos como um fator de dez, sugerindo que as publicações na literatura apresentavam um mesmo erro constante e relativamente grande.

Em 1968, COX e BACKER DIRKS apresentaram evidências de que a concentração de fluoreto no soro era função da quantidade de água fluoretada ingerida. Assim, em 10 operários com alta ingestão, a concentração de F era de 0,07 ug/ml as 8 da manhã e de 0,09 as 3 da tarde, sendo que no grupo controle da mesma fábrica, os valores se mantiveram em 0,05 ug/ml.

Em uma revisão da literatura e citando dados pessoais, ARMSTRONG e SINGER (1972) relataram que ratos alimentados com produtos comerciais próprios para roedores (60-80 ppmF) podem tolerar até 75 ppm de fluoreto na água sem que se altere apreciavelmente a concentração plasmática de F.

PORTELA e SANAHUJA (1972) forneceram a ratos desmamados uma dieta com 5, 25 ou 100 ppm de F, durante 7 meses. Após este período a análise de F no plasma mostrou

valores semelhantes e de respectivamente 1,2, 1,1 e 1,2 ppm.

Uma correlação positiva entre a concentração de fluoreto na água de abastecimento e a encontrada no plasma foi observada por GUY e TAVES (1973). Em uma região com 0,1 ppmF na água o plasma acusou um valor de 0,41 uM, enquanto que com 5,6 ppm, 4,3 uM foi encontrado no plasma.

JARDILLIER e DESMET (1973) também observaram que a concentração de fluoreto no soro depende da sua concentração na água de abastecimento. Assim, em região com 0,2 ou 3,8 ppmF, encontra-se respectivamente no plasma $3,3 \times 10^{-6}M$ e $6,7 \times 10^{-6}M$.

Em uma região com água fluoretada a 0,2 ppm, HANHIJÄRVI (1975) encontrou no plasma das pessoas 0,88 umol/l de F, enquanto que em outra região com 1,0 ppm o valor obtido foi de 1,3 umol/l.

HELLSTRÖM em 1976, relatou que a concentração de fluoreto no plasma era função da sua concentração na água e nos alimentos. Assim, em crianças bebendo água com 0,25 ppmF, observa-se no plasma 0,024 ppm, enquanto que aquelas residindo em região com água fluoretada a 1,2 ppm, foram encontrados no plasma os valores de 0,045 e 0,027, quer respectivamente fossem estas alimentadas por mamadeira, ou no seio.

Realizando em coelhos um estudo cinético do metabolismo do fluoreto, HALL e cols. em 1977 determinaram que para manter um estado de equilíbrio do fluoreto em todos os compartimentos do organismo seria necessário a presença de 369 ug F nos intestinos. Quando um equilíbrio em todo o sistema de compartimentos for alcançado, a concentração no

plasma será diretamente proporcional à média de ingestão diária de fluoreto. Uma resposta linear para uma faixa grande de dose foi sugerida.

EKSTRAND e cols. (1977) estudaram a farmacocinética do fluoreto em humanos observando que após a ingestão de 1,5 a 10,0 mg de F a concentração no plasma que era 9,4 ng/ml se elevava alcançando após 30 minutos um pico de concentração linear com a dose. Relataram também que um estado de equilíbrio (54 a 145 ng/ml) do fluoreto no plasma foi conseguido após múltiplas doses de 3,0 ou 4,5 mg de F.

Em 1978, EKSTRAND divulgou um experimento em que constatou em indivíduos ingerindo água fluoretada a 9,6, 1,2 e 0,25 ppm, que havia uma flutuação diurna na concentração plasmática de fluoreto, a qual era mais acentuada nas pessoas da região com 9,6 ppmF.

Administrando a ratos de um mês água com 0,2, 56,5 e 113 ppm de fluoreto, FEJERSKOV e cols. (1979) verificaram que dois meses após houve um significativo aumento de F no plasma, de respectivamente valores aproximados de 0,04, 0,10 e 0,25 ng/ml.

Uma relação linear entre a concentração de fluoreto na água (0,1, 1,0, 2,4 e 4,6 ppmF) de cidades dos Estados Unidos e a concentração de F no soro dos seus habitantes foi relatada por TAVES e GUY (1979).

Citando trabalhos não publicados, TAVES e GUY (1979) relatam que administrando a ratos durante 100 dias ração com 30 ppm de F e água com concentração variando de 2,5 a 10,0 mM, não se observou uma linearidade entre a concentração de fluoreto ingerida pelos animais e a encon-

trada nos seus soros. No soro dos animais ingerindo água destilada havia $1,2 \pm 0,2$ uM de F. Quando utilizou-se uma ração com menos de 1 ppm de F, as mesmas concentrações de água fluoretada e deixando os ratos de jejum por 16 horas antes do sacrifício, não se observaram no plasma diferenças entre os grupos após 6 ou 12 semanas de tratamento, mas a relação entre as concentrações de F na água e no soro foi quase linear. A concentração de F no soro dos animais ingerindo água destilada foi de 0,3 uM após 6 semanas e de $0,32 \pm 0,03$ após 12 semanas.

Em 1981, EKSTRAND e cols. publicaram uma pesquisa em que forneceram a ratos água com 25, 50, 100 e 150 ppm de fluoreto por um período de 79 dias. Eles observaram que foram necessários 14 dias para que se atingisse um estado de equilíbrio aparente na concentração plasmática de fluoreto, sendo encontrada uma estreita relação entre a concentração de fluoreto na água e a do plasma (50 ± 9 , 79 ± 14 , 105 ± 15 e 168 ± 22 ng/ml). Quando suspendeu-se o fornecimento de água fluoretada foi notado durante 48 horas um rápido declínio na concentração de fluoreto no plasma. A concentração de fluoreto no grupo de 25 ppm retornou ao valor quando do início do experimento (20,0 ng/ml). Nos grupos de 50 e 100 ppm, decresceu e permaneceu em torno de 40 ng/ml, sendo que no grupo que ingeriu água com 150 ppm de F permaneceu com aproximadamente 50 ng/ml até o final do experimento (69 dias de ingestão de água fluoretada e 13 dias de água destilada).

2. FLUORETO NO SANGUE vs A DO OSSO

Poucos trabalhos na literatura apresentam uma relação entre a concentração de fluoreto ingerido, a do plasma e suas inter-relações com a do osso. Assim, além de revisá-los, outros trabalhos sobre metabolismo do fluoreto no osso serão apresentados:

SAVCHUCK e ARMSTRONG em 1951 publicaram os resultados de um estudo do metabolismo do fluoreto no esqueleto de ratos jovens e adultos, após administrarem aos mesmos água fluoretada a 20 ppm por 60 dias seguida de água destilada por um período de até 150 dias. Observaram que: a) o fluoreto se acumulou no osso progressivamente, mas com decréscimo de incrementos em função do tempo, e que os ratos jovens retiveram maior quantidade do fluoreto ingerido do que os animais adultos (43 vs 29%); b) Quando foi suspensa a administração do fluor, houve uma eliminação de aproximadamente 10-15% do fluoreto acumulado no esqueleto. Essa mobilização ocorreu num período de 40 dias, a maioria da qual aconteceu após 20 dias. O restante do fluoreto esquelético permaneceu firmemente fixado.

Resultados semelhantes foram obtidos por ZIPKIN e McCLURE (1952) os quais forneceram a ratos de 30 a 330 dias de idade, 10 ppmF por um período de até 420 dias, analisando-se fluor no femur e mandíbula. A capacidade de acumular o fluor depende indiretamente da idade do animal. A concentração de fluor na mandíbula foi maior que no femur.

POURCHET CAMPOS (1953) relatou que fornecendo a ratos água fluoretada com concentração variando de 0,5

a 15,0 ppm havia uma relação linear entre a quantidade de fluor ingerido (até 1,5 ppmF na água) e a quantidade no femur.

Após terem administrado a ratos 450 ppm de fluor na dieta durante 6 semanas, MILLER e PHILLIPS (1953) observaram que a eliminação de fluor acumulado no femur só foi observada durante 8 semanas subsequentes, 75% do qual foi eliminado nas primeiras 4 semanas.

Empregando a alta sensibilidade do ^{18}F , WALLACE-DURBIN (1954) demonstrou que sua assimilação pelos ossos foi menor em ratos adultos do que nos jovens, sugerindo que a acumulação depende da vascularidade do osso e de sua atividade de crescimento. Uma hora após a administração a região de maior concentração de ^{18}F foi a cartilagem epifisária, seguido do osso esponjoso da epífise e a porção superior da diáfise no lado frontal, sendo que a marcação na cavidade medular foi desprezível.

McCANN e BULLOCK publicaram em 1957 um trabalho resultante da administração de 100 ppmF a ratos durante um período de 100 dias. Seus resultados mostraram pouca diferença na incorporação de fluoreto pelo femur e mandíbula, de respectivamente 0,832 e 0,822% de F no osso seco e desengordurado.

Uma relação linear entre a concentração de F na água potável e sua concentração média no osso humano foi relatada por ZIPKIN e cols. (1958), pesquisado em cidades com fluoreto na água variando de 0,2 - 4,0 ppm.

SUTTIE e PHILLIPS (1959) também observaram que a velocidade e extensão da retenção de fluor pelo esque

leto do rato correlacionasse inversamente com a idade dos a n i m a i s. Esta deposição se processaria da seguinte maneira: uma fase de retenção rápida extendendo-se por mais que poucos dias, a qual é atribuída a troca de fluoreto com o sistema de hidroxiapatita, seguida de uma fase lenta que é supostamente atribuída ao aparecimento de novos locais intercambiáveis quer seja por recristalização e por atividade os t e c l á s t i c a e osteoblástica.

Estudando o metabolismo do fluoreto em r a t a s prenhes, BRZEZINSKY e cols. (1961) verificaram que o c o n t ê u d o de F nos ossos após a ingestão de água contendo de z e r o a 100 ppmF foi semelhante ao das ratas não prenhes. Não houve uma linearidade entre a concentração de F na água e a nos ossos sendo que somente após ter o suplemento de f l u o r e t o excedido a 14,55 ppm é que houve um aumento pronunciado de F no osso das ratas.

O efeito crônico de fluoreto foi estudado em ratos, aos quais administrou-se 0, 1, 5, 10, 25, 50 e 100 ppmF na água por um período de seis meses (TAYLOR e cols. , 1961). A concentração de F nas cinzas do femur dos ratos que ingeriram água fluoretada por 3 meses foi diretamente p r o p o r c i o n a l a l o c o n t r a ç ã o de F na água, sendo que após 6 meses s õ f o i d i r e t a m e n t e p r o p o r c i o n a l a l o c o n t r a ç ã o de F na água.

SINGER e ARMSTRONG (1964) forneceram a r a t a s água fluoretada de zero a 50 ppm. Não houve uma l i n e a r i d a d e e n t r e a concentração de fluor no plasma e a o s s e a e m e s m o e n t r e a concentração de F na água ingerida e a o s s e a. Q u a n d o f o i s u s p e n s a a a d m i n i s t r a ç ã o de F aos animais observou-se que 7 dias após a concentração de fluoreto no ú m e r o d i m i

nuiu de 13% sem que tenha havido decrēscimo da concentraçāo de F no plasma.

Utilizando fluor radioativo, ERICSSON(1967) nāo encontrou diferenças na assimilaçāo pelo femur de ratos de mesma idade quer estivessem ingerindo āgua destilada ou āgua fluoretada (50 ppm). Entretanto, comparando-se ratos de 82 dias e de 50, a assimilaçāo de ^{18}F foi menor pelo femur dos animais mais velhos.

Administrando a ratos āgua com 50 ppmF, SINGER e ARMSTRONG (1969) observaram que embora houvesse aumento na concentraçāo ōssea de fluor apōs 20, 40 e 60 dias de tratamento, no plasma a concentraçāo de fluoreto manteve-se constante. A concentraçāo de F no femur foi ligeiramente maior que na mandíbula em todos os tempos do perīodo experimental.

HAC e FREEMAN (1969) estudaram a distribuiçāo do fluoreto no esqueleto de ratos jovens e adultos aos quais foi fornecida āgua fluoretada (125 ppm) por 4 e 8 semanas. Nos ratos jovens a regiāo que mais incorporou fluoreto foi a epīfise, enquanto que nos adultos foi a metāfise.

Em 1970, TAVES estabeleceu que para o tratamento de osteoporose a concentraçāo de fluoreto no sōro obtido em jejum deveria ser de 5-10 μM , o que evitaria efeitos tōxicos generalizados e induziria a um balanço positivo de cālcio e aumento de osso.

Revisando a distribuiçāo de fluoreto pelos tecidos duros, WEIDMAN e WEATHERELL (1972) relatam que a maioria das variaçōes observadas na distribuiçāo de fluor nos ossos pode ser explicada por diferenças no crescimento,

tamanho dos cristais, na vascularização e irrigação sanguínea, porém a razão do acúmulo preferencial de fluoreto na região periosteal dos ossos longos não se explica facilmente. Isto poderia ser explicado por iniciação de processo exostótico, pois na superfície periosteal as exostoses fluoróticas são frequentes, para o que provavelmente é necessária uma concentração prévia de F relativamente alta.

HAC (1972) pesquisou o efeito do F nos glicosaminoglicanos dos ossos de ratos jovens aos quais foi administrada água contendo 125 ppmF. Observou-se que tanto no grupo controle, como no tratado, houve uma maior incorporação na metafise óssea.

ZIPKIN (1972) estudou a mobilização de fluoreto dos ossos de ratos jovens e adultos após receberem 10 ppmF por 70 dias. A maioria dos ossos mobilizou entre 14 a 18% do fluoreto previamente acumulado, sendo que 90% da quantidade eliminada do osso aconteceu no primeiro intervalo de 10 semanas em que análises foram feitas. Surpreendentemente houve aumento de fluoreto na costela ventral o que foi interpretado como sendo uma translocação local de fluoreto e não por recirculação do mobilizado dos outros ossos. Após o período de administração de F, a concentração de fluoreto no femur foi um pouco maior que a da mandíbula (824 vs 815 ugF/g cinzas).

Uma correlação do conteúdo de F na dieta (5,25 e 100 ppm) com a dos ossos foi observada por PORTELA e SANAHUJA (1972) embora no plasma o nível de fluoreto tenha sido semelhante nos três grupos.

ERICSSON, GYDELL e HAMMARSKJÖLD relataram em

1973 que havia uma correlação entre a concentração de fluoreto no plasma (3-9 μM) com a dos ossos de pessoas que estavam morando há 22 anos em uma região com 10 ppmF na água.

Administrando água fluoretada a 50 ppm a ratas acasaladas ou não e que tomaram fluor desde o desmame e inclusive o período de prenhez, ou só até o período de prenhez, ou só durante o período de prenhez, ISSÃO e ZUCAS (1973) verificaram que: a) O percentual de fixação do fluor ingerido é menor na rata fecundada e que recebem água fluoretada durante toda a experiência; b) As fêmeas fecundadas e que receberam água fluoretada até o acasalamento, retiveram maior quantidade de fluor que as não fecundadas; c) A prenhez não altera a fixação do halogênio na fêmea, quando é fornecido apenas durante este período.

PARKINS e cols. (1974) sugeriram que a concentração de fluoreto no plasma obtido em jejum está em equilíbrio com o fluoreto do osso, pelo fato de que há correlação positiva entre o fluoreto do plasma e a idade ($r = 0,53$) e entre fluoreto do osso e a idade ($r = 0,67$) dos indivíduos analisados.

Uma correlação negativa entre a concentração de fluoreto no plasma com a do osso de crianças, foi relatada por HELLSTRÖM em 1976.

Segundo o modelo cinético de metabolismo do fluoreto, comprovado por HALL e cols. (1977), o osso se constituiria de dois compartimentos, um lábil em relação ao F e o outro não lábil num espaço curto de tempo. O compartimento de osso lábil tamponaria alterações rápidas (horas) do F no meio extracelular enquanto que as alterações a longo pra

zo (dias a anos) poderiam ser tamponadas pelo compartimento maior, o não lável. O tempo de meia vida para o fluor do osso lável é de 3-4 h, enquanto que para o lável a longo prazo é de 137 dias.

WEATHERELL e cols. (1977), em artigo de revisão e citando resultados pessoais, descreveram que a distribuição do fluoreto através do femur humano, mostra uma concentração relativamente alta nas regiões periosteal e endosteal, com uma concentração tipicamente alta na primeira.

Uma vez sendo as concentrações de F do soro e osso cada uma relacionadas linearmente a concentração de F na água de abastecimento, elas devem também ser lineares entre si (TAVES e GUY, 1979). Analisando os dados da literatura, os referidos autores obtiveram para humanos uma relação entre fluoreto do osso e soro de 100.000 para 1 (F expresso por grama de cinzas de osso e por ml de soro). Utilizando resultados não publicados para ratos a relação é de 26 umoles por grama de cinzas de osso para 1 nmol por mililitro de soro, ou seja de aproximadamente 25000:1. Segundo os autores, esta diferença entre as espécies não é clara, podendo ser devido ao tempo de exposição ao F ou a estruturas ósseas distintas.

Ajustando a administração de fluoreto de sódio (40-60 mg/dia) para manter uma concentração de F sérico entre 5 e 10 uM, RIGGS e cols. (1980) divulgaram resultados promissores no tratamento (associado a vit. D e Ca) da osteoporose primária.

CURY e SAKATA (1980) administraram a ratas água fluoretada a 10 ppm ou ração suplementada com 12 ppmF,

durante a prenhez e lactação. Após o desmame a concentração de fluoreto no plasma e femur das ratas acusou os valores de respectivamente 0,04 e 846,7 ppm para o grupo ingerindo ração fluoretada e de 0,05 e 1180,0 ppm para o que recebeu água fluoretada.

Um estudo do metabolismo do fluor em pacientes internados e recebendo dieta conhecida em fluoreto foi realizado por SPENCER, OSIS e LENDER (1981). A mobilização de fluor do osso foi determinada após ingestão diária de 10 mg de fluoreto por 32 dias. Suspensa a administração, 6-10% do fluor previamente retido foi excretado, 65% do qual nos primeiros 6 dias, estabilizando-se 18 dias após.

NAVIA, LOPEZ e BRADLEY (1981) forneceram a ratos desmamados dieta (MIT 2000) suplementada com 0, 5, 10, 20 ou 40 ppmF por um período de 10 dias, obtendo uma relação linear entre a concentração de F na dieta e a respectiva concentração no femur ou tíbia dos animais.

Um aumento paralelo da concentração de fluoreto no osso e soro foi relatado por SUSHEELA e JHA (1981) após administrarem a coelhos 10 mgNaF/dia/kg durante 10 meses. Seis meses após, a concentração de F no soro dos animais tratados era 0,36 ppm e nos controles 0,07, sendo de 3873 na cortical óssea e 5870 ppm no osso esponjoso dos experimentais e de 805 e 895 ppm no dos controles.

HEFTI e MARTHELER (1981) confirmaram a hipótese da acumulação de fluoreto no osso em função da idade, ao analisarem osso esponjoso da vértebra de material de autópsia de indivíduos que viveram em Basle, na Suíça. Diferenças em relação ao sexo não foram observadas, mas elevados valores de fluoreto foram constatados em 4 casos de pie-

lonefrite crônica severa.

Segundo HANHIJARV, PENTILLA e PEKKARINEN (1981) a correlação altamente positiva ($P < 0,001$) entre a idade e a concentração plasmática de fluoreto em habitantes de uma região com 1,0-1,2 ppmF na água deve ser devido ao aumento de fluoreto no osso, desde que a função renal permaneceu dentro dos limites normais para a idade.

Uma alta correlação entre o fluoreto sérico e idade foi obtida por HANHIJARVI (1981) analisando pacientes de uma comunidade com 0,1-0,2 ppmF na água. Segundo o autor, a razão deve ser o acúmulo de F no osso e uma vez que a concentração óssea de F correlaciona-se bem com sua ingestão contínua, a concentração de fluoreto no soro (jejum) é provavelmente dependente da sua concentração óssea.

EKSTRAND e cols. (1981) durante 79 dias administraram a ratos água com 25,0, 50,0, 100,0 e 150,0 ppmF, e observaram uma estreita relação entre a concentração de fluoreto no femur (1092; 1719; 2378 e 3358 ugF/g) e a respectiva fornecida aos animais.

ARBEX e cols. (1982) forneceram a ratas, durante a prenhez, água com 0,17, 10, 25, 50 e 75 ppmF, analisando em seguida a concentração de fluoreto no femur e calota craniana dos animais. A concentração de fluoreto no femur (ug/g peso seco) relacionou-se bem com a ingerida pelos animais, sendo obtidos os valores de 341,2, 349,5, 454,3, 668,7 e 979,1 para os respectivos grupos, ressaltando-se que praticamente não há diferença entre o grupo controle (0,17 ppmF) e aquele ao qual foi administrado água com 10 ppmF.

Administrando doses variadas de NaF a pacientes, para manter uma concentração sérica de fluoreto en-

tre 0,20 - 0,25 ug/ml, VAN KESTEREN e cols. (1982) observaram naqueles onde a concentração de F no osso foi igual ou maior que 0,2% que o tratamento (associado a vit. D e Ca) da osteoporese primária foi eficiente.

3. FLUORETO DO SANGUE vs DO DENTE

A inexistência de uma relação precisa entre a dosagem do fluor administrado, sua concentração no sangue e seus efeitos na prevenção de cárie e fluorose do esmalte, explicaria a ampla variação na suplementação diária de fluor, tornando-a empírica quer levando em consideração a idade ou o peso do paciente. Poucos trabalhos na literatura foram conduzidos com esse objetivo, assim além de revisá-los, outros sobre fluoreto sistêmico e dentes serão relatados:

McCLURE e LIKINS publicaram em 1951 uma pesquisa mostrando uma relação entre a concentração de fluor na água de abastecimento público e a encontrada nos dentes dos seus habitantes. Assim, quando se ingeria água com 0,0 - 0,3 ppmF verificava-se 0,0100% de F no esmalte e 0,0240% na dentina, mas quando a água continha de 1,1 - 1,2 ppmF os valores encontrados eram de respectivamente 0,0133 e 0,0385.

Administrando a ratos água com 20 ppmF durante 60 dias, SAVCHUCK e ARMSTRONG (1951) observaram que 150 dias após ter sido suspenso o fornecimento de água fluorada a quantidade de fluor nos dentes incisivos dos animais experimentais era significativamente maior do que a dos controles. Esta constatação foi interpretada como sendo consequência de uma renovação intra-esquelética de pequenas quantidades de fluor, desde que uma eliminação do esqueleto não era mais detectada neste tempo de observação.

ZIPKIN e McCLURE (1952) verificaram que fornecendo uma dieta com 10 ppmF a ratos de 30 dias de idade por um período de 420 dias, houve em função da idade uma di

minuição na capacidade de armazenar fluor nos dentes molares, pois após o período de crescimento rápido acumulou-se pouco ou nenhum F adicional.

Fornecendo a ratos 100 ppmF durante 100 dias desde o desmame, McCANN e BULLOCK (1957) encontraram na dentina dos incisivos 0,521% F e no esmalte 0,197, sendo que no grupo controle os valores obtidos foram de respectivamente 0,004 e 0,002% F.

WEIDMANN (1962) administrou a ratos 150 ppmF durante 30 dias, após o que suspendeu o fornecimento e analisou a concentração de fluoreto nas porções radiculares e coronárias do incisivo. O autor constatou que, 30 dias após ter sido suspenso o oferecimento de F, encontrou-se 36 e 77 mg%F nas porções radiculares e coronárias dos incisivos, 60 dias após 23 e 63 e 90 dias após 26 e 31, sendo que o controle foi fixado em respectivamente 26 e 22 mg%F.

Um trabalho tentando mostrar uma relação entre a concentração plasmática de fluoreto e a encontrada nos tecidos calcificados de ratos, foi publicado em 1969 por SINGER e ARMSTRONG. Os autores administraram a ratos água com 50 ppm de F fazendo análises 20, 40 e 60 dias após. Enquanto que a concentração plasmática não variou (0,43; 0,41 e 0,44 ppmF) a na dentina dos molares aumentou em função do tempo (0,056; 0,084 e 0,104 %F). Os valores do grupo controle para o plasma e dentina foram estabelecidos como sendo de respectivamente, 0,26 ppmF e 0,026%F. A constância de F nos líquidos corporais foi a explicação para o pequeno aumento de F nos tecidos calcificados observado entre os dias 40 e 60.

MELLBERG e LARSON (1971) após terem forneci

do a ratos desmamados uma dieta com 20 ppmF, observaram que a concentração de fluoreto no esmalte foi maior no 3º molar do que no 2º e neste em relação ao 1º, o qual parece estar correlacionado com o tempo de exposição sistêmica ao fluor.

Uma relação entre a concentração de F no esmalte de crianças ingerindo água com menos de 0,1 ppmF ou 1,0 foi observada por AASENDEN e cols. (1971). Retirando-se amostras de 0,5 um de esmalte encontrou-se respectivamente 2100 e 3000 ppmF.

Estudando o efeito do fluor em dietas contendo 5, 25 e 100 ppm deste íon, PORTELA e SAWAHUJA (1972) verificaram que embora houvesse uma correlação entre o conteúdo de fluor fornecido aos animais e o observado nos seus dentes incisivos (65,8; 539,0 e 1776,0 ppmF), nenhuma relação entre a concentração no plasma e dentes foi observada, desde que no sangue houve similaridade entre os três grupos (1,2; 1,1 e 1,2 ppmF).

ZIPKIN (1972) pesquisou a mobilização de fluoreto dos ossos e dentes de ratos após 70 dias de administração de 10 ppmF a estes animais, seguida da suspensão por um período subsequente de 350 dias. O autor verificou que enquanto os dentes molares praticamente não perderam F, os incisivos perderam tudo aquilo previamente depositado. A importante consideração feita pelo autor é que apesar do esqueleto estar perdendo fluoreto após suspensão da dieta, não houve reincorporação no incisivo o qual está em crescimento contínuo, isto constatado 70 dias após a paralisação da administração da água fluoretada.

O efeito da exposição pré e pós-eruptiva ao

fluoreto foi estudado em ratos por POULSEN, LARSEN e LARSON (1976). A exposição pré-eruptiva foi feita através sonda gástrica, administrando-se 1,0 mgF/kg de peso corporal do 5º ao 15º dia de vida do animal. Embora tivesse havido um aumento significativo de fluoreto no esmalte, o índice de cárie não diferiu do controle. A administração pós-eruptiva foi feita fornecendo-se aos animais água contendo 50 ppmF ou 3 ml de leite contendo a quantidade de fluoreto ingerido pela água. O aumento de concentração de F no esmalte foi significativamente maior do que no controle, sendo ligeiramente maior quando o veículo foi o leite. O número de cáries buco-linguais foi reduzido de uma maneira significativa, não havendo entretanto efeito nas superfícies proximais e oclusais.

LARSON e cols. (1976) forneceram a ratos desmamados água com 10, 50, 100 e 150 ppmF durante 7 dias, seguida de água destilada e dieta cariogênica ou água com 10 ppmF e dieta cariogênica por um período subsequente de 56 dias. O conteúdo de F no esmalte mostrou-se diretamente relacionado ao nível de fluoreto na água, durante o período inicial de 7 dias, ou ao final do período de teste de cáries. Fluoreto fornecido antes do regime de cáries conferiu uma maior proteção aos sulcos, contrastando com o administrado durante o regime de teste de cáries, o qual resultou em um efeito mais pronunciado nas superfícies lisas, redundando em um efeito geral maior, embora não tivesse havido qualquer aumento adicional na concentração de F no esmalte.

Um experimento sobre ação local e sistêmica de fluoreto na inibição de cárie em ratos foi realizado por

LARSON, MELLBERG e SENNING (1977). A concentração de fluoreto nos dentes dos animais controles foi significativamente menor do que nos tratados. A nos dentes dos animais ingerindo água com 5,0 ppmF foi significativamente maior nos 1º e 2º molares do que a dos animais recebendo a mesma quantidade de fluoreto por entubação gástrica. A inibição de cárie foi maior nos animais recebendo F pela água, diferenças estas mais acentuadas nos 1º e 2º molares do que no 3º que teve pelo menos duas semanas de exposição pré-eruptiva ao fluoreto sistêmico.

Em um artigo de revisão e citando resultados não publicados, WEATHERELL e cols. (1977) apresentaram evidências de que a concentração de fluoreto no esmalte em formação do incisivo de rato depende parcialmente da idade do animal. Segundo os autores isto se deveria parcialmente a um aumento da concentração de fluoreto no sangue em função da idade do animal, devendo também refletir a tendência para algum do fluoreto liberado durante a mineralização reincorporar-se ao esmalte jovem adjacente que está em formação.

GLENN (1977) apresentou resultados da concentração de F nos dentes de crianças cujas mães ingeriram durante a gravidez água fluoretada além da prescrição diária de 1,0 mgF, concluindo que de 0,032 a 0,043%F nos dentes lhes confere imunidade a cárie, enquanto que menos de 0,020%F indicaria suscetibilidade.

Sugerindo uma revisão e atualização em termos de pesquisa científica, ENGLANDER (1979) questionou se de fato o valor de 1,0 ppm de F nas águas de abastecimento seria o limite entre eficiência-segurança da fluoretação.

WHITFORD e REYNOLDS (1979) estudaram, em ratos submetidos a desequilíbrio ácido-básico, a relação entre a concentração de fluoreto plasmática e a no esmalte em formação dos dentes incisivos. Nos animais normais e ingerindo água destilada acusaram no plasma 2,6 μM de F, nos em acidose 3,2 e alcalose 2,4 μM F, sendo a concentração de fluoreto no esmalte maior nos animais com acidose. Quando administrou-se aos animais água com 50 ppmF, a concentração de fluoreto no plasma dos animais normais foi 5,0 μM , nos em acidose 8,4 e em alcalose 4,0 μM , sendo a concentração de F no esmalte função direta da concentração no sangue.

Um estudo da concentração de F no esmalte e respectivo índice de cárie foi estudado por SCHAMSCHULA e cols. (1979). Camadas de esmalte de 0,36 a 140,2 μm foram removidas onde as concentrações de F foram de 1737 e 62 ppm. Não houve associação entre a concentração de F na superfície do esmalte e o índice de cárie, sendo no entanto consistente e inversa nas camadas subsuperficiais e profundas.

KIDD e cols. (1980) analisaram o efeito da concentração de fluoreto na superfície do esmalte no desenvolvimento de cárie in vitro. Nos dentes provenientes de regiões com 0,2, 1,4 e 3,6 ppmF na água havia respectivamente 2740, 3030 e 7320 ppmF, na superfície do esmalte (1 μm de profundidade).

Administrando a ratos água com concentração de F variando de 0,9 a 50,0 ppm, CURY e cols. (1980) observaram uma relação direta entre a concentração de F ingerida e a encontrada nos dentes molares dos animais. Houve maior incorporação pelo 2º molar do que pelo 1º, o que foi inter-

pretado como consequência direta do período de formação dos dentes em relação a exposição sistêmica de fluor.

CURY e SAKATA (1980) estudaram a incorporação pré e pós-eruptiva de fluoreto nos dentes molares de ratos aos quais administrou-se água com 10 ppmF ou ração suplementada a 12 ppmF. Nos animais com 10 dias de idade não houve diferença entre a concentração de F nos dentes dos animais controles e a dos dois grupos experimentais. Aos 20 dias, não houve diferença entre os dentes dentro dos grupos. Aos 30 dias, no grupo controle não houve diferença entre 1º e 2º molar, sendo a do 3º maior, no entanto nos grupos experimentais a concentração no 3º molar foi maior do que a do 2º e deste maior do que no 1º. Comparando-se os grupos que ingeriram F pela água e pela alimentação, verifica-se aos 30 dias de idade, que a concentração de F no dente 1º molar do animal recebendo água fluoretada foi 30% maior do que a recebendo ração fluoretada, diminuindo para 11% no 2º molar e chegando a 6% no 3º molar, diferenciando efeitos sistêmicos e locais destes veículos de administração de fluor.

Uma relação entre a concentração de fluoreto plasmática e a da dentina foi obtida por EKSTRAND e cols. (1981) após fornecerem a ratos água com 25, 50, 100 ou 150 ppmF por 79 dias. A concentração de F na dentina dos incisivos variou de 565 ug/g no grupo de 25 ppm a 2978 ug/g no de 150 ppm. A relação entre a concentração de F na dentina e a do plasma foi de 14.000:1 no grupo de 25 ppm, de 16.054:1 no grupo de 50 ppm, de 17.335:1 no de 100 ppm e de 15.645:1 no grupo de 150 ppm. O valor médio da relação foi de 15.500:1, sugerindo que a concentração de F na dentina poderia ser u-

sada como um indicador da concentração plasmática de F durante o período de formação do dente.

GUERRINI, CURY e ISSÃO (1982) estudaram a fixação de fluoreto nos dentes molares de ratos provenientes de ratas que tomaram água (10 a 75 ppmF) durante toda a vida ou só durante a prenhez, continuando os filhotes sob as mesmas condições das ratas-mães. Verificou-se, 150 dias após o nascimento, que: a) o dente que fixou mais F foi o 3º molar seguido do 2º e 1º; b) houve uma relação positiva entre a concentração de F ingerida e a incorporada nos dentes e c) a concentração de F foi sempre maior nos dentes dos animais provenientes de ratas que tomaram água fluoretada durante toda a vida do que só durante a prenhez.

Diagnosticando um caso de fluorose endêmica na região de Piracicaba, CURY e USBERTI (1982) observaram que nos dentes incisivos de uma criança que estava bebendo água com 2,47 ppm de fluor natural, havia 2039,6 ppmF a 10 µm da superfície do esmalte, relacionando-se bem com o valor de 600,0 ppm encontrado nos dentes de crianças ingerindo água de abastecimento da cidade de Piracicaba, a qual é artificialmente fluoretada.

4. FLUORETO NO SANGUE MATERNO vs FETO

A prescrição de fluor pré-natal é uma medida indefinida e hoje assume um nível polêmico (Am. J. Obstet . Gynecol., 147: 225-6, 1983). As incertezas são atribuídas à barreira placentária ao fluor, inexistência de uma razão biológica para sua administração e carência de resultados clínicos de sua eficiência. Poucas, ou nenhuma publicação na literatura mostrou uma relação entre a dose administrada , concentração de fluor no sangue materno e sua consequente concentração no feto, em função do que serão revisados trabalhos envolvendo o assunto:

Desde 1939, EVANS e PHILLIPS já haviam fornecido evidências de que o fluor se transferia pela placenta ao feto, no entanto havia um limite de 10 ppmF na água, abaixo do qual não se detectava a passagem do F.

BUTTNER e MUHLER em 1958 estudaram a transferência placentária de fluoreto, concluindo que água contendo 10 ppmF deve ser fornecida as ratas para que qualquer aumento apreciável de fluoreto seja detectado na carcaça dos filhotes.

A concentração de F na urina de mulheres grávidas diminui em função do tempo de gravidez (GÉDALIA, BRZEZINSKI e BERCOVICI, 1959) sugerindo profundas alterações do metabolismo do F durante este período.

MAPLESDEN e cols. (1960) estudaram a transferência placentária de fluor em ratos e coelhos, concluindo ser a placenta uma barreira eficiente a este transporte, cons

tatando também que a quantidade de fluor transferida aos filhotes parece não aumentar em função de gestações sucessivas.

Analisando sangue de mulheres grávidas, placenta, e sangue do cordão umbilical, GEDALIA e cols. (1961) obtiveram resultados a partir dos quais sugeriram que a placenta (0,15 ppmF) tem um papel ativo na acumulação de F e sua consequente transferência ao feto. A pesquisa foi realizada em uma região com 0,55 ppmF na água; obtendo-se os valores de 0,09 ppmF no sangue materno e 0,11 no do cordão umbilical.

BRZEZINSKI e cols. (1961) estudaram o metabolismo do fluor em ratas prenhes, as quais forneceram água com zero a 100 ppmF. A concentração de F no osso dos fetos só apresentou aumento após ingestão de 10 ppmF, não havendo linearidade entre as variáveis. Como a concentração de F no plasma das ratas apresentou apenas um ligeiro aumento e só depois da ingestão de 14,5 ppmF, nenhuma correlação pode ser feita.

A concentração de fluoreto nos ossos e dentes de fetos cujas mães bebiam água com 0,05-0,1 ppmF ou 0,5-0,6 foi observada por GEDALIA e cols. (1964) ser diferente, cuja significância aumentou em função da idade fetal.

GEDALIA, ZUKERMAN e LEVENTHAL (1965) constataram que a concentração de fluoreto nos ossos e dentes de fetos é função da idade, sendo a incorporação maior nos ossos do que nos dentes. Como a concentração nos fetos oriundos de uma região com 1,0 ppmF na água não foi significativamente maior do que a dos com 0,5-0,6 ppmF, o que segundo os

autores indicaria que há um nível máximo de metabolismo de fluoreto pré-natal a partir da água.

Revisando a transferência materna de F, ZIPKIN e BABEAUX (1965) concluíram que o fluoreto cruza a placenta e é depositado nos tecidos calcificados do feto de todas espécies animais.

BURT (1966) concluiu que a placenta humana parece exercer um mecanismo regulador que limita a passagem de fluoreto ao feto e provavelmente protege-o contra um excesso de F no sangue materno.

GEDALIA e cols. (1967) forneceram a ratas durante a gravidez água com zero, 25 ou 50 ppm F verificando que a incorporação de F no osso dos filhotes recém-nascidos aumentou em relação ao ingerido pela rata.

Administrando a cobaias prenhes água com zero, 5, 10, 25 ou 50 ppmF, HUDSON, STOOKEY e MUHLER (1967), analisaram a concentração de fluoreto na carcaça dos filhotes, verificando que houve uma transferência placentária significativa em todos os níveis de F fornecido as mães, não sendo porém totalmente linear. Os referidos autores observaram também que a exposição prévia da mãe ao fluoreto antes da gestação influenciava a sua quantidade transferida aos tecidos fetais, com a segunda geração de filhotes retendo mais fluoreto durante o desenvolvimento fetal que a 1ª geração.

ISSÃO (1969) publicou um trabalho sobre a passagem transplacentária do fluor, fornecendo a ratas durante toda a vida ou somente durante a prenhez água com 10, 25 ou 50 ppmF. Constatou-se que a passagem do fluor através da placenta parece aumentar em função do teor absoluto do fluor in

gerido pela rata-mãe durante a prenhez, não havendo todavia proporcionalidade direta entre os mesmos. Houve uma maior transferência de F da mãe ao feto naqueles animais que tomaram o fluor durante todo experimento, quando comparado com aqueles que o tomaram apenas durante a prenhez. As ratas foram cruzadas com 3 meses de idade e a concentração de F nas carcaças dos filhotes provenientes de ratas que receberam fluor somente durante a prenhez foi de 1,89, 3,70, 5,42 e 11,03 ugF/g, para respectivamente os grupos controle, de 10, 25 e 50 ppmF.

Analisando o sangue da artéria e veia maternal uterina, o da artéria e veia umbilical obtidos simultaneamente de 16 mulheres submetidas a cesarianas, ARMSTRONG, SINGER e MAKOWSKI (1970) concluíram que a concentração de fluor encontrada no plasma sanguíneo (0,11 ppm no materno e 0,14 no fetal) sugere que a barreira placentária ao transporte do íon fluoreto não opera para manter uma diferença na concentração de F entre os fluidos corporais materno e fetal.

GEDALIA (1972) revisando sobre distribuição do fluor na placenta e feto concluiu que: A concentração de fluor nos ossos e dentes de fetos procedentes de zonas de águas potáveis com um conteúdo de fluor moderado ou alto, tanto natural como artificial, não difere muito, o que confirma a permeabilidade limitada da placenta humana e de roedores frente a um aumento da ingestão de fluor.

Pela primeira vez, em 1974, a concentração de fluoreto no sangue materno e do cordão umbilical foi determinado com um método específico para íon fluor. SHEN e TA-

VES, encontraram 0,88 μM de F no sangue materno e 0,68 μM no sangue do cordão umbilical, com um coeficiente de correlação de 0,86. Segundo os autores, estes resultados (16 mulheres) são consistentes com a hipótese de que o fluoreto se difunde passivamente através da placenta.

HANHIJÄRVI (1975) verificou que durante a gravidez há uma diminuição na concentração de F no plasma de mulheres vivendo em região de água fluoretada ou não, o que sugere ser seu metabolismo instável durante este período.

Em um artigo de revisão sobre distribuição de fluoreto entre os compartimentos do organismo, TAVES e GUY (1979) fizeram os seguintes esclarecimentos: a) A correlação fortemente positiva entre F no sangue materno e fetal não refuta a hipótese da barreira, pois a diminuição do fluxo sanguíneo pelo cordão após o nascimento pode permitir que o fluoreto se aproxime do equilíbrio pela placenta; b) Tem se postulado que a barreira placentária ao F deve proteger o feto, no entanto a observação de que a concentração de F no sangue fetal é menor que a maternal não provaria mais do que a existência de uma barreira passiva de difusão.

Com base em estudos recentes e no conhecimento de cinética do F, ERICSSON e WEI (1979) afirmam que picos temporários de F no sangue materno parecem ser largamente barrados pela placenta, ao contrário dos níveis de fluoreto no estado de equilíbrio.

MADUSKA e cols. (1980) mostraram que injeção do fluoreto na veia de ovelha prenhes há uma rápida transferência do mesmo pela placenta alcançando níveis fetais altos em 1 minuto, e mantendo-se durante 90 minutos numa concen-

tração em média apenas 23% menor do que a materna.

GARBOGGINI DA GAMA (1980) forneceu a ratas, durante toda a vida ou somente durante a prenhez, água com 0,17, 10, 25, 50 ou 75 ppmF e analisou a concentração de F nos filhotes recém-nascidos. As ratas foram cruzadas com aproximadamente 5 meses de idade. Houve uma relação linear entre a concentração de F na água ingerida pelos animais com a encontrada na carcaça dos filhotes provenientes das ratas que ingeriram água fluoretada apenas durante a prenhez. A concentração de F nos filhotes foi de 6,5, 15,1, 29,5 e 42,0 ppm, respectivamente para os grupos de 10, 25, 50 e 75 ppmF na água, não havendo entretanto correspondência com o grupo controle (3,5 ppmF na carcaça dos filhotes).

Analisando fluoreto no sangue materno e no cordão umbilical de mulheres de Piracicaba, CURY e PAULINO DA COSTA (resultados não publicados) encontraram respectivamente 52,8 e 23,1 ng/ml.

Segundo GLENN, GLENN e DUNCAN (1982) continua o acúmulo de evidências de que a nutrição fetal em relação ao fluoreto começa antes, na gravidez, e que suplementação é requerida durante os dois últimos trimestres, desde que somente água fluoretada não é suficiente durante a gravidez. Isto é confirmado em 492 crianças com relação a segurança-eficiência do uso do suplemento de 1 comprimido de fluoreto de sódio (1, mgF/dia), por meio do qual o médico pode ajudar sua paciente grávida a gerar crianças com dentes melhorados que serão imunes a cárie.

DEUTSCH e GEDALIA (1982) estudaram a concentração de fluoreto no esmalte de fetos humanos, sugerindo

que a suplementação de F durante a gravidez tem pouco ou ne
nhum efeito anticâncer benéfico.

5. FLUORETO NO SANGUE vs TOXICIDADE

O conhecimento da concentração plasmática de fluoreto relacionada com sua toxicidade aguda ou crônica é fundamental no estabelecimento da relação dose-efeito em termos de eficiência-segurança.

TAYLOR e cols. (1961) não observaram alterações no crescimento de ratos aos quais foi fornecida por 6 meses água com zero, 1, 5, 10, 25, 50 ou 100 ppmF. A DL₅₀ de fluoreto de sódio administrado na água foi de 205 ppm para rato desmamado, ocorrendo morte entre o 39 e 59 dia após o início do experimento. Nenhuma correlação foi feita com o nível sanguíneo de fluoreto.

Administrando a coelhos, doses orais tóxicas de fluoreto de sódio, HALL, SMITH e HODGE (1972) observaram que a concentração no plasma elevou-se bastante e repentinamente. A concentração normal no plasma variava de 0,01-0,07 ppmF e quando se mantinha no plasma por uma hora uma concentração de 28 ppm, ocorria morte em 12 horas ou menos. Se os níveis plasmáticos fossem por uma hora menores que 24 ppm, os animais se mantinham vivos por no mínimo 24 horas. Autópsia revelou áreas hemorrágicas na parede do estômago.

MAZZE, COUSINS e KOSEK (1972) demonstraram que anestesia com metoxiflurano produz nefrotoxicidade em ratos, sendo o efeito relacionado a dose e constatado quando a concentração de fluoreto no sangue atingiu valores de $48,3 \pm 6,9$ uM. Injeção de fluoreto de sódio (aproximadamente 12 mgF/kg) produziu alterações na função renal e histológicas semelhante as vistas após administração do anestésico,

concluindo-se que a toxicidade do metoxiflurano é devido ao produto do seu metabolismo, o íon fluor, o qual apresenta-se no sangue em alta concentração.

Em humanos, COUSINS e MAZZE (1973) comprovaram que após anestesia com metoxiflurano ocorria toxicidade subclínica quando a concentração de fluoreto no sangue atingia valores maiores que 50 micromoles/litro, enquanto que toxicidade clínica era caracterizada quando a concentração foi superior a 90 umoles/litro.

BEAL e ROCK (1976) relataram toxicidade do fluor na profissão odontológica, descrevendo que efeitos colaterais tais como náuseas, vômitos e dores gastrointestinais são descritos após a aplicação tópica de fluoreto em gel.

O limiar da concentração de fluoreto no sangue relacionada com nefrotoxicidade, é menor do que o valor previamente reconhecido, pois segundo MAZZE, CALVERLEY e SMITH (1977) o pico no sangue de 33,6 uM de F e a manutenção de uma concentração de 20 uM por aproximadamente 18 horas, provoca um decréscimo significativo na osmolalidade urinária no dia seguinte da anestesia com enflurano.

HODGE (1979) fez uma comparação interessante entre a concentração de fluoreto na água com a no plasma e o respectivo índice de fluorose encontrado em cidades dos Estados Unidos, concluindo que fluorose dental de moderada a severa se desenvolvia no homem quando a concentração de F no plasma fosse de 0,05 a 0,1 ppm.

LARSEN, FEJERSKOV e JENSEN (1980) fizeram importante contribuição científica ao demonstrar que a fluoro

se dental depende da dieta em termos de cálcio e fósforo, sendo talvez a razão de ser necessário em ratos, ao contrário do homem, uma dose muito maior de F para produzir fluorose, tendo em vista serem as rações ricas em Ca e P.

Não fazendo referência ao nível sanguíneo, WHITFORD (1981) afirmou que a dose letal aguda de fluoreto para o homem não é muito conhecida e precisa, sendo de aproximadamente 30 mgF/kg de peso corporal.

EKSTRAND e cols. (1981) demonstraram em crianças que após a aplicação tópica de gel ocorre um pico de fluoreto no plasma variando de 300 a 950 ng/ml, o que seria suficiente para modificar a função renal.

Uma relação entre a concentração de fluoreto no plasma e o desenvolvimento da fluorose no esmalte foi estabelecida por ANGMAR-MANSSON e WHITFORD (1982). Um pico diário de fluoreto no plasma de 10 uM, ou uma concentração constante de 4,7 uM estavam associados com distúrbios de mineralização do esmalte.

SAKATA e CURY (1984) tentaram correlacionar a concentração plasmática de fluoreto seguida da aplicação tópica de fluoreto em gel com nefrotoxicidade. Após a aplicação tópica padronizada clinicamente houve um pico de fluoreto no plasma variando de 313,5 a 396,0 ng/ml, com sugestivas alterações na função renal, as quais foram detectadas 48 horas após a aplicação tópica. Quando todo o gel da aplicação foi deglutido, houve um pico plasmático de 2180 ng/ml, caracterizando-se no dia uma toxicidade aguda e refletida 48 horas após por diminuição da capacidade de depuração dos rins.

O limite máximo tolerável de fluor em exposição industrial é de 4,0 mgF/litro de urina, após a jornada de trabalho. Em uma amostragem realizada em uma indústria de alumínio do Estado de São Paulo, encontrou-se na urina de três operários antes do início do trabalho 3,4, 7,8 e 5,1 mgF/l, e após o serviço, os valores de respectivamente 14,2, 8,1 e 14,6 mgF/litro de urina (CURY, J.A., não publicado), o que corresponderia a uma concentração plasmática de aproximadamente 30 uM de fluoreto.

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL E MÉTODOS

1. ANIMAIS

O experimento iniciou-se com 90 ratas e 30 ratos (Rattus norvegicus var. albinus, Rodentia, Mammalia) da linhagem Wistar, com 3 meses de idade. Estes animais, oriundos do Biotério da Área de Fisiologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, estavam bebendo água de Piracicaba, a qual é fluoretada, mas cuja concentração não é uniforme, acusando 0,30 ppm de íon fluor na região da Faculdade. Assim, antes da divisão dos grupos experimentais, durante uma semana foi fornecida água destilada a esses animais, após o que eles foram ao caso divididos inicialmente da seguinte maneira:

GRUPO I - Animais que receberam água destilada durante todo o experimento.

GRUPO II - Animais que durante as gestações receberam água com 12,5 ppm de F e que após os nascimentos receberam água destilada.

GRUPO III - Animais que durante as gestações receberam água com 25,0 ppm de F e que após os nascimentos receberam água destilada.

GRUPO IV - Animais que durante as gestações receberam água com 50,0 ppm de F e

que após os nascimentos receberam água destilada.

GRUPO V - Animais que durante as gestações receberam água com 100,0 ppm de F e que após os nascimentos receberam água destilada.

Durante a terceira gestação animais dos grupos II, III, IV e V sofreram tratamentos diferentes, originando assim os seguintes grupos experimentais:

GRUPO VI - Animais que durante as duas primeiras gestações receberam água com 12,5 ppm de F, após os nascimentos beberam água destilada, e que durante a 3ª gestação receberam água com 25,0 ppm de F.

GRUPO VII - Animais que durante as duas primeiras gestações receberam água com 25,0 ppm de F, após os nascimentos receberam água destilada, e que durante a 3ª gestação receberam água com 12,5 ppm de F.

GRUPO VIII - Animais que durante as duas primeiras gestações receberam água com 50,0 ppm de F, após os nascimentos receberam água destilada, e que durante a 3ª gestação receberam água com 100,0 ppm de F.

GRUPO IX - Animais que durante as duas primeiras gestações receberam água com 100,0 ppm de F, após os nascimentos receberam água destilada e que durante a 3.^a gestação receberam água com 50,0 ppm de F.

O cruzamento foi feito na proporção de 3 ratas para um rato, fazendo-se um rodízio de machos a cada 4 dias. Dias antes do nascimento as fêmeas foram transferidas para gaiolas individuais. Quando dos nascimentos as águas fluoretadas dos grupos experimentais foram substituídas por água destilada. Após cada gestação três ratas e seus filhotes foram sacrificados, decorridos de 12 a 24 horas dos nascimentos, das quais a alimentação também foi suspensa. Antes da 3.^a gestação também foram sacrificadas três ratas dos grupos I a V para as análises de íon fluor.

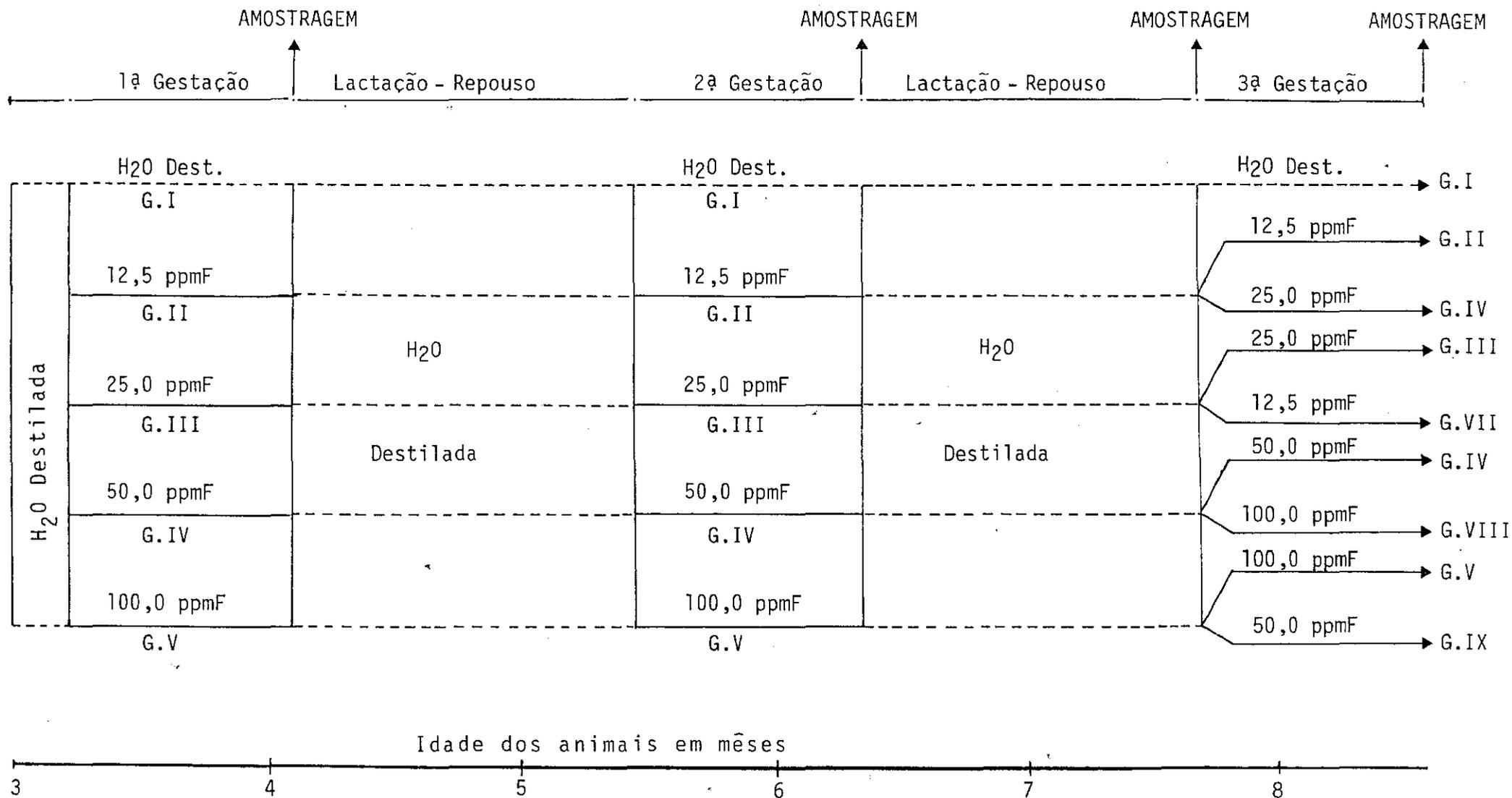
Em todo o experimento os animais foram alimentados com ração CERES, na qual constatamos 1,7 ppm de íon fluor livre e 11,0 ppm de fluoreto ionizável. As águas fluoretadas foram preparadas com NaF da Merck.

O fluxograma da página 43 mostra o planejamento e a sequência experimental.

2. MÉTODOS

2.1. Determinação de Íon Fluor - Generalidades

Utilizou-se o método potenciométrico introdu



FLUXOGRAMA DO DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL

zido por FRANT & ROSS (1966). As leituras (mV) foram feitas em um potenciômetro digital modelo 701 da Orion, utilizando-se de um eletrodo específico para ion fluor modelo 94-09 da Orion e eletrodo de referência da mesma firma. Este método mede a atividade de íon fluor, exigindo um pH ótimo da amostra entre 5,0 - 5,5 e também uma força iônica constante. O eletrodo específico utilizado por ter quatro anos de uso foi recuperado e sua precisão e exatidão foi testada. Assim, foram feitas calibrações diárias a partir de padrões de íon fluor de concentração variando de 0,020 a 1,00 ug de F por ml de solução. Os padrões foram preparados em TISAB (Total Ionic Strength Adjustor Buffer, Orion 94-09-09A) a 50% a partir de NaF (Merck). A exatidão e precisão foi verificada a partir de solução padrão de 1,0 ppm de íon fluor (Orion 04-09-07). Leituras da solução padrão e de suas diluições foram feitas, sendo suas concentrações determinadas por interpolação em curvas de calibração (papel mono-log) ou por regressão linear.

As leituras de todas as amostras e padrões foram feitas sob agitação magnética constante, utilizando-se um agitador magnético Fanem e barras magnéticas confeccionadas a partir de fios plásticos.

2.2. Determinação de Ion Fluor no Plasma

As ratas foram anestesiadas com éter etílico, e o sangue total foi coletado por rompimento do plexo braquial*. Isto é conseguido através de uma incisão cutânea da região an

* Paulino da Costa, C. - Informação pessoal.

terior torácica, e afastamento da pele para formar uma bolsa lateral para receber o sangue oriundo da hemorragia braquial provocada. O sangue foi coletado com conta-gotas sendo heparina (Heparina Evans, Glaxo) empregada como anticoagulante. Após sedimentação das células, o plasma foi obtido centrifugando-se (Centrífuga Excelsion-Baby) a 2500 rpm durante 10 minutos. Um volume de plasma, isento de hemólise, de até 6,0 ml pode ser conseguido. Os plasmas foram mantidos a -10°C até o momento da análise. Para tal, utilizou-se basicamente o método de EKSTRAND (1977) do qual CDTA foi substituído por citrato trissódico (Merck) a 6%. Empregou-se a técnica da adição conhecida, conseguindo-se no máximo analisar 6 amostras diárias, sendo as determinações feitas no mínimo em duplicatas. O volume de plasma analisado foi de 1,0 ml utilizando-se tampas de plástico. Após obtidas as leituras potenciométricas Ex_0 , Ex_1 e Ex_2 , a concentração no plasma foi determinada pela equação abaixo, modificada de EKSTRAND (1977) pela inversão da diferença entre Ex_1 e Ex_2 :

$$C_A = \left[\frac{C_P}{\text{antilog} \frac{Ex_1 - E_0}{S} (11) - 10} \right]$$

C_A = Concentração da amostra

C_P = Concentração do padrão

$$S = \frac{Ex_1 - Ex_2}{\log 2}$$

Ex_0 = Leitura da amostra tamponada

Ex_1 = Leitura após adição do padrão

Ex_2 = Leitura após diluição

2.3. Determinação de Íon Fluor nos Filhotes

Os filhotes foram sacrificados por inalação de éter, desviscerados, lavados com água destilada e desidratados em estufa a 80°C por 24 horas. A seguir foram pulverizados em almofariz e mantidos em dessecador a vácuo até a análise. A determinação foi feita basicamente pelo método de McCANN (1968), do qual HClO₄ 0,5 M foi substituído por HClO₄ 1,0 M para se obter um pH final ideal para a análise. Inicialmente padronizou-se a metodologia, pesando-se (balança analítica Microwa) em copos plásticos (Dixie, 30 ml) amostras de 50,0 a 200,0 mg de p^o, as quais foram desmineralizadas por 1 hora em 1,0 ml de HClO₄ M, após o que 4,0 ml de citrato trissódico 0,5 M foi acrescentado. As concentrações de íon fluor na solução eram obtidas interpolando-se as leituras potenciométricas em curva de calibração previamente elaborada, na qual as concentrações de íon fluor em citrato 0,4 M e HClO₄ 0,2 M variavam de 0,04 a 1,00 ug/ml de solução. A partir disto a concentração de íon fluor nos filhotes era calculada em função da quantidade de p^o na solução (G.I 200,0 mg e demais 100,0 mg). De cada gestação três amostras de nascimentos distintos foram analisadas, cada uma correspondendo ao p^o de três filhotes de mesma origem.

2.4. Determinação de F no Femur

2.4.1. Concentração de íon fluor no osso total pulverizado

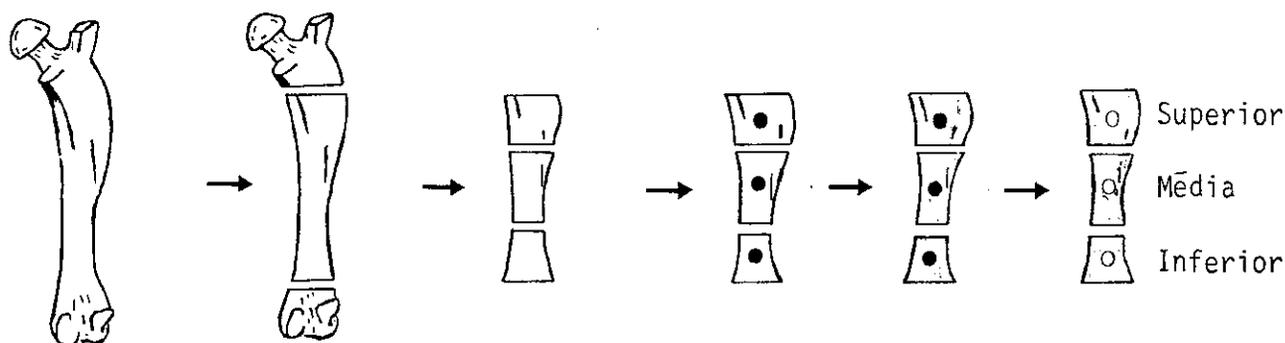
Após obter o sangue, a morte das ratas foi antecipada pela inalação de éter. Seus femures foram retirados

e a maioria do tecido mole aderido foi removido. A seguir foram desidratados em estufa a 80°C por 24 horas, após o que o resíduo de tecido mole remanescente foi raspado. Um dos fêmures de cada rata foi pulverizado em almofariz de porcelana e os pós armazenados em dessecador a vácuo até a análise. A determinação foi feita basicamente pelo método de McCANN(1968) como já descrito no item 2.3. Inicialmente padronizou-se a determinação potenciométrica, pesando-se em copos plásticos (Dixie 30 ml) amostras de 10,0 a 100,0 mg de pó de fêmuras quais durante 1 hora foram desmineralizadas em HClO₄ M, após o que 4,0 ml de citrato trissódico 0,5 M foi acrescentado. Préviamente às determinações, uma curva de calibração foi elaborada a partir de soluções padrões de íon fluor preparadas em citrato 0,4 M e HClO₄ 0,2 M, e contendo de 0,25 a 10,0 ugF/ml. As leituras das amostras eram interpoladas obtendo-se a concentração de íon fluor na solução, a partir da qual calculava-se a concentração no fêmur em função do peso da amostra.

2.4.2. Concentração de Íon Fluor desde a Região Periosteal até a Região Endosteal do Fêmur

Dos fêmures desidratados as extremidades foram removidas, sendo a seguir cortados transversalmente em três fragmentos: superior, médio e inferior. Isto foi feito utilizando-se discos de carborundum adaptados em um motor (Nevoni). Os fragmentos foram colocados em acetona por 1 minuto, secados ao ar e os tecidos moles residuais aderidos foram cuidadosamente raspados. Posteriormente aderiu-se um círculo de fita mágica (Scotch) de 3,0 mm de diâmetro nas faces maiores dos fragmentos. As extremidades dos fragmentos foram fechadas com

cêra utilidade e todo o pedaço do femur foi pincelado com esmalte de unhas de cor vermelha. Após secar, o durex foi removido expondo a área onde foram feitas as análises. O diagrama abaixo ilustra o procedimento descrito:



Amostras sucessivas de cada fragmento foram removidas com 1,0 ml de HClO_4 0,5 M, sendo a desmineralização paralisada por 1,0 ml de TISAB (contendo 20,0 g NaOH/l), de acordo com o descrito por MELLBERG (1980) para esmalte dental. As descalcificações foram feitas em tubos plásticos durante a agitação constante (agitador Kline) por 1, 2, 4, 4, 4, 2 e 1 minuto para os femures das ratas após a 1ª gestação, e durante 1, 4, 6, 6, 6 e 2 minutos para as amostras subsequentes. Após cada desmineralização a matéria orgânica retida foi cuidadosamente removida usando-se agulhas hipodérmicas. A seguir as concentrações de fósforo e íon fluor foram determinadas em cada solução. Fósforo foi determinado pelo método de FISKE - SUBBAROW (1955) sendo as absorbâncias lidas em um espectrofotômetro Spectronic 20. As determinações de íon fluor foram potenciométricas (item 2.1) e as leituras obtidas foram interpoladas em curvas de calibração previamente elaboradas a partir de soluções padrões de íon fluor (de 0,04 a 1,00 $\mu\text{gF/ml}$) preparadas em HClO_4 0,25 M e TISAB (contendo 20,0 g NaOH/l) a

50%. Obtida a concentração de íon fluor na solução, a da amostra foi calculada a partir da quantidade de osso na solução, a qual é decorrente da dosagem de fósforo e da consideração de que a composição do osso é semelhante a da dentina (JENKINS, 1978). Deste modo suas concentrações de fósforo devem ser praticamente iguais (13,5%) e ainda supondo-se ser constante pelo femur. A espessura de cada camada removida, após as sucessivas descalcificações, foi calculada de acordo com HOTZ, MÜHLEMANN, SCHAIT (1970), método este que é utilizado para o esmalte dental (CURY & USBERTI, 1982). Para este cálculo, da profundidade de osso removido, considerou-se ser a densidade óssea praticamente igual a da dentina (EINSPAHR & BUGG) e supostamente constante por todo o femur, a qual foi fixada em 2,14.

2.5. Determinação de F no Dente

As mandíbulas das ratas sacrificadas foram removidas, hemidivididas, e os tecidos moles eliminados. Com auxílio de lâmina de barbear o osso foi desgastado, o dente incisivo retirado integralmente, o qual após desidratação por 24 horas a 80°C foi dividido ao meio. A metade apical foi pulverizada em almofariz de porcelana e os pós foram armazenados em dessecador a vácuo até o momento da análise. Amostras de 20,0 mg de pó dental foram pesadas em copos plásticos (Dixie, 30 ml), desmineralizadas em 1,0 ml de HClO₄ M por 1 h, após o que 4,0 ml de citrato trissódico 0,5 M foi acrescentado para regularizar o pH (McCANN, 1968), sendo os procedimentos subsequentes os mesmos já descritos no item 2.4.1.

2.6. Determinação de F na Mandíbula

Sacrificadas as ratas, suas mandíbulas foram removidas, hemidivididas, sendo o tecido mole desprezado. Após a retirada dos incisivos as hemimandíbulas foram desidratadas a 80°C por 24 h e o resíduo de tecido mole aderido foi eliminado. A seguir foi fragmentada, sendo descartada a região dos dentes molares. Após pulverização em almofariz de porcelana o pó foi armazenado em dessecador a vácuo até o momento da análise. Amostras de 20,0 mg foram pesadas em côpos plásticos (Dixie, 30 ml) e processadas de acordo como descrito nos itens 2.4.1 e 2.5.

RESULTADOS

RESULTADOS

1. FUNCIONAMENTO DO ELETRODO

A figura 1 mostra a linearidade entre as leituras (mV) e as concentrações de íon fluor nas soluções padrões ($\mu\text{g/ml}$), representando cada ponto a média e desvio padrão de três determinações feitas em dias distintos. Por regressão linear obteve-se a equação $y = 76,0 - 56,5 \log x$, correlacionando as leituras (y) em mV com as concentrações de íon fluor (x) expressas em $\mu\text{g/ml}$.

A tabela I compara os resultados obtidos, em relação ao esperado, das concentrações de íon fluor decorrentes de interpolação em curvas de calibração ou por regressão linear, representando a média e desvio padrão de três análises feitas em dias diferentes. Os dados da tabela mostram que a precisão é maior para as amostras de maior concentração, não havendo diferença notória quer os resultados sejam obtidos por curva de calibração ou regressão linear. Quanto à exatidão, ela foi menor para os extremos de concentração e isto independente de se utilizar curva de calibração ou regressão linear.

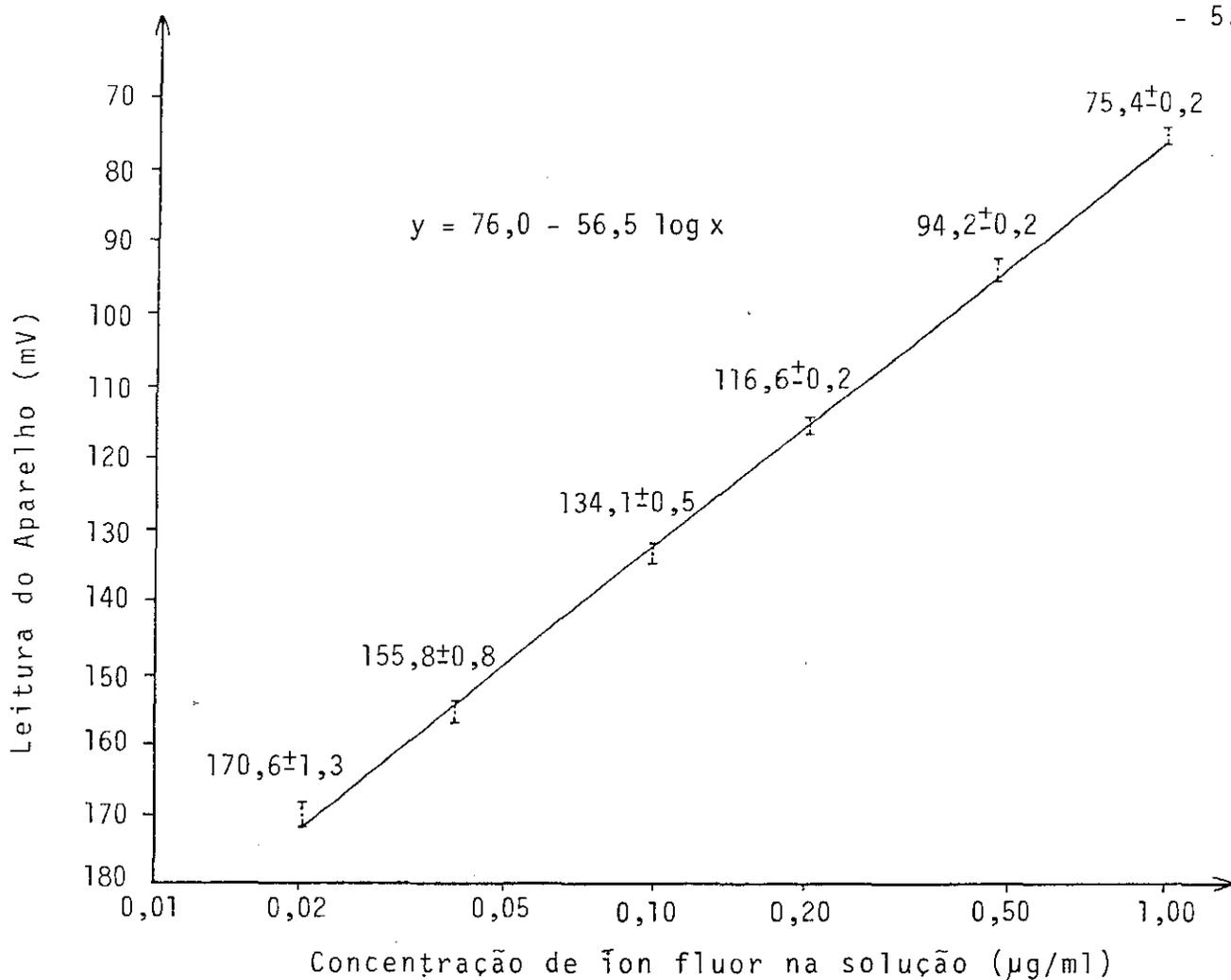


FIGURA 1 - Curva de calibração para determinação de íon fluor.

TABELA I - Comparação entre as concentrações de íon fluor esperadas e as obtidas por curva de calibração ou por regressão linear.

VALOR ESPERADO	CONCENTRAÇÃO DE ÍON FLUOR ($\mu\text{g/ml}$)	
	VALOR OBTIDO	
	CURVA DE CALIBRAÇÃO	REGRESSÃO LINEAR
1,00	$1,05 \pm 0,01$	$1,05 \pm 0,01$
0,50	$0,508 \pm 0,006$	$0,507 \pm 0,007$
0,20	$0,204 \pm 0,006$	$0,201 \pm 0,007$
0,10	$0,097 \pm 0,002$	$0,095 \pm 0,001$
0,05	$0,054 \pm 0,002$	$0,053 \pm 0,002$

2. CONCENTRAÇÃO DE ÍON FLUOR NOS FILHOTES

A figura 2 mostra que existe uma correlação positiva perfeita ($r = 0,9996$) entre a quantidade de p \ddot{o} de filhote (50 - 200 mg) desmineralizado e a concentração de íon fluor resultante na solução.

A tabela II, ilustrada na figura 3, exprime a concentração de íon fluor nos filhotes ($\mu\text{g/g}$) após três gestações sucessivas em que as ratas foram submetidas a diferentes tratamentos. Os resultados refletem a média e desvio padrão da concentração de F nos filhotes provenientes de três ratas. A exceção dos grupos I e V, onde a concentração de F aumentou progressivamente nos filhotes de gerações subsequentes, nos grupos II, III e IV houve aumento após a 2^a gestação, mas após a 3^a gestação a concentração foi menor ou praticamente igual à 1^a gestação. Nos filhotes oriundos de ratas dos grupos VI e VIII, às quais foi fornecida durante a 3^a gestação água com o dobro da concentração de F que havia sido ingerido nas duas primeiras gestações, observa-se que a concentração de F nos filhotes é bem maior do que a dos correspondentes grupos II e IV que continuaram com a mesma dieta. Nos filhotes provenientes de ratas dos grupos VII e IX, às quais foi fornecida durante a 3^a gestação água com a metade da concentração de F do que havia sido ingerido nas duas primeiras, observa-se que a concentração de F é menor do que a dos correspondentes grupos III e V que continuaram com a mesma dieta, no entanto ela foi maior do que a dos respectivos grupos II e IV que durante as três gestações tiveram as mesmas dietas dos grupos VII e IX.

A figura 4 mostra a relação entre as concentrações de íon fluor nos filhotes de três gestações sucessivas em função das concentrações de íon fluor nas águas fornecidas às ratas durante as gestações. Observa-se que a correlação entre as concentrações de F nos filhotes e a concentração de F na água ingerida pelas ratas é maior na 1.^a gestação ($r = 0,9999$) do que na 2.^a ($r = 0,9991$) e 3.^a ($r = 0,9876$). Assim, a correlação diminui progressivamente em gestações subsequentes nas mesmas condições experimentais.

Por regressão linear dos dados da tabela II, correspondentes à concentração de íon fluor nos filhotes em função da concentração de íon fluor fornecida às ratas durante as gestações, foram obtidas as equações $y = 1,12 + 0,19x$, $y = 2,50 + 0,20x$ e $y = 0,36 + 0,22x$ a partir das quais pode-se prever a concentração de íon fluor nos filhotes (y) em $\mu\text{g/g}$, tendo as ratas ingerido durante cada respectiva e sucessiva gestação água com x ppm de íon fluor.

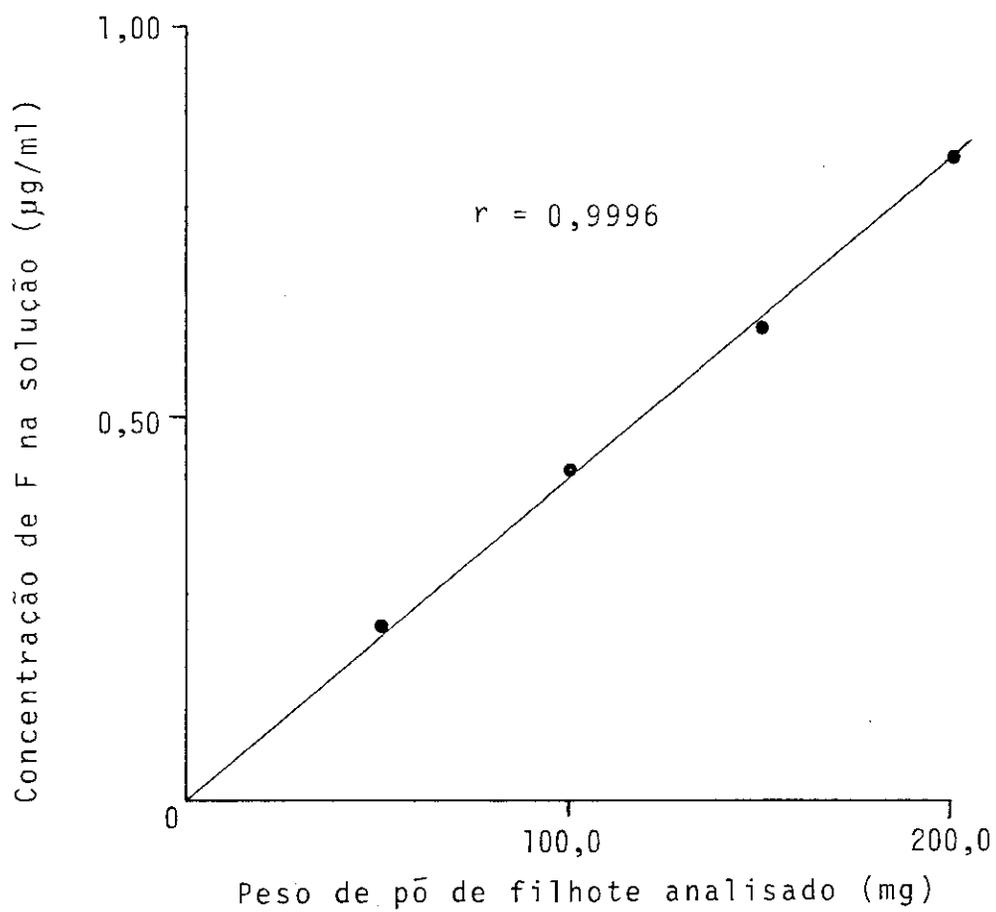


FIGURA 2 - Correlação entre as quantidades (mg) de p̄o de filhotes desmineralizados e as concentrações de ãon fluor na solução (µg/ml).

TABELA II - Concentração de íon fluor nos filhotes ($\mu\text{g/g}$) de ratas que durante três gestações foram submetidas a diferentes condições experimentais.

GRUPOS EXPERIMENTAIS DAS RATAS	GESTAÇÕES SUCESSIVAS		
	1 ^a	2 ^a	3 ^a
I	1,38 \pm 0,12*	1,41 \pm 0,12	1,86 \pm 0,19
II	3,69 \pm 0,22	4,82 \pm 0,94	4,27 \pm 0,50
III	5,76 \pm 0,54	7,62 \pm 0,88	5,72 \pm 0,67
IV	10,62 \pm 1,50	12,92 \pm 1,38	9,50 \pm 0,20
V	20,05 \pm 3,88	22,12 \pm 1,38	23,20 \pm 3,80
VI	-	-	8,05 \pm 1,45
VII	-	-	5,33 \pm 1,36
VIII	-	-	26,15 \pm 1,63
IX	-	-	13,20 \pm 0,50

* Média e desvio padrão da concentração de íon fluor em filhotes provenientes de três ratas, expressa em $\mu\text{gF/g}$ de peso seco.

- I - Ratas que ingeriram água destilada
 - II - Ratas as quais durante as gestações foi fornecida água com 12,5 ppm de íon fluor
 - III - Ratas que durante as gestações receberam água com 25,0 ppm de íon fluor
 - IV - Ratas que durante as gestações receberam água com 50,0 ppm de íon fluor
 - V - Ratas que durante as gestações receberam água com 100,0 ppm de íon fluor
 - VI - Ratas que durante as duas primeiras gestações receberam água com 12,5 ppm de íon fluor e na última 25,0 ppm F.
 - VII - Ratas que durante as duas primeiras gestações receberam água com 25,0 ppm de íon fluor e na última 12,5 ppm F.
 - VIII - Ratas que durante as duas primeiras gestações receberam água com 50,0 ppm de íon fluor e na última 100,0 ppm F.
 - IX - Ratas que durante as duas primeiras gestações receberam água com 100,0 ppm de íon fluor e na última 50,0 ppm F.
- No período entre as gestações foi fornecida água destilada às ratas.

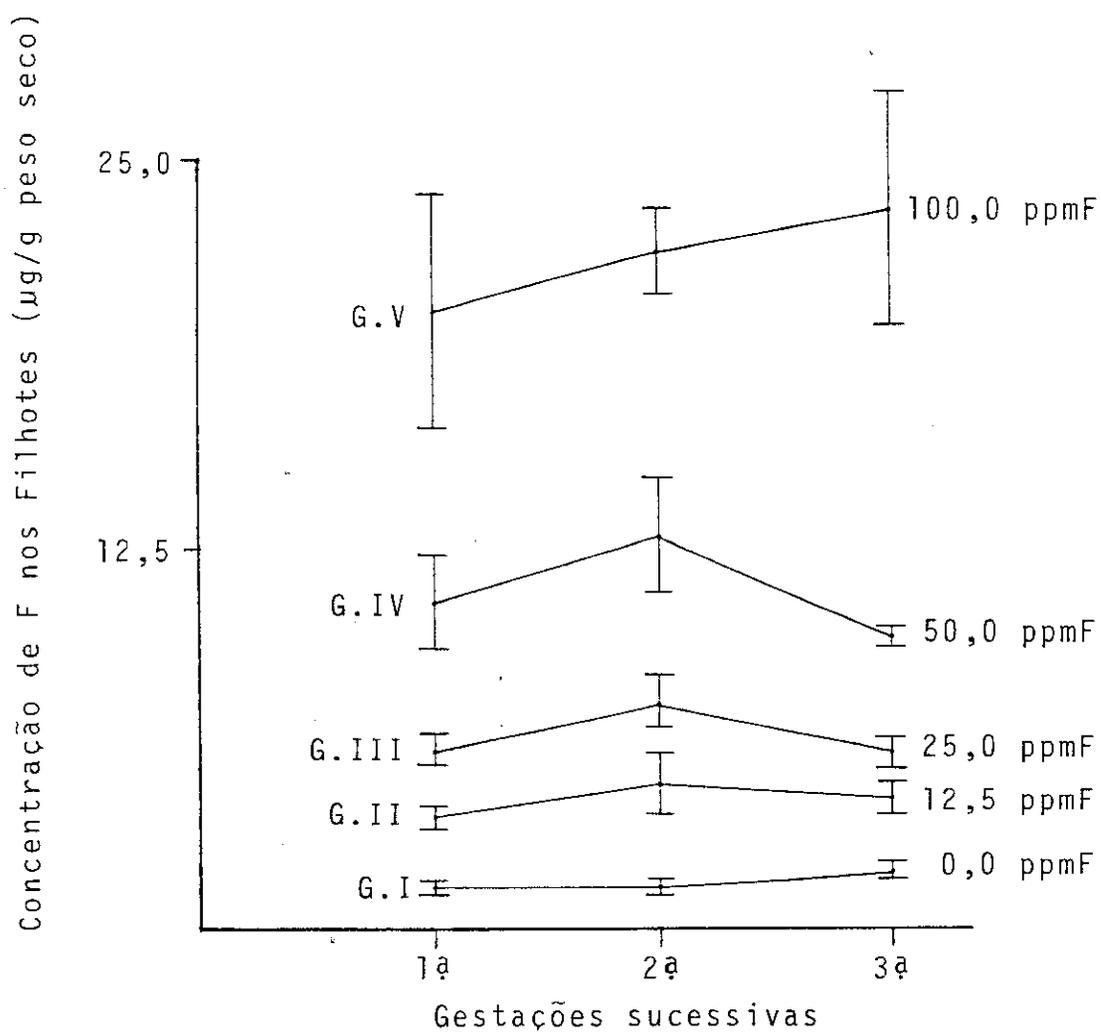


FIGURA 3 - Concentração de íon fluor nos filhotes de três gestações sucessivas em cujas gestações as ratas receberam água fluoretada de diferentes concentrações.

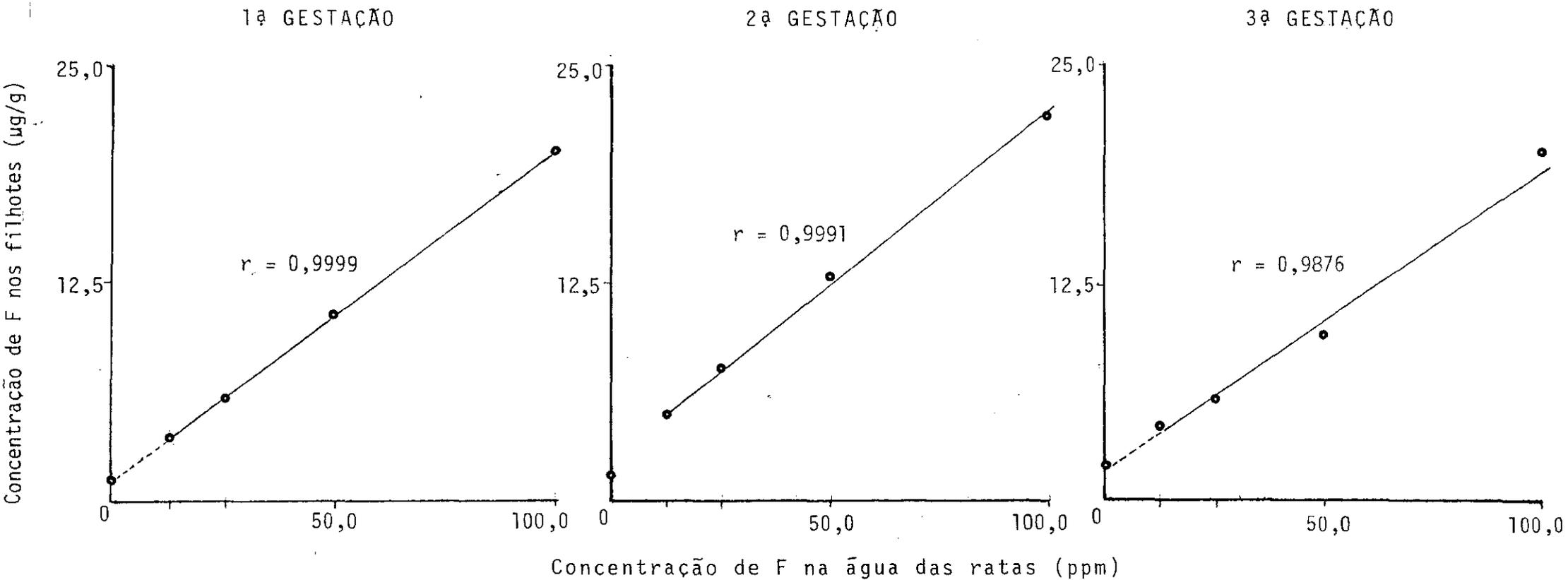


FIGURA 4 - Correlação entre as concentrações de íon fluor nos filhotes (ug/g) de três gestações em função das concentrações de íon fluor nas águas (ppm) fornecidas às ratas durante as gestações.

3. CONCENTRAÇÃO DE ÍON FLUOR NO PLASMA DAS RATAS

A tabela III mostra a variação da concentração de íon fluor no plasma das ratas após gestações sucessivas nas quais água fluoretada de diferentes concentrações foi fornecida às mesmas. Esta tabela expressa também a concentração de íon fluor no plasma das ratas antes de se iniciar o tratamento com água fluoretada durante a 3.^a gestação. Observa-se que a concentração no plasma das ratas dentro do grupo experimental aumenta progressivamente em função do número de gestações sob as mesmas condições, comportamento este constatado em todos os grupos, o qual está ilustrado na figura 5. Verifica-se também, à exceção do grupo I, que a concentração no plasma das ratas dentro de um mesmo grupo experimental era menor antes da 3.^a gestação do que logo após a 2.^a. Além do mais, observa-se que a concentração no plasma das ratas antes de se iniciar a 3.^a gestação era praticamente igual nos grupos I, II e III.

A figura 6 representa a relação entre a concentração de íon fluor no plasma das ratas em função da concentração deste íon na água fornecida a estes animais durante três gestações sucessivas. Observa-se uma boa correlação entre as variáveis, $r = 0,9909$ e $0,9914$ para as duas primeiras gestações, diminuindo na terceira para $0,9852$.

Por regressão linear dos dados da tabela III, foram obtidas as equações $y = 2,59 + 0,70x$, $y = 11,97 + 0,78x$ e $y = 25,78 + 0,89x$, a partir das quais poderá ser determinada qual será a concentração de F no plasma das ratas (ng/ml) após terem as mesmas ingerido água com x ppm de F durante sucessivamente e respectivamente a 1.^a, 2.^a e 3.^a gestação.

TABELA III - Concentração de íon fluor no plasma (ng/ml) das ratas antes e após sucessivas gestações em que as mesmas foram submetidas a diferentes condições experimentais.

GRUPOS EXPERIMENTAIS	ÉPOCA DA ANÁLISE			
	APÓS A 1. ^a GESTAÇÃO	APÓS A 2. ^a GESTAÇÃO	ANTES DA 3. ^a GESTAÇÃO	APÓS A 3. ^a GESTAÇÃO
I	6,8 ± 5,4*	13,3 ± 3,4	14,1 ± 2,1	25,0 ± 1,2
II	10,6 ± 5,1	18,3 ± 2,5	13,9 ± 2,8	39,3 ± 4,5
III	23,9 ± 6,4	37,2 ± 14,5	14,8 ± 0,3	51,3 ± 0,4
IV	32,8 ± 19,9	49,1 ± 8,6	17,0 ± 0,2	61,4 ± 3,1
V	74,4 ± 7,6	90,7 ± 2,1	20,4 ± 6,6	118,4 ± 48,4
VI	-	-	-	41,2 ± 9,2
VII	-	-	-	43,3 ± 11,1
VIII	-	-	-	94,0 ± 73,4
IX	-	-	-	103,9 ± 28,4

*Média e desvio padrão da concentração de íon fluor no plasma (ng/ml) de três ratas.

GRUPO I - Ratas que receberam água destilada

GRUPOS I a V - Ratas que durante as gestações receberam água com respectivamente 12,5, 25,0, 50,0 e 100,0 ppm de F e entre as mesmas água destilada

GRUPO VI - Ratas que durante as duas primeiras gestações receberam água com 12,5 ppm de íon fluor e na última 25,0 ppm F.

GRUPO VII - Ratas que durante as duas primeiras gestações receberam água com 25,0 ppm de íon fluor e na última 12,5 ppm F

GRUPO VIII - Ratas que durante as duas primeiras gestações receberam água com 50,0 ppm de íon fluor e na última 100,0 ppm F

GRUPO IX - Ratas que durante as duas primeiras gestações receberam água com 100,0 ppm de íon fluor e na última 50,0 ppm F

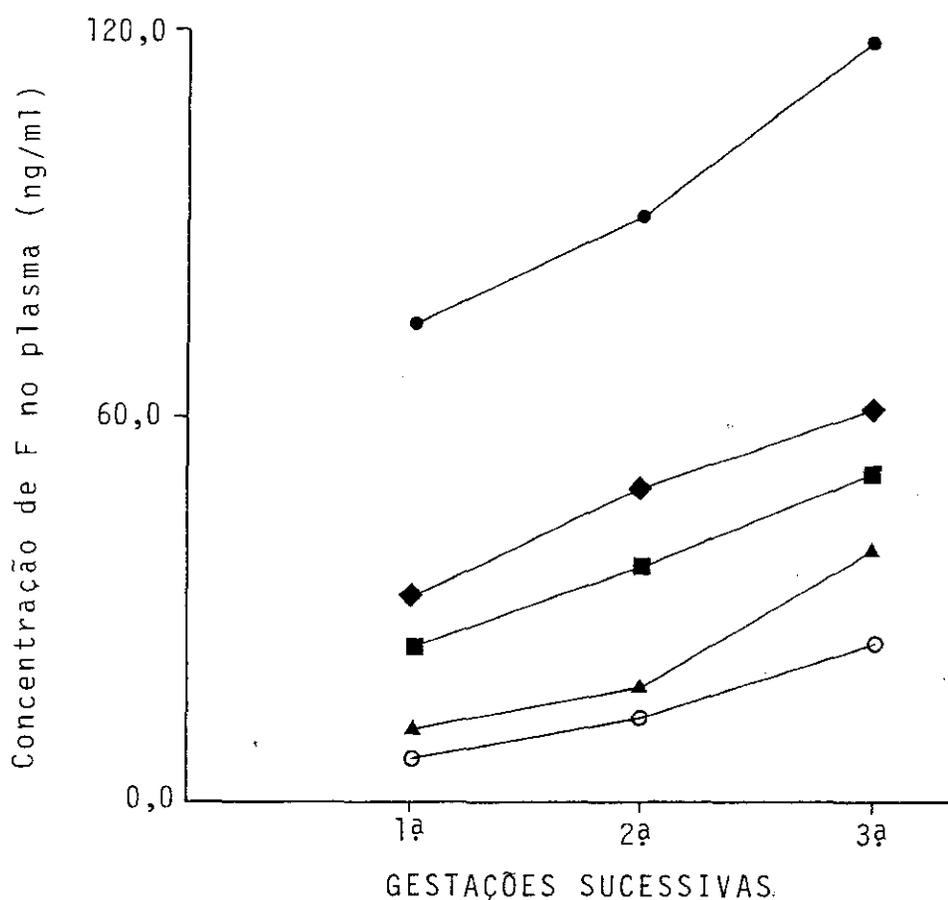


FIGURA 5 - Concentração de íon fluor no plasma das ratas (ng/ml) em função do número de gestações e da concentração da água fluoreta ingerida durante as mesmas - H₂O destilada (○-○); 12,5 ppmF (▲-▲); 25,0 ppmF (■-■); 50,0 ppmF (◆-◆) e 100,0 ppmF (●-●).

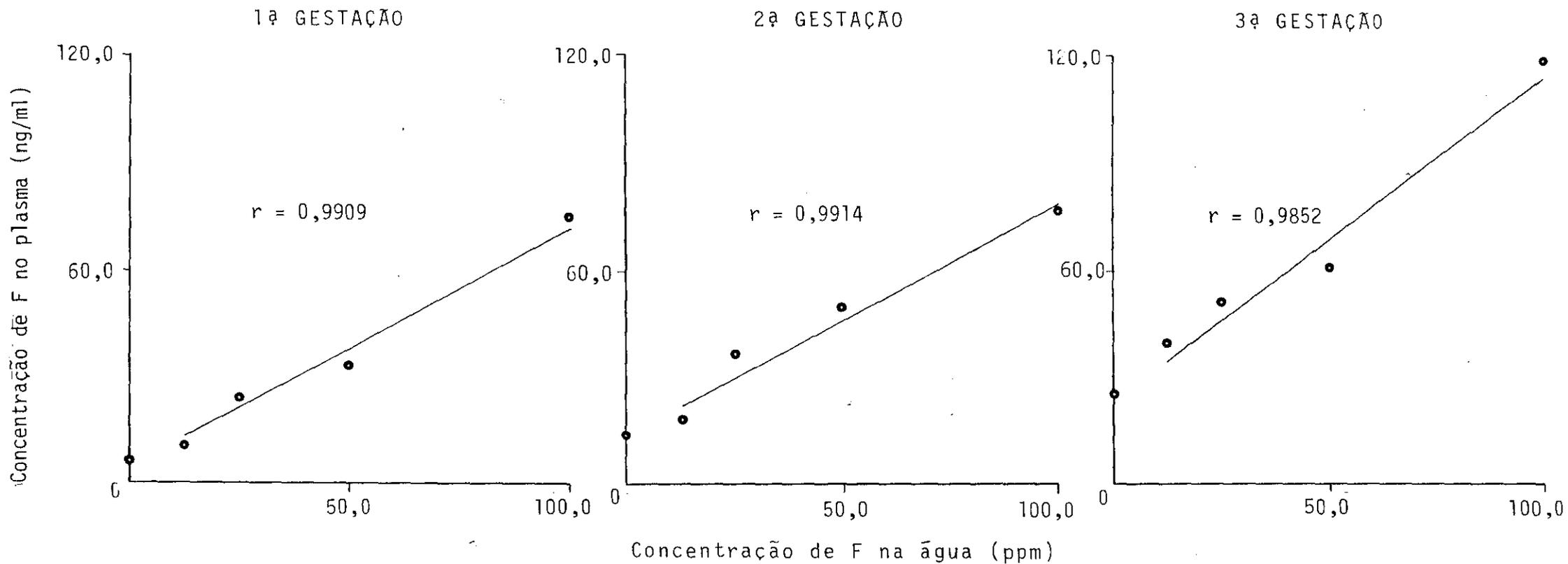


FIGURA 6 - Correlação entre as concentrações de íon fluor no plasma das ratas (ng/ml) em função da concentração de íon fluor na água (ppm) oferecida a estes animais durante sucessivas gestações.

4. CONCENTRAÇÃO DE ÍON FLUOR NO FEMUR DAS RATAS: NO OSSO TOTAL PULVERIZADO

A figura 7 representa a relação entre a concentração de íon fluor na solução em função da quantidade de pó de osso desmineralizado. Observa-se que até 40,0 mg de osso para 50,0 ml de solução de análise há uma relação diretamente proporcional.

A tabela IV mostra a variação de concentração de íon fluor no pó do femur das ratas após sucessivas gestações ingerindo água fluoretada de diversas concentrações. Nesta tabela encontra-se também a concentração de F no femur das ratas antes de se iniciar a 3ª gestação. Os dados da tabela mostram, dentro dos grupos experimentais, que a concentração de F no femur aumentou progressivamente após as sucessivas gestações, o que está ilustrado na figura 8. Verifica-se também, em todos os grupos, que houve uma diminuição da concentração de F no femur das ratas quando compara-se a análise após a 2ª gestação com aquela que antecede a 3ª gestação.

A figura 9 relaciona a concentração de íon fluor no femur das ratas em função da concentração deste íon na água fornecida a estes animais durante três gestações sucessivas. Observa-se uma linearidade entre a concentração de F no femur com a concentração da água fluoretada de até 50,0 ppm, a qual se repetiu após todas as gestações. Verifica-se que a extrapolação da reta no sentido do eixo das ordenadas coincide com a concentração de F encontrada no femur, dos animais que ingeriram água destilada.

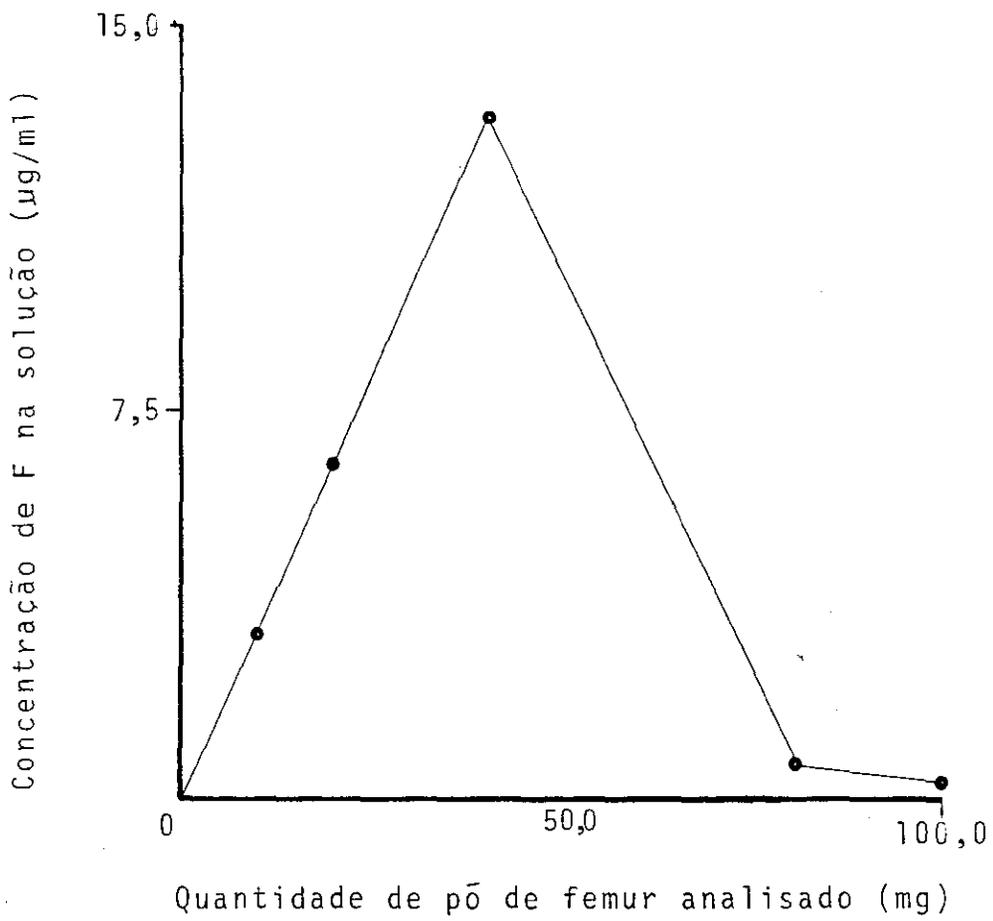


FIGURA 7 - Relação entre as quantidades (mg) de pó de femur desmineralizado e as concentrações de íon fluor na solução (µg/ml).

TABELA IV - Concentração de íon fluor no p \bar{o} do femur ($\mu\text{gF/g}$ - p \bar{e} so s \bar{e} co) das ratas antes e ap \bar{o} s as sucessivas gesta \bar{c} o \bar{e} s em que as mesmas foram submetidas a diferentes condi \bar{c} o \bar{e} s experimentais.

GRUPOS EXPERIMENTAIS	ÉPOCA DA ANÁLISE			
	AP \bar{O} S A 1 $^{\text{a}}$ GESTA \bar{C} ÃO	AP \bar{O} S A 2 $^{\text{a}}$ GESTA \bar{C} ÃO	ANTES DA 3 $^{\text{a}}$ GESTA \bar{C} ÃO	AP \bar{O} S A 3 $^{\text{a}}$ GESTA \bar{C} ÃO
I	292,5 \pm 6,1*	339,2 \pm 49,0	290,0 \pm 7,1	408,3 \pm 20,2
II	461,7 \pm 29,3	618,3 \pm 42,5	545,0 \pm 7,1	712,5 \pm 125,0
III	622,5 \pm 35,4	816,7 \pm 80,4	692,5 \pm 38,9	920,0 \pm 106,1
IV	1078,3 \pm 53,5	1212,5 \pm 50,0	1060,0 \pm 35,4	1612,5 \pm 88,4
V	1465,0 \pm 175,1	1854,2 \pm 50,5	1575,0 \pm 587,9	2375,0 \pm 125,0
VI	-	-	-	780,0 \pm 63,6
VII	-	-	-	925,0 \pm 90,1
VIII	-	-	-	1812,5 \pm 159,1
IX	-	-	-	2050,0 \pm 35,4

* Média e desvio padrão da concentração de íon fluor no femur ($\mu\text{g/g}$) de três ratas.

GRUPO I - Ratas que receberam água destilada

GRUPOS I a IV - Ratas que durante as gesta \bar{c} o \bar{e} s receberam água com respectivamente 12,5, 25,0, 50,0 e 100,0 ppm de F, sendo que entre os períodos pré-natais receberam água destilada

GRUPO VI - Ratas que receberam durante as duas primeiras gesta \bar{c} o \bar{e} s água com 12,5 ppm F, com 25,0 ppm na última e água destilada nos intervalos

GRUPO VII - Ratas que receberam água com 25,0 ppm F durante as duas primeiras gesta \bar{c} o \bar{e} s, com 12,5 ppm durante a 3 $^{\text{a}}$ e água destilada nos intervalos.

GRUPO VIII - Ratas que receberam água com 50,0 ppm F durante as duas primeiras gesta \bar{c} o \bar{e} s, com 100,0 ppm durante a 3 $^{\text{a}}$ e água destilada nos intervalos.

GRUPO IX - Ratas que receberam água com 100,0 ppm F durante as duas primeiras gesta \bar{c} o \bar{e} s, com 50,0 ppm durante a 3 $^{\text{a}}$ e água destilada nos intervalos.

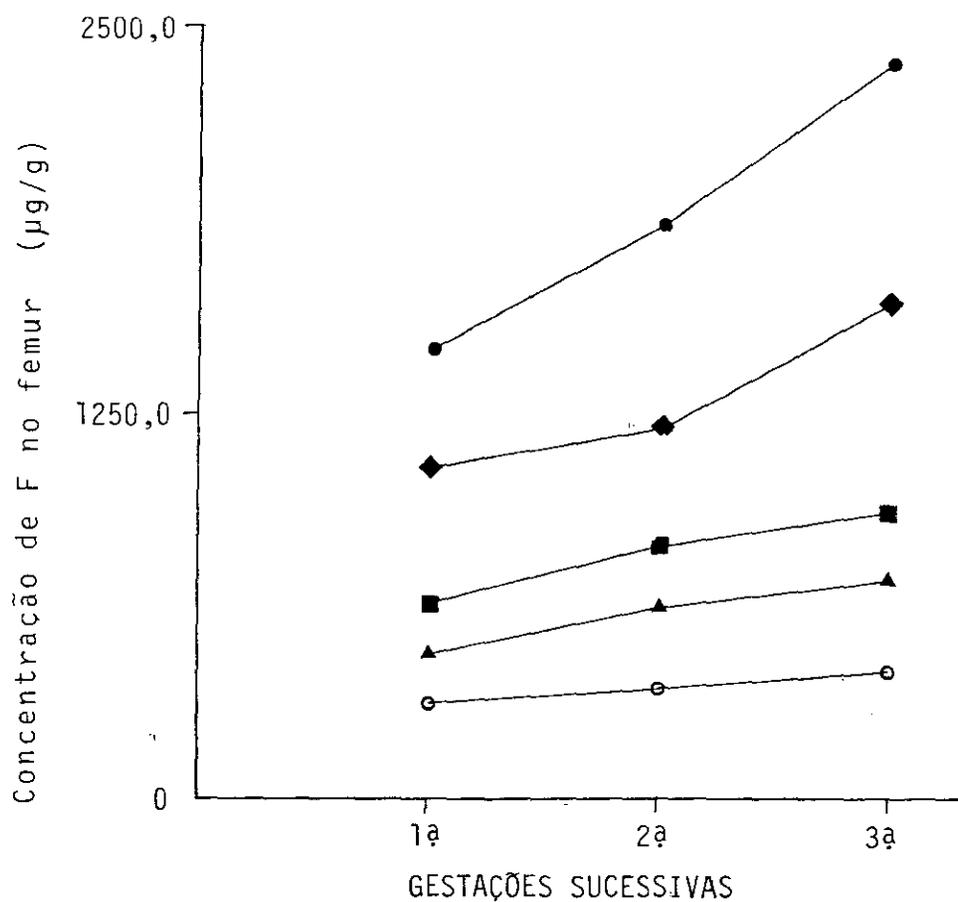


FIGURA 8 - Concentração de íon fluor no femur das ratas ($\mu\text{g/g}$) em função do número de gestações e da concentração da água fluoretada ingerida durante as mesmas - Água Destilada (o-o); 12,5 ppmF (\blacktriangle - \blacktriangle); 25,0 ppmF (\blacksquare - \blacksquare); 50,0 ppmF (\blacklozenge - \blacklozenge) e 100,0 ppmF (\bullet - \bullet).

1ª GESTAÇÃO

2ª GESTAÇÃO

3ª GESTAÇÃO

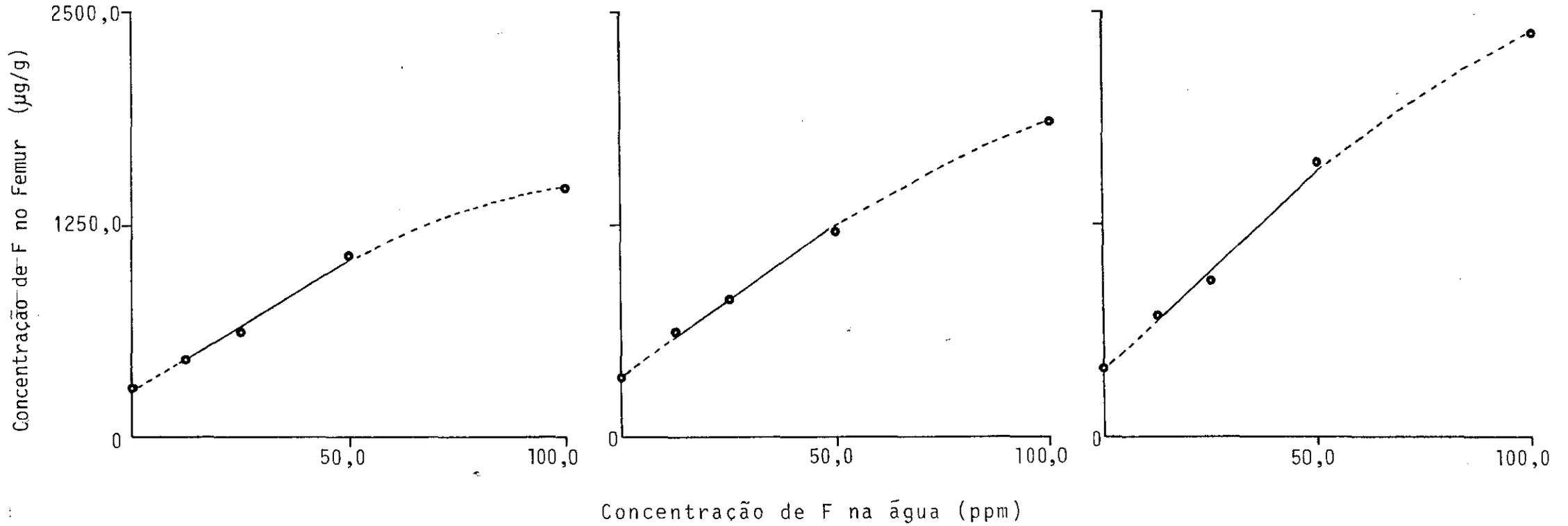


FIGURA 9 - Concentração de íon fluor no femur das ratas ($\mu\text{gF/g}$ pêso sêco) em função da concentração da água fluoretada fornecida a estes animais durante gestações sucessivas.

5. CONCENTRAÇÃO DE ÍON FLUOR NO FEMUR DAS RATAS: ANÁLISE ESTRATIFICADA PERIÓSTEO ENDÓSTEO

As figuras 10 a 12 mostram a variação da concentração de íon fluor do periosteio ao endosteio de três regiões do femur das ratas, em função da sua concentração na água fornecida aos animais e do número de gestações em que os mesmos foram submetidos a estes tratamentos. O modelo de distribuição de F do periosteio ao endosteio evidencia uma maior concentração superficial e menor nas regiões mais internas. No entanto, enquanto que após a 1ª gestação o decréscimo de concentração de F se fazia de uma forma progressiva desde a região periosteica tendendo a aumentar na endosteica, após as 2ª e 3ª gestações são observados picos internos de alta concentração de F. Pelas análises das figuras de 10 a 12 observa-se também que, após a 1ª gestação as diferenças de concentração de F no femur em função da sua concentração na água oferecida aos animais se limita a uma distância de até aproximadamente 150 um da região periosteica. Após esta distância não são observadas diferenças nas concentrações ósseas de F, quer o animal tenha ingerido água destilada, 12,5 ou 25,0 ppm de F, o que está bem caracterizado na extremidade superior e na porção média do femur. Já a ingestão de 50,0 ou 100,0 ppm de F altera as concentrações de F nas camadas internas do femur, o que é bem evidente na sua extremidade inferior. Após as 2ª e 3ª gestações ingerindo água fluoretada, já se evidencia que mesmo 12,5 ppm de F provoca em relação ao controle (água destilada) diferença na concentração de F em toda a extensão do femur.

As figuras de 13 a 17 mostram, em cada grupo ex

perimental, a variação da concentração de fluor do periosteio ao endosteio do femur das ratas após as sucessivas gestações. Verifica-se que a concentração de F na região periosteia foi maior após a 2.^a gestação do que após a 1.^a ou 3.^a, sendo a da última gestação menor do que a da 1.^a. Observa-se pelas análises antes da 3.^a gestação que ocorre em relação a análise após a 2.^a, uma diminuição na concentração de F da região periosteia.

A figura 18 compara as concentrações de F do periosteio ao endosteio de ratas que durante duas gestações sucessivas foram submetidas a água fluoretada e sendo sacrificadas antes do início do 3º cruzamento. Observa-se que a mobilização óssea faz com que na região periosteia da extremidade superior do femur a concentração de F seja igual nos grupos ingerindo água destilada, 12,5 ou 25,0 ppm F. Observa-se também nas extremidades superior e média que até praticamente uma distância de 150 µm do periosteio não há diferença na concentração de F, sendo que na porção inferior já ocorre uma diminuição gradativa da concentração de F.

A figura 19 mostra o efeito de se ingerir durante a 3.^a gestação o dobro da concentração de F ingerido durante as duas primeiras. Observa-se que isto provoca um aumento na concentração de F no femur, o qual se limita a uma distância de até aproximadamente 150 µm do periosteio.

SUPERIOR

MÉDIA

INFERIOR

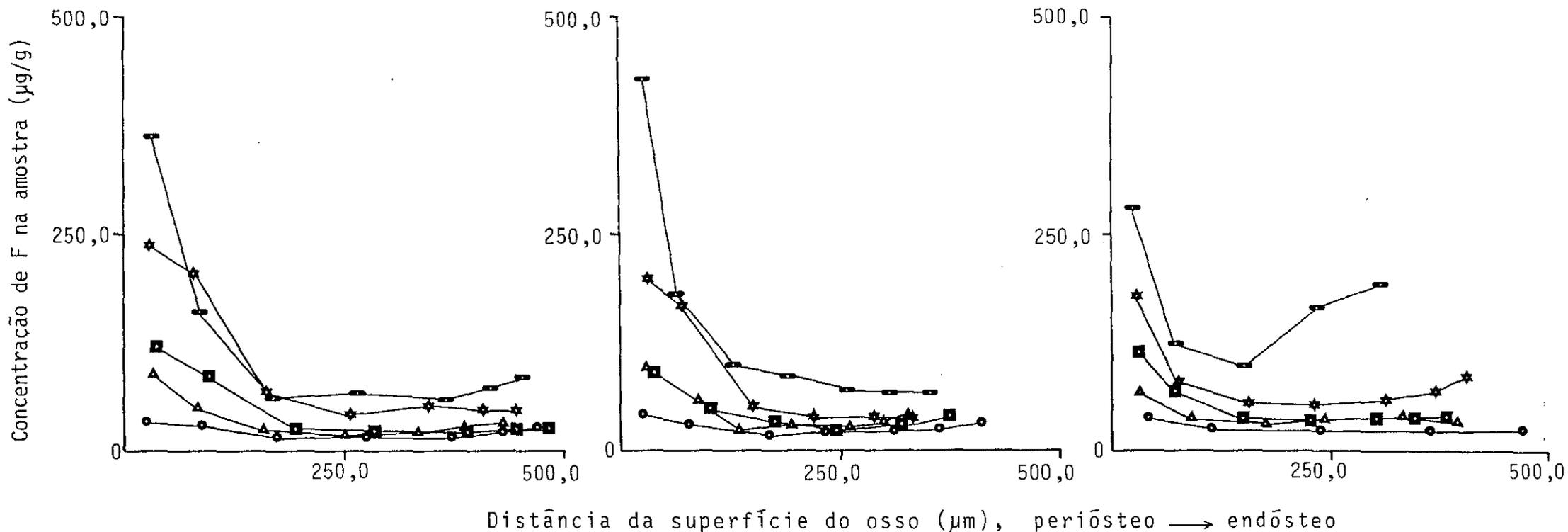


FIGURA 10 - Concentração de íon fluor ($\mu\text{g/g}$ osso removido) em função da distância da superfície óssea da porção média e das extremidades superior e inferior do fêmur de ratas que foram sacrificadas após a 1ª gestação na qual ingeriram água destilada ou água fluoretada.

- — ● água destilada
- ▲ — ▲ 12,5 ppm F
- — ■ 25,0 ppm F
- ★ — ★ 50,0 ppm F
- ▣ — ▣ 100,0 ppm F

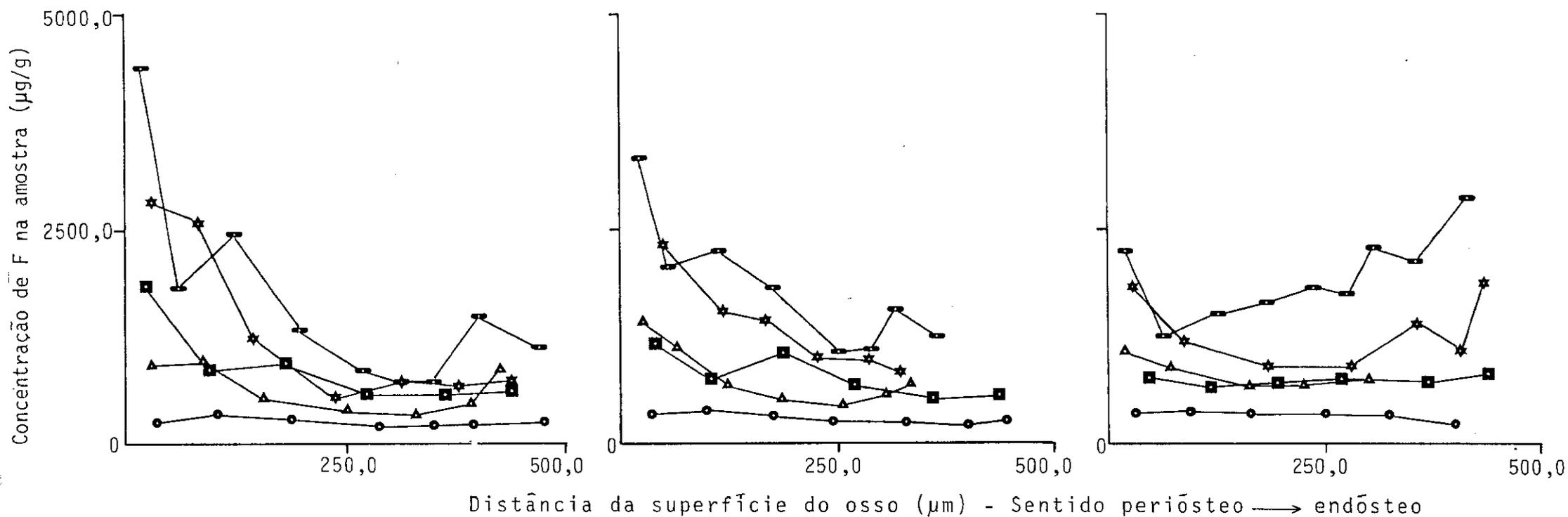


FIGURA 11 - Concentração de íon fluor ($\mu\text{g/g}$ osso removido) em função da distância da superfície óssea da porção média e das extremidades superior e inferior do fêmur de ratas que durante as duas gestações ingeriram água destilada ou água fluoretada, sendo sacrificadas após a 2ª

- — ● água destilada
- ▲ — ▲ 12,5 ppm F
- — ■ 25,0 ppm F
- * — * 50,0 ppm F
- ◼ — ◼ 100,0 ppm F

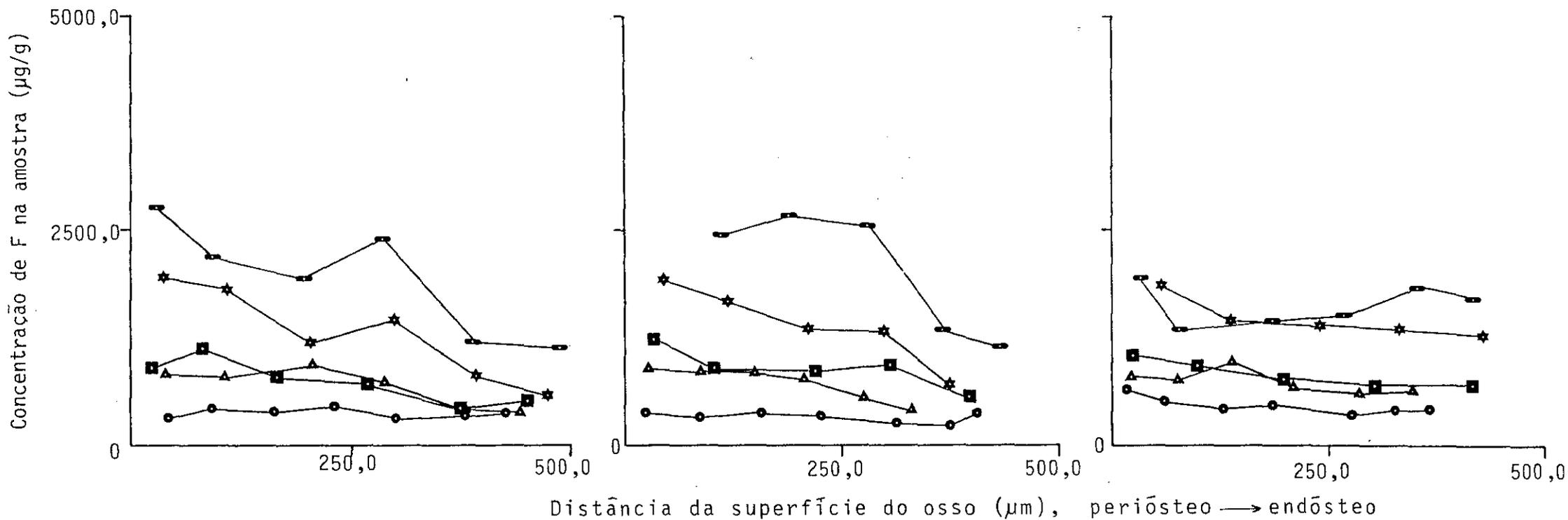


FIGURA 12 - Concentração de íon fluor ($\mu\text{g/g}$ osso removido) em função da distância da superfície óssea da porção média e das extremidades superior e inferior do fêmur de ratas que durante três gestações ingeriram água destilada ou água fluoretada sendo sacrificadas após a 3ª.

- — ○ água destilada
- ▲ — ▲ 12,5 ppm F
- — ■ 25,0 ppm F
- ★ — ★ 50,0 ppm F
- ▣ — ▣ 100,0 ppm F

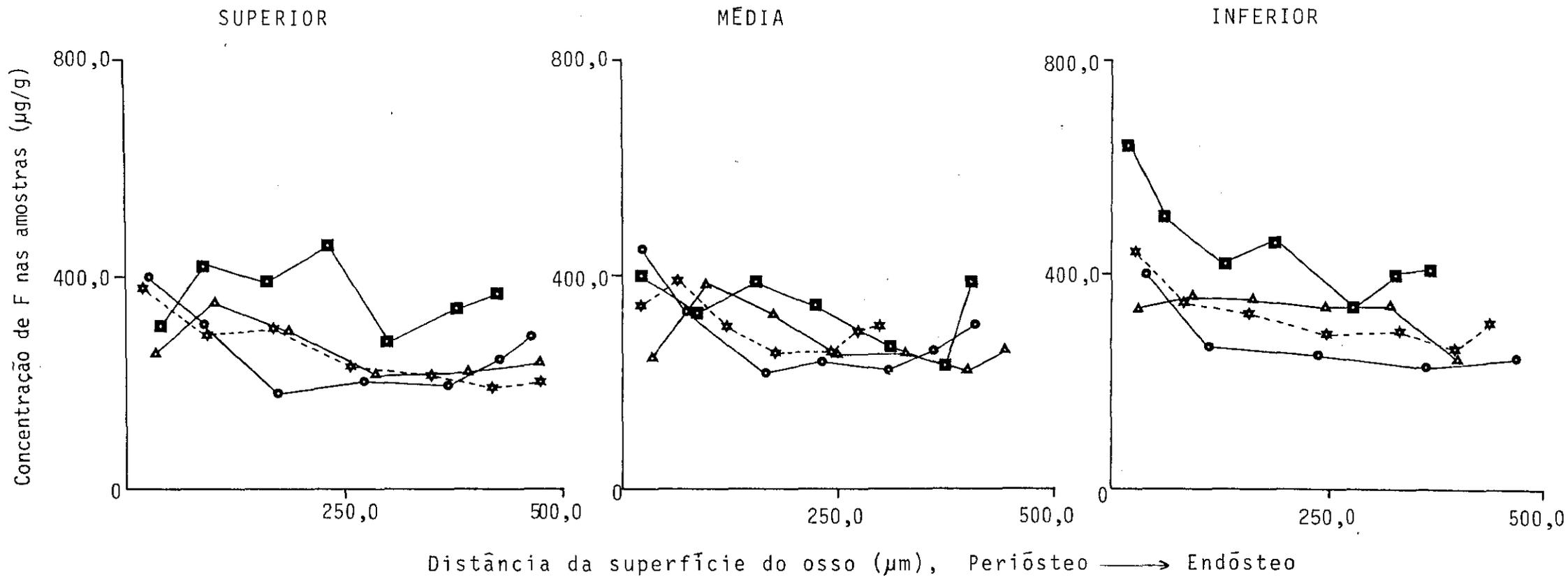


FIGURA 13 - Concentração de íon fluor ($\mu\text{g/g}$ osso removido) em função da distância da superfície óssea e da porção média e das extremidades superior e inferior do fêmur de ratas que ingeriram água destilada e tiveram três gestações.

Após a 1ª gestação (●—●); após a 2ª gestação (▲—▲); após a 3ª gestação (■—■) e antes da 3ª gestação (*----*).

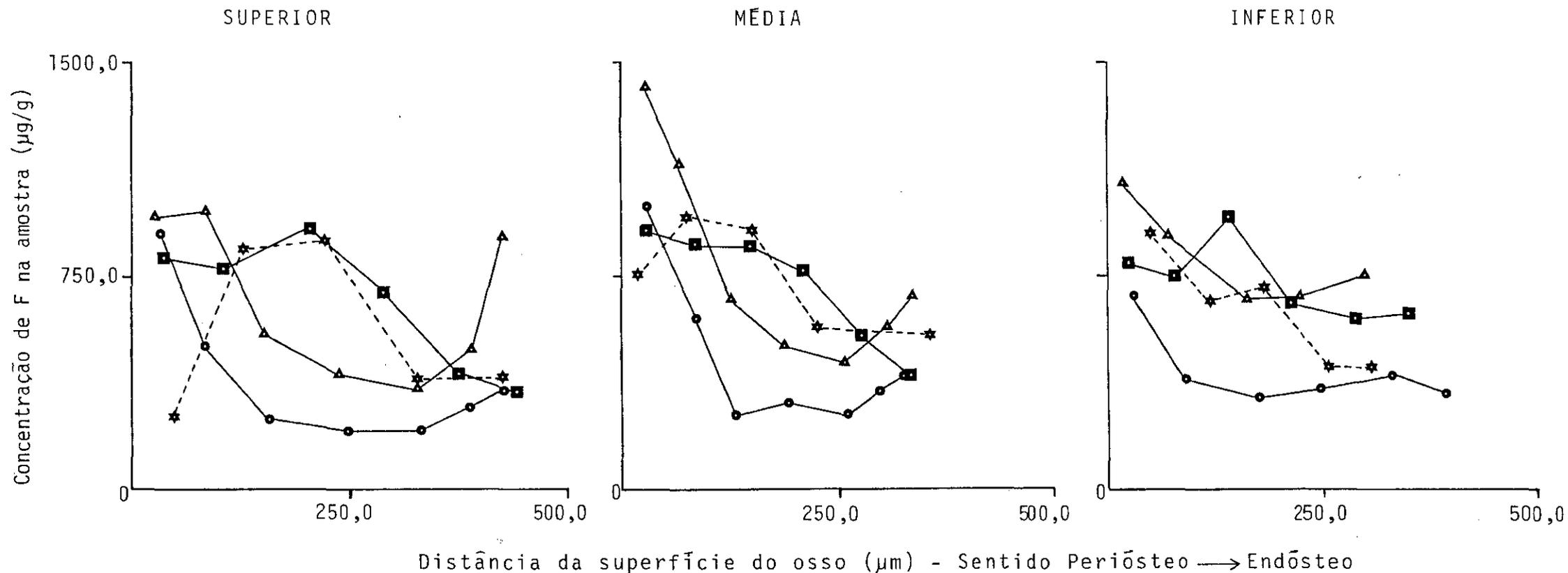


FIGURA 14 - Concentração de íon fluor ($\mu\text{g/g}$ osso removido) em função da distância da superfície óssea da porção média e das extremidades superior e inferior do fêmur de ratas que receberam água com 12,5 ppm F durante as gestações e água destilada nos intervalos.

Após a 1ª gestação (●—●); após a 2ª gestação (▲—▲); após a 3ª gestação (■—■) e antes da 3ª gestação (*----*).

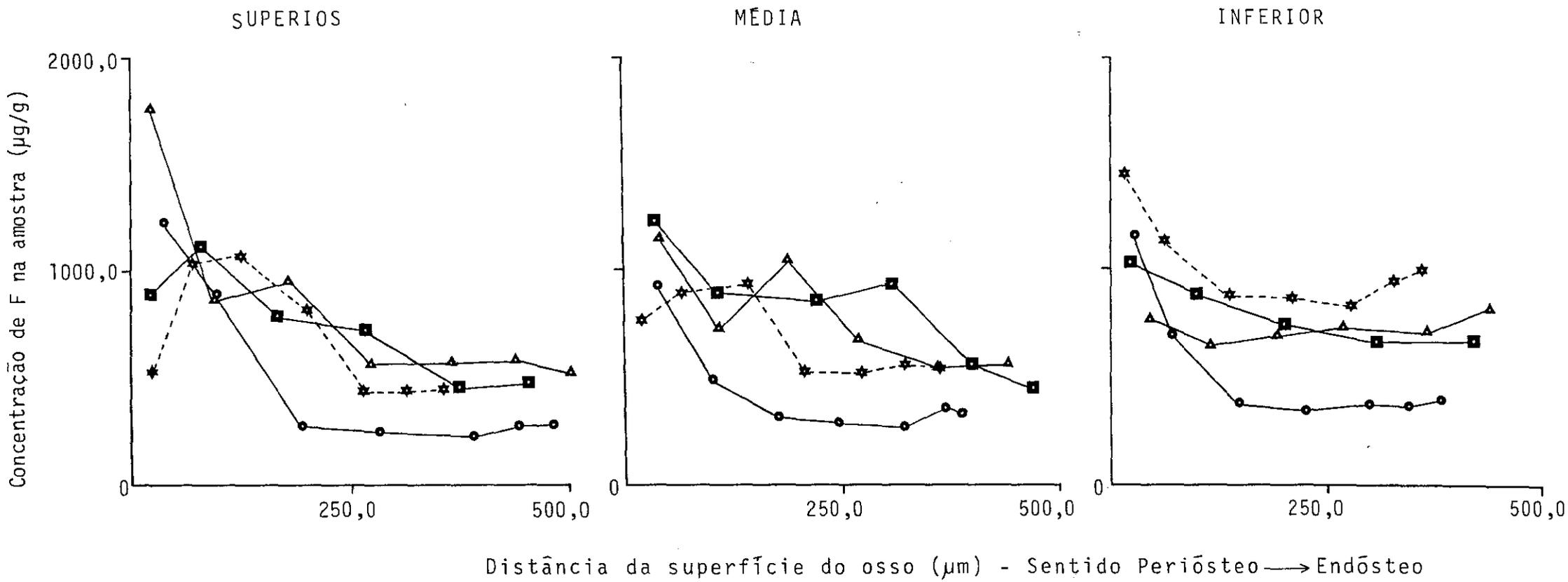


FIGURA 15 - Concentração de íon fluor (µg/g osso removido) em função da distância da superfície óssea, da porção média e das extremidades superior e inferior do fêmur de ratas que receberam água com 25,0 ppm F durante as gestações e água destilada nos intervalos.

Após a 1ª gestação (•—•); após a 2ª gestação (▲—▲); após a 3ª gestação (■—■) e antes da 3ª gestação (*----*).

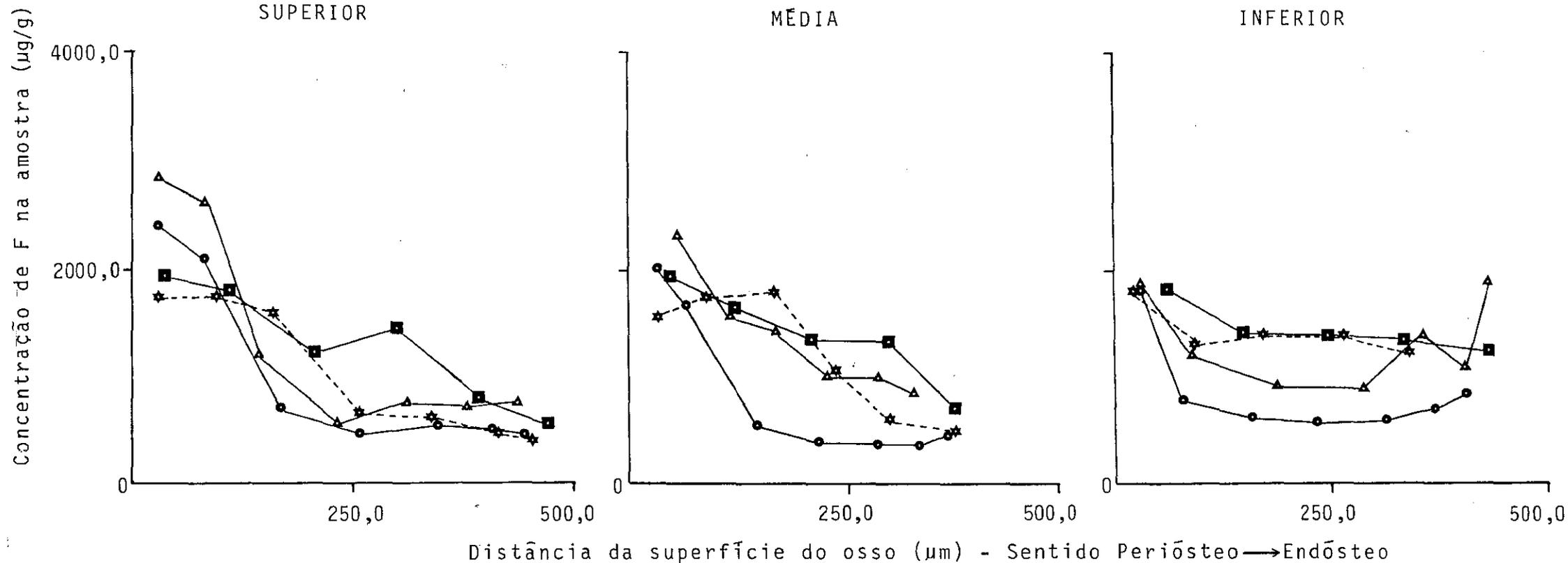


FIGURA 16 - Concentração de íon fluor ($\mu\text{g/g}$ osso removido) em função da distância da superfície óssea da porção média e das extremidades superior e inferior do fêmur de ratas que receberam água com 50,0 ppmF durante as gestações e água destilada nos intervalos. Após a 1ª gestação (●—●); após a 2ª gestação (▲—▲); após a 3ª gestação (■—■) e antes da 3ª gestação (★----★).

SUPERIOR

MÉDIA

INFERIOR

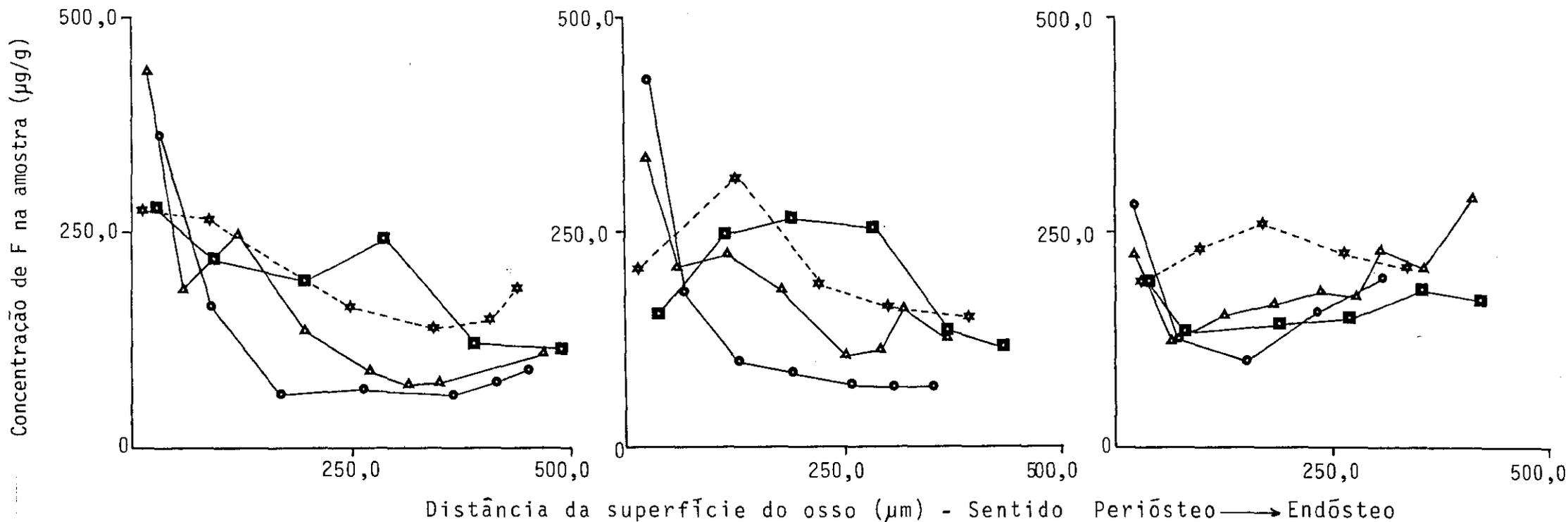


FIGURA 17 - Concentração de íon fluor ($\mu\text{g/g}$ osso removido) em função da distância da superfície óssea da porção média e das extremidades superior e inferior do fêmur de ratas que receberam água com 100,0 ppm F durante as gestações e água destilada nos intervalos.

Após a 1ª gestação (●—●); após a 2ª gestação (▲—▲); após a 3ª gestação (■—■) e antes da 3ª gestação (★-----★).

SUPERIOR

MÉDIA

INFERIOR

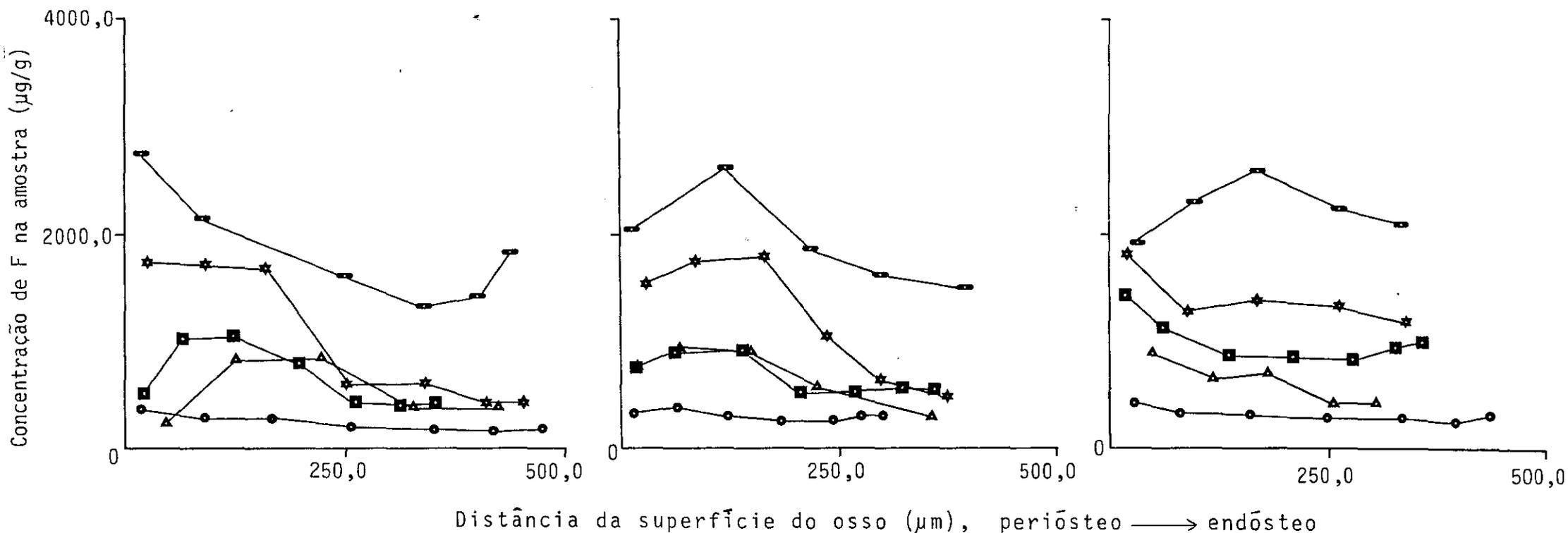


FIGURA 18 - Concentração de íon fluor ($\mu\text{g/g}$ osso removido) em função da distância da superfície óssea da porção média e das extremidades superior e inferior do fêmur de ratos que durante duas gestações ingeriram água destilada ou água fluoretada sendo sacrificadas antes do 3º cruzamento.

- — ● água destilada
- ▲ — ▲ 12,5 ppm F nas gestações e água destilada nos intervalos
- — ■ 25,0 ppm F nas gestações e água destilada nos intervalos
- ★ — ★ 50,0 ppm F nas gestações e água destilada nos intervalos
- — — 100,0 ppm F nas gestações e água destilada nos intervalos

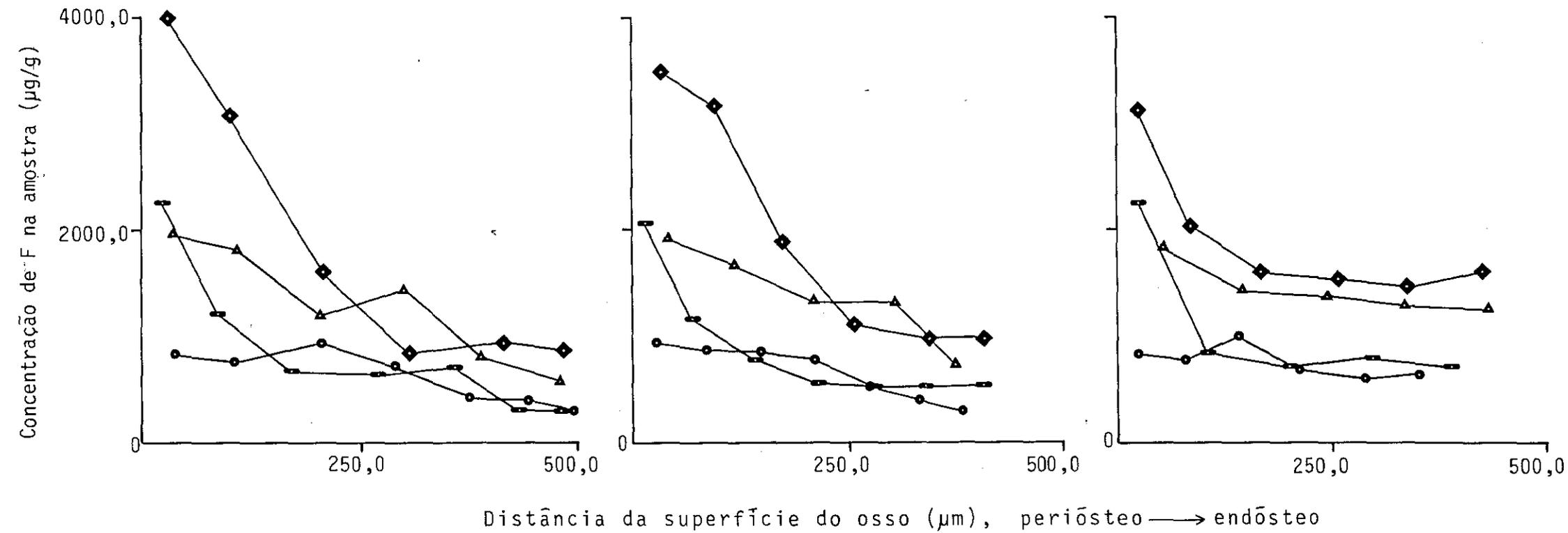


FIGURA 19 - Concentração de íon fluor ($\mu\text{g/g}$ osso removido) em função da distância da superfície óssea da porção média e das extremidades superior e inferior do fêmur de ratas que durante três gestações ingeriram água fluoretada, sendo sacrificadas após a 3ª

- 12,5 ppm F durante as três gestações
- 12,5 ppm F durante as duas primeiras gestações e 25,0 ppm F durante a 3ª
- ▲—▲ 50,0 ppm F durante as três gestações
- ◆—◆ 50,0 ppm F durante as duas primeiras gestações e 100,0 ppm F durante a 3ª

6. CONCENTRAÇÃO DE ÍON FLUOR NA MANDÍBULA DAS RATAS

A tabela V mostra os resultados da concentração de íon fluor na mandíbula das ratas em função das condições experimentais as quais foram submetidos estes animais. Os dados da tabela mostram que dentro dos grupos experimentais houve um aumento progressivo da concentração de F nas mandíbulas em função do número de gestações, o que está ilustrado na figura 20. Observa-se pelos dados de antes da 3ª gestação que só houve uma diminuição absoluta na concentração de F na mandíbula dos animais que durante as duas primeiras gestações ingeriram água com 25,0 ppm F. Nos outros grupos, neste período em que os animais não ingeriram água fluoretada, houve inclusive um aumento na concentração de F.

A figura 21 relaciona, após cada gestação, a concentração de F na mandíbula das ratas em função da concentração da água fluoretada. Verifica-se que há uma linearidade quando a água fluoretada ingerida possui de 12,5 a 50,0 ppm de F. Observa-se que a extrapolação da reta no sentido do eixo das ordenadas não atinge a concentração de F encontrada na mandíbula dos animais que ingeriram água destilada.

TABELA V - Concentração de íon fluor na mandíbula ($\mu\text{gF/g}$ pêsco sêco) das ratas antes e apôs sucessivas gestações em que as mesmas foram submetidas a diferentes condições experimentais.

GRUPOS EXPERIMENTAIS	ÉPOCA DA ANÁLISE			
	APÓS A 1. ^a GESTAÇÃO	APÓS A 2. ^a GESTAÇÃO	ANTES DA 3. ^a GESTAÇÃO	APÓS A 3. ^a GESTAÇÃO
I	275,0 \pm 18,0*	318,3 \pm 38,3	310,0 \pm 7,1	329,2 \pm 8,8
II	396,7 \pm 24,7	594,2 \pm 56,2	657,5 \pm 46,0	660,8 \pm 120,0
III	591,7 \pm 50,6	865,0 \pm 106,4	806,2 \pm 97,2	882,5 \pm 88,4
IV	1096,7 \pm 71,8	1308,3 \pm 52,0	1437,5 \pm 88,4	1790,0 \pm 14,1
V	1616,7 \pm 187,6	1791,7 \pm 142,2	1883,3 \pm 490,1	2441,7 \pm 269,6
VI	-	-	-	753,8 \pm 23,0
VII	-	-	-	1027,5 \pm 109,3
VIII	-	-	-	1890,0 \pm 367,7
IX	-	-	-	2102,5 \pm 74,2

* Média e desvio padrão da concentração de íon fluor ($\mu\text{g/g}$) na mandíbula de três ratas.

GRUPO I - Ratas que receberam água destilada

GRUPOS I a V - Ratas que durante as gestações receberam água com respectivamente 12,5, 25,0, 50,0 e 100,0 ppm de F, sendo que entre os períodos pré-natais receberam água destilada

GRUPO VI - Ratas que receberam durante as duas primeiras gestações água com 12,5 ppm F, com 25,0 ppm na última e água destilada nos intervalos

GRUPO VII - Ratas que receberam água com 25,0 ppm F durante as duas primeiras gestações, com 12,5 ppm durante a 3.^a e água destilada nos intervalos.

GRUPO VIII - Ratas que receberam água com 50,0 ppm F durante as duas primeiras gestações, com 100,0 ppm durante a 3.^a e água destilada nos intervalos.

GRUPO IX - Ratas que receberam água com 100,0 ppm F durante as duas primeiras gestações, com 50,0 ppm durante a 3.^a e água destilada nos intervalos.

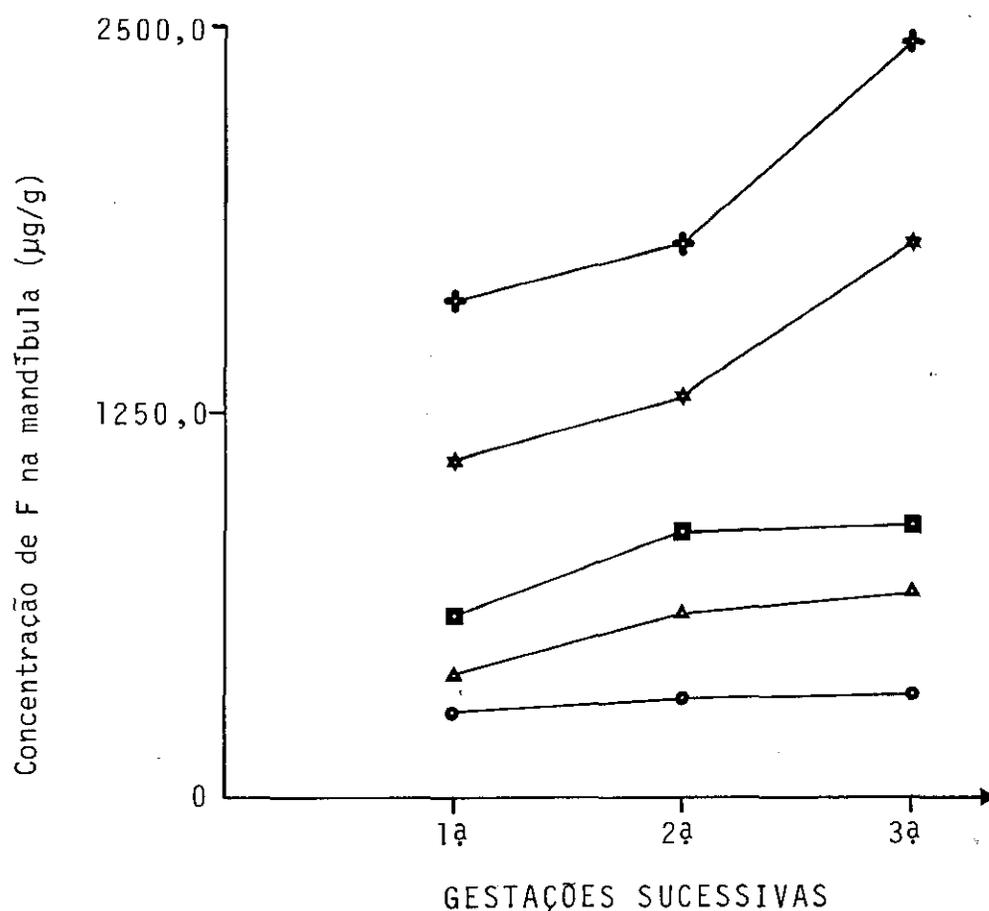


FIGURA 20 - Concentração de íon fluor na mandíbula das ratas ($\mu\text{g/g}$) em função do número de gestações e da concentração da água fluoretada ingerida durante as mesmas:

- — ● água destilada
- ▲ — ▲ 12,5 ppm F
- — ■ 25,0 ppm F
- * — * 50,0 ppm F
- + — + 100,0 ppm F

1ª GESTAÇÃO

2ª GESTAÇÃO

3ª GESTAÇÃO

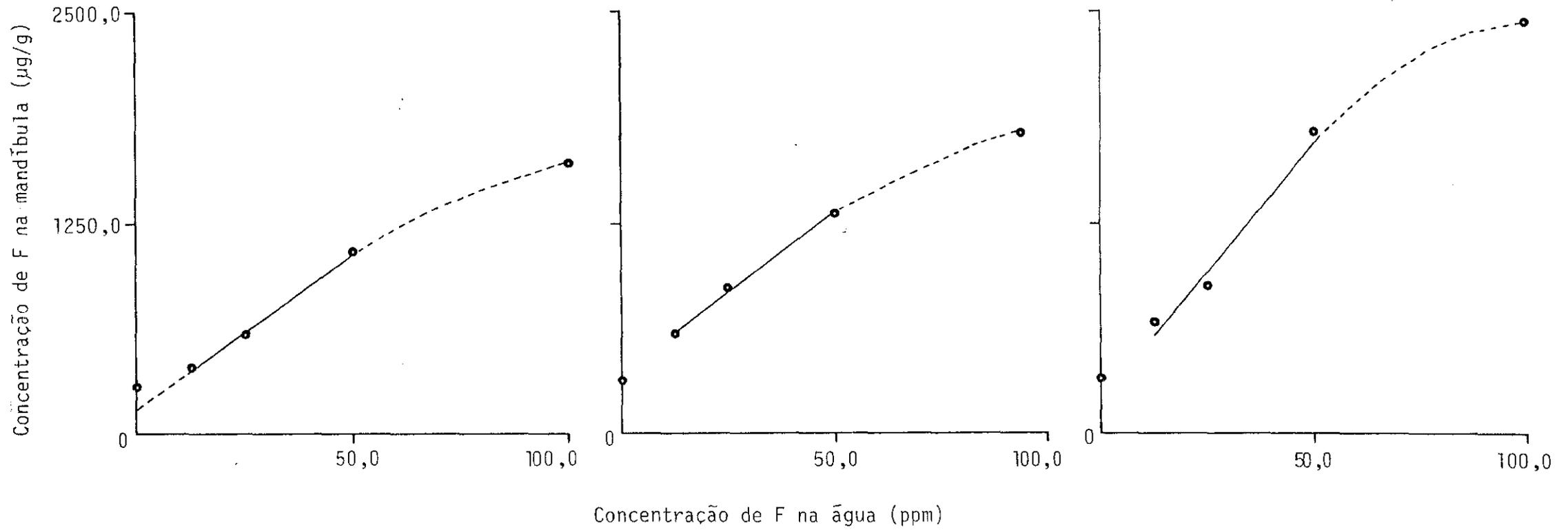


FIGURA 21 - Concentração de íon fluor na mandíbula das ratas (µgF/g pêsco sêco) em função da concentração da água fluoretada fornecida a estes animais durante gestações sucessivas.

7. CONCENTRAÇÃO DE ION FLUOR NOS DENTES INCISIVOS DAS RATAS

A tabela VI expõe os resultados da concentração de íon fluor na metade apical dos incisivos inferiores das ratas após a 1.^a, 2.^a, 3.^a gestação e antes de se iniciar a 3.^a gestação submetidas a diferentes condições experimentais. Observa-se que não houve um comportamento uniforme dentro de cada grupo experimental em função do número de gestações ingerindo água fluoretada, o que está ilustrado na figura 22. A concentração de F nos incisivos aumentou após as sucessivas gestações somente nos grupos ingerindo 12,5 e 100,0 ppm de F. No grupo ingerindo 25,0 ppm houve um aumento após a segunda gestação, mas diminuiu após a terceira, sendo que no grupo de 50,0 ppm houve diminuição progressiva após gestações sucessivas. A concentração de F nos dentes analisados antes de se iniciar a 3.^a gestação foi nos grupos de 12,5 e 25,0 ppm durante as gestações menor do que no grupo que ingeriu sempre água destilada, sendo a dos grupos que durante as duas primeiras gestações ingeriram água com 50,0 e 100,0 ppm de F foi maior do que no grupo de água destilada. A tabela mostra também que a concentração de fluor nos dentes das ratas que durante a terceira gestação tomaram água fluoretada com o dobro da concentração das duas primeiras, é praticamente o dobro da observada nos dentes das ratas que tomaram a metade e a mesma concentração de F nas três gestações (G. VIvs; II; VIIvs; IV). Verifica-se também que a concentração de fluor nos dentes das ratas que tomaram durante a 3.^a gestação água fluoretada com a metade da concentração das duas primeiras, é maior do que a

concentração nos dentes das que tomaram a metade e a mesma concentração de F nas três gestações (comparação entre Grupo VII com II e IX com IV).

A figura 23 relaciona a concentração de F nos dentes das ratas em função da concentração de água fluoretada ingerida por estes animais durante sucessivas gestações. Observa-se uma boa correlação entre as variáveis, sendo de $r = 0,9994$; $0,9982$ e de $0,9986$ após respectivamente a 1^a, 2^a e 3^a gestação.

Por regressão linear dos dados da tabela VI, foram obtidas as equações $y = 77,4 + 20,2x$, $y = 162,0 + 19,5x$ e $y = 132,4 + 19,5x$, a partir das quais poderá ser determinada qual a concentração de íon fluor (x) em ppm na água necessária para que nos dentes se atinja uma concentração de y $\mu\text{gF/g}$, após respectivamente a 1^a, 2^a e 3^a gestação.

TABELA VI - Concentração de íon fluor na metade apical dos incisivos inferiores ($\mu\text{gF/g}$ de p̄eso s̄eco) das ratas antes e ap̄os sucessivas gestāōes em que as mesmas foram submetidas a diferentes condīōes experimentais.

GRUPOS EXPERIMENTAIS	ÉPOCA DA ANÁLISE			
	AP̄OS A 1. ^a GESTĀŌ	AP̄OS A 2. ^a GESTĀŌ	ANTES DA 3. ^a GESTĀŌ	AP̄OS A 3. ^a GESTĀŌ
I	122,3 [±] 14,1*	75,6 [±] 16,5	90,8 [±] 16,6	132,7 [±] 5,9
II	307,8 [±] 17,0	355,2 [±] 17,3	63,5 [±] 9,2	396,3 [±] 94,2
III	546,1 [±] 85,1	677,1 [±] 98,1	62,5 [±] 3,5	637,5 [±] 88,4
IV	1189,6 [±] 111,9	1185,5 [±] 312,1	140,0 [±] 10,6	1047,5 [±] 74,2
V	2053,6 [±] 24,2	2088,3 [±] 227,2	138,3 [±] 51,3	2106,2 [±] 294,0
VI	-	-	-	712,5 [±] 159,1
VII	-	-	-	436,7 [±] 35,1
VIII	-	-	-	2047,5 [±] 145,0
IX	-	-	-	1287,5 [±] 17,7

* M̄edia e desvio padr̄ao da concentrāō de íon fluor na metade apical dos dentes incisivos inferiores de tr̄es ratas, expreso em $\mu\text{gF/g}$ de dente s̄eco.

GRUPO I - Ratas que receberam ̄gua destilada

GRUPOS I a V - Ratas que durante as gestāōes receberam ̄gua com respectivamente 12,5, 25,0, 50,0 e 100,0 ppm de F e entre as mesmas ̄gua destilada.

GRUPO VI - Ratas que durante as duas primeiras gestāōes receberam ̄gua com 12,5 ppm de íon fluor e na ̄ltima 25,0 ppm F.

GRUPO VII - Ratas que durante as duas primeiras gestāōes receberam ̄gua com 25,0 ppm de íon fluor e na ̄ltima 12,5 ppm F.

GRUPO VIII - Ratas que durante as duas primeiras gestāōes receberam ̄gua com 50,0 ppm de íon fluor e na ̄ltima 100,0 ppm F.

GRUPO IX - Ratas que durante as duas primeiras gestāōes receberam ̄gua com 100,0 ppm de íon fluor e na ̄ltima 50,0 ppm F.

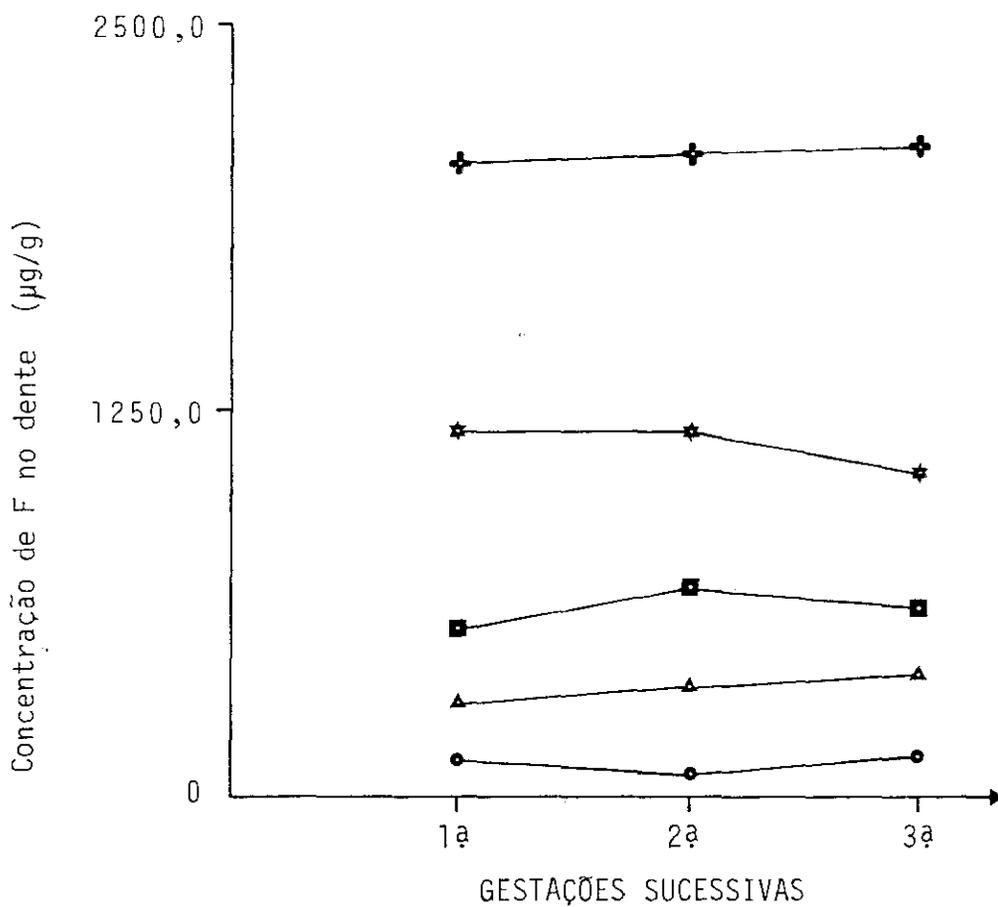


FIGURA 22 - Concentração de íon fluor nos dentes das ratas (µg/g) em função do número de gestações e da concentração da água fluore-tada ingerida durante as mesmas:

- água destilada
- ▲—▲ 12,5 ppm F
- 25,0 ppm F
- *—* 50,0 ppm F
- +—+ 100,0 ppm F

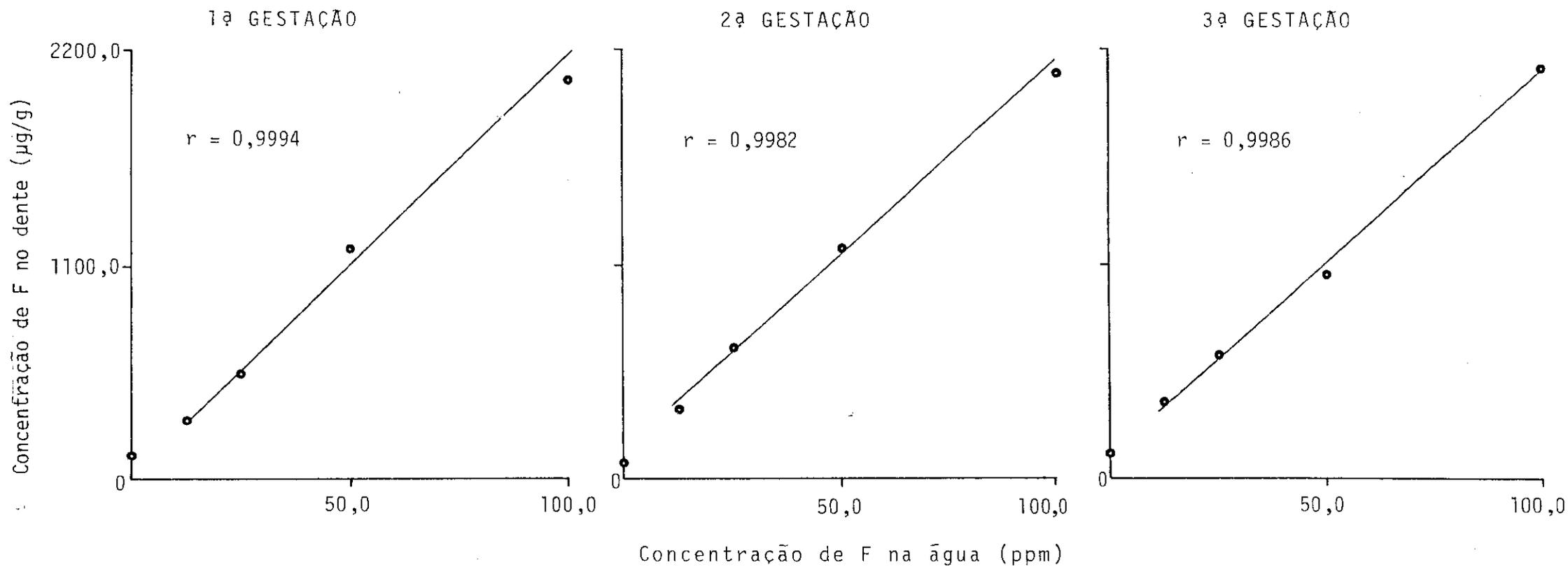


FIGURA 23 - Concentração de íon fluor na metade apical do dente incisivo inferior das ratas (µgF/g pêso sêco) em função da concentração da água fluoretada fornecida a estes animais durante as sucessivas gestações.

8. CORRELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE ÍON FLUOR NOS FILHOTES COM A DO PLASMA DAS RATAS

A figura 24 relaciona as concentrações de íon fluor no plasma das ratas com as respectivas concentrações deste íon nos filhotes após cada gestação ingerindo água destilada ou água fluoretada. Observa-se uma boa correlação entre as variáveis de $r = 0,9906$, $r = 0,9907$ e $r = 0,9949$ após respectivamente a primeira, segunda e terceira gestação.

Por regressão linear dos dados das tabelas II e III foram obtidas as equações $y = 0,35 + 3,62x$, $y = 25,31 + 3,79x$ e $y = 21,48 + 4,22x$ pelas quais pode-se determinar qual a concentração plasmática de F (y) em ng/ml necessária para que a concentração no filhote seja de x µgF/g, para respectivamente após a 1.^a, 2.^a e 3.^a gestação.

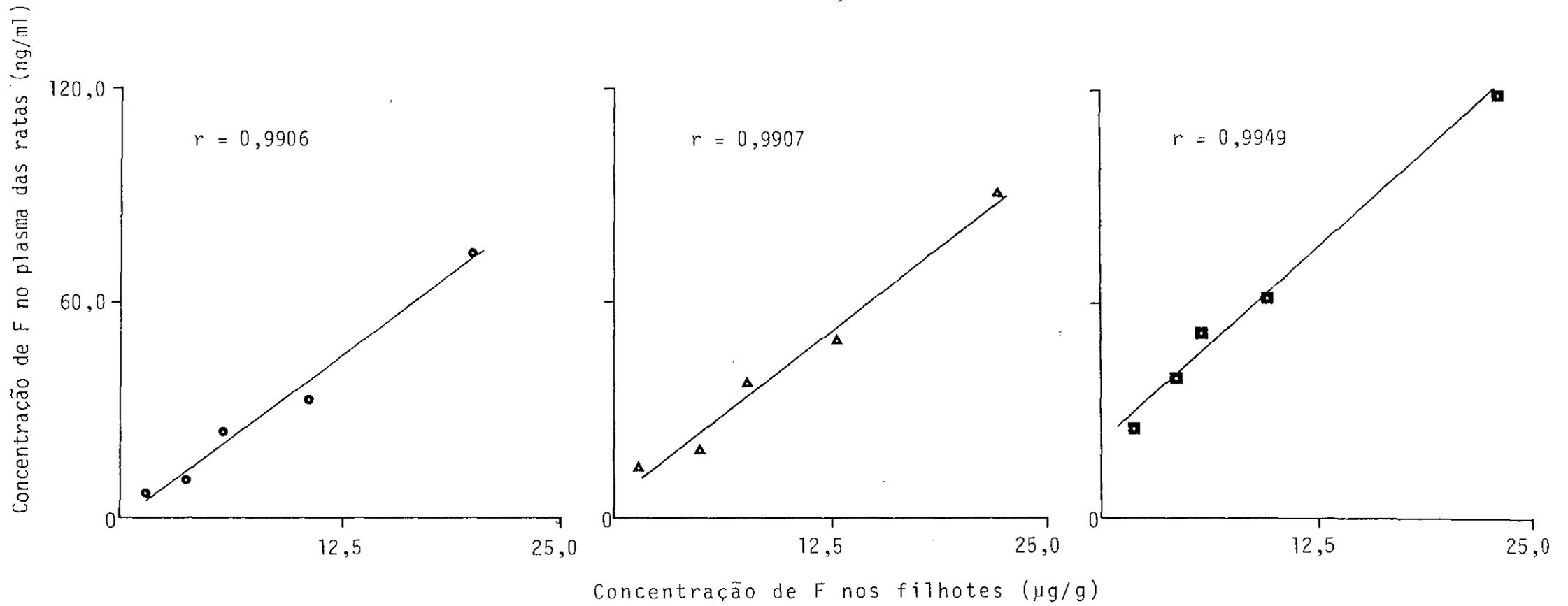


FIGURA 24 - Relação entre as concentrações de íon fluor nos filhotes ($\mu\text{gF/g}$ pêso sêco) e as concentrações no plasma das ratas (ng/ml) apôs a primeira (●—●), segunda (▲—▲) e a terceira gestaçã (■—■).

9. CORRELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE ÍON FLUOR NO PLASMA COM AS DO FEMUR E MANDÍBULA DAS RATAS

A figura 25 ilustra a relação entre as concentrações de íon fluor no plasma (ng/ml) com as do femur ($\mu\text{g/g}$) das ratas após a primeira, segunda e terceira gestação ingerindo água destilada ou água fluoretada. Observa-se uma boa correlação entre as variáveis, de 0,9562; 0,9877 e 0,9671 após respectivamente a 1.^a, 2.^a e 3.^a gestação.

A figura 26 expressa a relação entre as concentrações de íon fluor no plasma (ng/ml) das ratas após a segunda gestação com as diferenças entre as concentrações de íon fluor ($\mu\text{g/g}$) no femur das ratas após a segunda gestação e as antes da terceira gestação. Nota-se uma correlação perfeita de 0,9999 entre as variáveis.

A figura 27 representa a relação entre as concentrações de íon fluor no plasma (ng/ml) com as da mandíbula ($\mu\text{g/g}$) das ratas após sucessivas gestações ingerindo água destilada ou água fluoretada. Verifica-se uma boa correlação entre as variáveis, de 0,9694; 0,9751 e 0,9433 após respectivamente a 1.^a, 2.^a e 3.^a gestação.

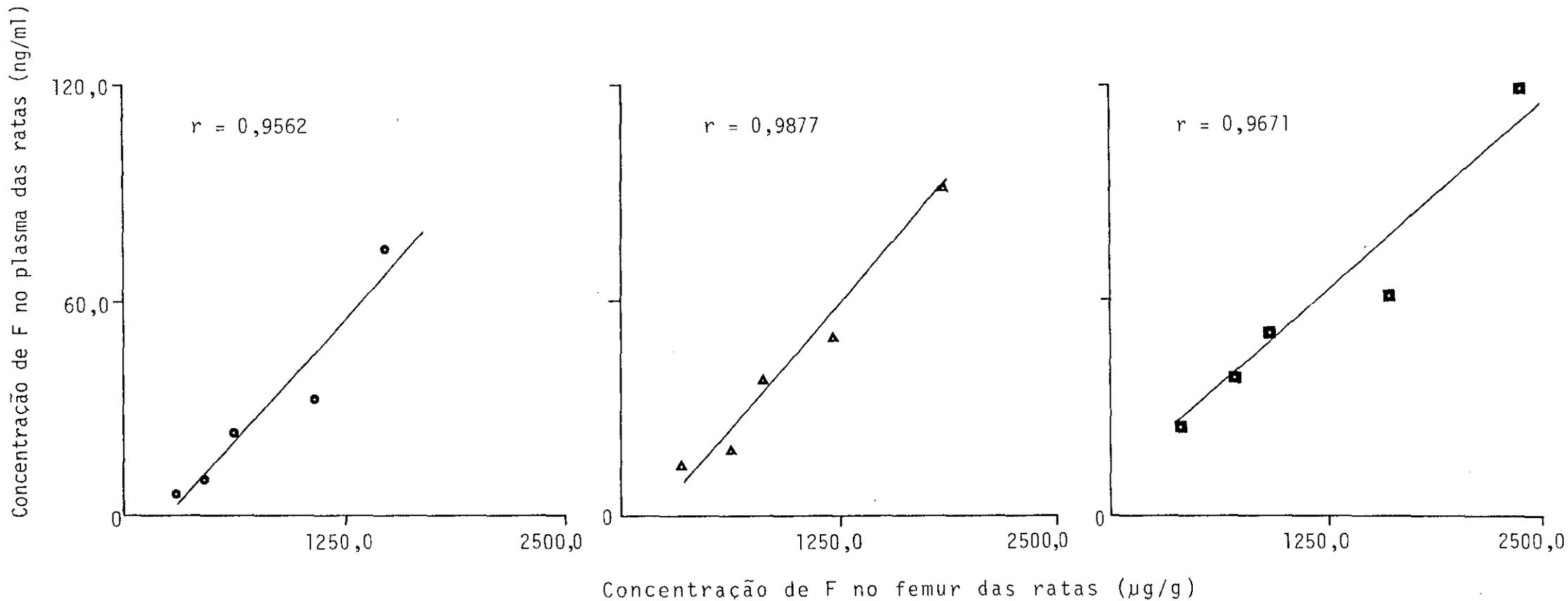


FIGURA 25 - Relação entre as concentrações de íon fluor no plasma das ratas (ng/ml) e a concentração no femur após a primeira (•—•), segunda (▲—▲) e terceira gestação (■—■).

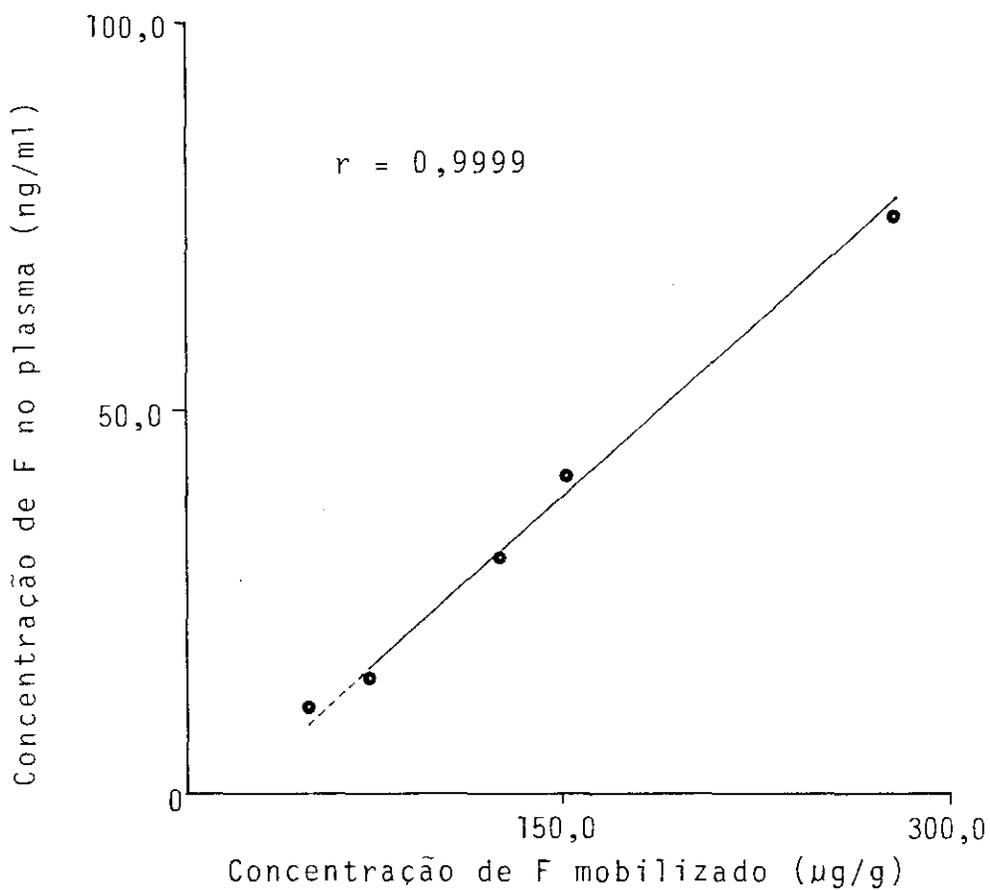


FIGURA 26- Correlação entre as concentrações de íon fluor no plasma das ratas após a segunda gestação com as diferenças entre as concentrações de fluor no femur após a segunda gestação e a antes da terceira gestação.

Concentração de F no plasma (ng/ml)

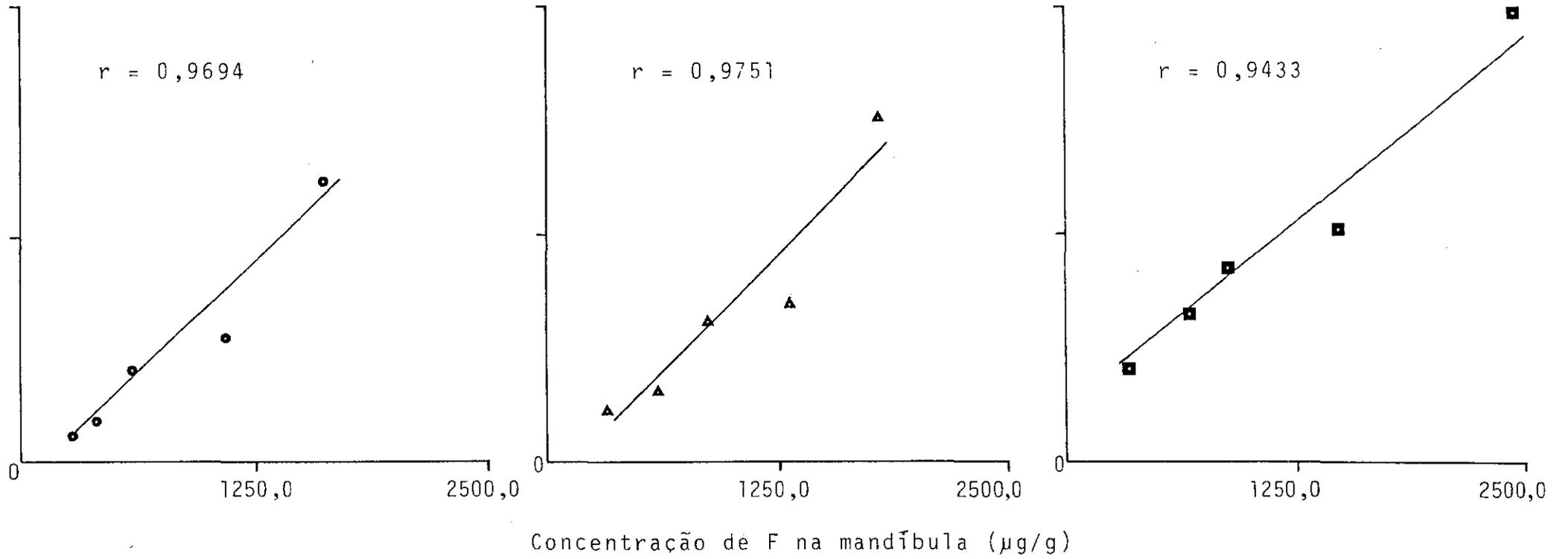


FIGURA 27 - Relação entre as concentrações de íon fluor no plasma das ratas (ng/ml) e a concentração na mandíbula após a primeira (● — ●), a segunda (▲ — ▲) e terceira gestações (■ — ■).

10. CORRELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE ÍON FLUOR NOS DENTES COM AS DO PLASMA DAS RATAS

A figura 28 ilustra a relação entre as concentrações de íon fluor ($\mu\text{g/g}$) na metade apical dos incisivos inferiores das ratas com as do plasma (ng/ml) após sucessivas gestações ingerindo água destilada ou água fluoretada. Uma boa correlação é verificada entre as variáveis, de respectivamente 0,9811; 0,9931 e 0,9949 após a 1.^a, 2.^a e 3.^a gestação.

Por regressão linear dos dados das tabelas III e VI foram obtidas as equações $y = 4,4 + 0,03x$; $y = 6,6 + 0,04x$ e $y = 15,9 + 0,05x$, através das quais pode-se determinar qual será a concentração plasmática (y) de íon fluor (ng/ml) necessária para que nos dentes a concentração seja de x $\mu\text{gF/g}$, após respectivamente a 1.^a, 2.^a e 3.^a gestação.

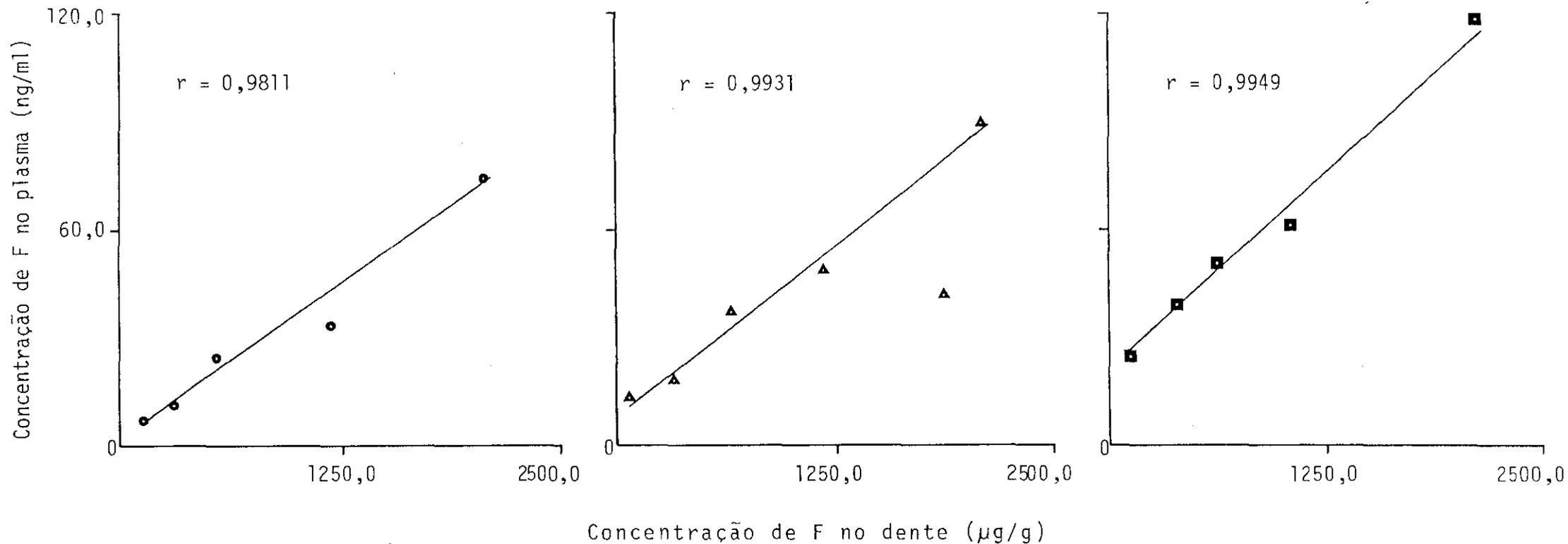


FIGURA 28 - Relação entre as concentrações de íon fluor no plasma das ratas (ng/ml) e as na metade apical dos dentes incisivos após a primeira (●—●), segunda (▲—▲) e terceira gestação (■—■).

DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

1. FLUORETO NO SANGUE

Os resultados obtidos mostram claramente que não existe nenhum mecanismo capaz de manter uma determinada concentração de fluoreto no sangue. Assim, a concentração de fluor no plasma aumentou linearmente em função da sua concentração na água fornecida aos animais (Tabela III e Fig. 6). Esta constatação é contrária aos resultados e postulados de BRZEZINSKI e cols. (1961), SINGER e ARMSTRONG (1964), ARMSTRONG e SINGER (1972), PORTELA e SANAHUJA (1972), mas está de acordo com os pensamentos e relatos de TAVES e GUY (1979) e com o trabalho de EKSTRAND e cols. (1981). No entanto, uma comparação absoluta dos resultados é difícil de ser feita em função de diferenças nas condições experimentais. TAVES e GUY (1979) citam trabalhos feitos, a longo prazo, com ratos machos o mesmo acontecendo com EKSTRAND e cols. (1981). Os resultados apresentados nesta tese foram conseguidos com ratas prenhes, e na literatura só encontramos nas mesmas condições a publicação de BRZEZINSKI e cols. (1961), os quais não conseguiram demonstrar uma relação linear entre a concentração de F na água administrada aos animais e em nível sanguíneo.

Contrariando a existência de mecanismos reguladores da concentração de fluor no sangue foram também os resultados obtidos após suspender-se a administração de água fluoretada. Assim, quando paralisou-se o fornecimento de água fluoretada, substituindo-a por água destilada houve um

decrêscimo da concentração de F no plasma (Tabela III). A diminuição foi de 24, 60, 65 e 78% para respectivamente os grupos que tomaram durante a primeira e segunda gravidez água com 12,5, 25,0, 50,0 e 100,0 ppmF. Somente dois trabalhos foram encontrados na literatura com o mesmo objetivo, e os resultados aqui apresentados (Tabela III) discordam de SINGER e ARMSTRONG (1964), estando de acordo com EKSTRAND e cols. (1981). Fazendo uma comparação com os resultados dos últimos autores no qual após 69 dias de fornecimento a ratos de água com 25,0, 50,0, 100,0 ou 150,0 ppmF, seguida por 13 dias de água destilada houve para cada grupo um decrêscimo da concentração de F no plasma de respectivamente, 69, 58, 77 e 80%. Embora as condições experimentais sejam diferentes nota-se uma relativa coincidência de resultados, ressaltando-se que EKSTRAND e cols. (1981) não empregaram um grupo controle durante todo o experimento, por isso esclareceram que após a suspensão da administração do F a concentração no plasma do grupo de 25,0 ppm retornou ao do início do experimento, enquanto que os resultados apresentados nesta tese mostram que concentração de F no plasma dos ratos do grupo de 12,5 e 25,0 ppmF ficaram, após a suspensão de água fluoretada, iguais ao do grupo controle do mesmo período experimental.

Também foi observado nesta tese que a concentração de fluor no plasma aumentou em função do tempo, isto é, ela foi função do número de gestações (Fig. 5) ingerindo água fluoretada, ou ração fluoretada pois o mesmo comportamento foi notado no grupo controle. Nenhum trabalho foi encontrado na literatura nestas condições, e o único com o

qual pode ser feita alguma consideração é o de EKSTRAND e cols. (1981). Os referidos autores demonstraram, em um estudo cinético, que são necessários 14 dias para que se atinja um estado de equilíbrio na concentração de F no plasma, a partir do qual e até 65 dias após não houve, à exceção do grupo de 150 ppm, um aumento significativo de F no plasma. Os resultados aqui apresentados não permitem concluir se o mesmo ocorre durante a prenhez, mas possibilitou afirmar que ingerindo-se o fluor durante uma gravidez não é suficiente para se conseguir um estado de equilíbrio para uma próxima gestação, sugerindo que um estudo cinético precisa ser feito nestas condições.

2. FLUORETO NOS FILHOTES

Os resultados apresentados na tabela II e figura 4 mostram uma relação linear entre a concentração de fluoreto nos filhotes e a fornecida pela água às ratas mães. Nenhum trabalho na literatura internacional chegou a estes níveis, limitando-se a demonstrar que simplesmente a concentração nos filhotes ou fetos aumentava em função da dose administrada. Uma comparação pode ser feita com o trabalho de ISSÃO (1969) e o de GARBOGINI DA GAMA (1980). Analisando a publicação do primeiro autor verifica-se que a relação entre a concentração de F na água administrada às ratas, somente durante a prenhez, e a encontrada nos filhotes é linear e praticamente perfeita, chamando a atenção a coincidência quase absoluta dos resultados com os apresentados nesta tese, o que não se observou em relação ao trabalho de GARBOGINI DA GAMA (1980). A concentração encontrada nos filhotes pela referida autora é bem maior do que a relatada por ISSÃO (1969) e a apresentada nesta tese. Duas explicações são possíveis. Em primeiro lugar, tanto ISSÃO (1969) como os resultados desta tese (1ª gestação) são relativos a ratas de 3 meses de idade, enquanto que GARBOGINI DA GAMA (1980) utilizou ratas de aproximadamente 5 meses. Essa diferença de idade poderia ser fundamental em termos do metabolismo ósseo do fluor pela rata. Deste modo, uma rata jovem teria um aproveitamento ósseo do fluor maior e assim uma menor quantidade seria incorporada no filhote. No entanto, os resultados aqui apresentados (Tabela II, Fig. 3) e correspondentes a 2ª gestação ingerindo água fluoretada são relativos a ra-

tas de aproximadamente 5 meses de idade, cuja concentração nos filhotes foi bem inferior ao obtido por GARBOGINI DA GAMA (1980), surgindo uma segunda explicação. Os resultados desta tese correspondem a filhotes sacrificados de 12 a 24 horas após o nascimento e o dos autores em discussão obtidos imediatamente após o nascimento. Considerando que o fluor pode estar nos tecidos na forma iônica, ionizante (ionizável) e não ionizante, a explicação giraria em torno dessas possibilidades. Assim, quando sacrifica-se um animal que está ingerindo fluor, sem um jejum prévio, se estará determinando o fluor fixado nos tecidos e o livre. Deste modo, isto explicaria a diferença em relação ao trabalho de GARBOGINI DA GAMA (1980), porém levaria a concluir que em relação ao de ISSÃO (1969) houve uma simples coincidência de números. Logo, fica patente a necessidade de uma determinação da forma em que o fluor se encontra nos tecidos dos filhotes recém-nascidos e mesmo um estudo cinético de sua liberação.

A análise mais criteriosa da relação linear perfeita entre a concentração de fluoreto na água administrada as ratas e a encontrada nos filhotes da 1ª gestação (Figura 4), permite extrapolar que a mesma é diretamente proporcional, o que até o momento não foi demonstrado por nenhum autor. Assim, a extrapolação da reta (Fig. 4) no sentido do eixo das ordenadas coincide com o valor da concentração de fluoreto nos filhotes cujas mães ingeriram água destilada. Subtraindo a concentração de fluor nos filhotes de cada grupo experimental da encontrada nos filhotes do controle, pode-se verificar que a reta praticamente passa pela intersecção dos eixos, concluindo-se que a concentração de F no filhote é diretamente proporcional a concentração de F

na água ingerida pelas ratas-mães. Esta constatação contraria as hipóteses da permeabilidade limitada da placenta (GEDALIA, 1972) e mesmo a afirmativa categorizada de ERICSSON e WEI (1979) de que "picos temporários de F no sangue materno parecem ser largamente barrados pela placenta, ao contrário dos níveis no estado de equilíbrio", validando o estudo cinético de MADUSKA e cols. (1980).

Os resultados de fluor nos filhotes cujas mães ingeriram água destilada e sua relação linear com a dos grupos experimentais (Fig. 4) permite fazer outras considerações. Assim, em relação ao resultado da 1ª gestação (Tabela 2), por regressão linear obteve-se a equação $y = 1,12 + 0,19x$, a partir da qual conhecendo-se a concentração de fluor administrada ao animal (x) pode-se prever a do filhote (y). Esta equação permite também determinar a concentração de fluor biologicamente aproveitável da ração. Assim, nos filhotes cujas mães ingeriram água destilada encontrou-se 1,38 ppmF. Substituindo-se na equação obtem-se o valor de 1,4 ppm que seria a concentração de fluor da ração que foi aproveitada pelo animal, o qual está muito próximo do valor de 1,7 ppm de fluor iônico quimicamente determinado na ração fornecida aos animais. Nesta mesma ração há 11,0 ppm de fluor ionizante, do qual 1,1 a 1,7 seria o valor metabolizado pelo animal, pois segundo TAYLOR e cols. (1961) o rato aproveita de 10 - 15% do fluoreto de uma ração comercial. Estas coincidências permitem sugerir que: 1º) Perpetuou-se na literatura um erro ao considerar que 10 ppm deveria ser o valor de F na água da rata para que se detectasse uma diferença no filhote; 2º) A constatação de uma relação direta

mente proporcional entre a concentração de fluor no filhote e a fornecida as ratas na água, fornece subsídios para se estabelecer um método de determinação da disponibilidade biológica de fluor em alimentos.

Nesta tese estudou-se a concentração de F nos filhotes de três gestações sucessivas, nas quais as ratas ingeriram água fluoretada. Esperava-se que um efeito acumulativo do fluor no esqueleto materno se refletisse na transferência ao filhote. A tabela II e figura 3 mostram que isto não aconteceu, o que está de acordo com MAPLESDEN e cols. (1960), mas discordando de HUDSON, STOOKEY e MUHLER (1967). Analisando detalhadamente o trabalho dos últimos autores conclui-se que após o nascimento dos filhotes estes foram sacrificados sendo as cobaias cruzadas imediatamente após. Desse modo, houve um efeito acumulativo, pois como ficou demonstrado nesta tese (Tabela III), uma vez suspensa a administração de fluor durante a lactação e repouso, o nível plasmático de fluoreto decresce e os animais para uma próxima gestação comportar-se-iam como o controle. Entretanto, parece que há um efeito potencializador. Assim, a concentração de fluor nos filhotes, cujas mães na 3ª gestação ingeriram água duplamente fluoretada em relação a das duas primeiras gestações, parece ser bem maior do que a encontrada nos filhotes cujas mães ingeriram a mesma água fluoretada nas três gestações (Tabela II, Grupo VI vs I e VIII vs IV), o mesmo acontecendo quando as ratas na 3ª gestação ingeriram água fluoretada com a metade da concentração das duas primeiras (Grupo VII vs II e IX vs IV). Infelizmente não há nenhum trabalho na literatura para se fazer uma comparação, a não ser

uma analogia ao polêmico resultado de que ingerindo-se durante a gravidez o dobro da quantidade de fluor - água fluorada mais 1 mgF na forma de comprimido - produz uma eficiência máxima em termos de redução de cárie (GLENN, GLENN e DUNCAN, 1982).

Ficou demonstrado nesta tese (Fig. 24) que existe uma relação linear entre a concentração de fluoreto no plasma das ratas e a respectiva nos filhotes. Esta observação, nunca antes relatada na literatura, permite antever a possibilidade de se poder em função de uma análise no sangue materno ajustar a administração de fluor objetivando de terminado efeito no feto dentro de limites de segurança.

3. FLUORETO NOS OSSOS

A concentração de fluor nos ossos (femur e mandíbula) das ratas aumentou acumulativamente em função do número de gestações ingerindo água fluoretada (Tabelas IV e V; Figs. 7 e 20). Não houve uma homogeneidade dos incrementos de uma gestação a outra quando compara-se os diferentes grupos experimentais. Sendo as estruturas ósseas do femur diferentes da mandíbula se esperaria comportamentos distintos na sua capacidade de incorporar fluor. Os resultados obtidos não permitem nenhuma conclusão desde que em função do grupo experimental ou gestação, a concentração foi maior no femur ou na mandíbula. Isto está de acordo com a literatura, onde alguns relatam que a concentração no femur é maior que na mandíbula (McCANN e BULLOCK, 1957; SINGER e ARMSTRONG, 1969; ZIPKIN, 1972) e outros o inverso (ZIPKIN e McCLURE, 1952) sendo as diferenças pequenas e talvez sem nenhum significado. Uma comparação absoluta dos resultados da concentração de F nos ossos apresentados nesta tese com os da literatura, é complicada em termos de que a incorporação óssea de fluor depende do tempo de exposição e da idade dos animais, além da reconhecida diferença nos métodos analíticos empregados (CHAREN, 1979). Assim, os resultados obtidos por ARBEX e cols. (1982) são em termos de concentração de fluor no femur das ratas menores do que os aqui apresentados, o que pode ser explicado pela diferença na idade dos animais utilizados. Utilizou-se nesta tese ratas de 3 meses de idade as quais apresentando uma maior atividade óssea metabólica do que as ratas de 5 meses empregadas pelos referi

dos autores, incorporariam mais fluor nos seus ossos, o que está de acordo com SAVCHUCK e ARMSTRONG (1951), ZIPKIN e McCLURE (1952) e ERICSSON (1967).

Uma relação linear entre a concentração de fluor na água fornecida aos animais e a encontrada no femur (Fig. 9) e mandíbula (Fig. 21) das ratas foi obtida. A linearidade foi observada somente até 50 ppm de F na água, e considerando não haver diferença na concentração de fluoreto no osso de ratas prenhes ou não (BRZEZINSKI e cols., 1961; ISSÃO e ZUCAS, 1973), isto está de acordo com TAYLOR e cols. (1961), levando em conta a idade dos animais. A constatação de que a extrapolação das retas da figura 9 no sentido do eixo das ordenadas coincide com valor da concentração de fluor no femur das ratas que ingeriram água destilada, permite concluir que há uma relação diretamente proporcional entre a concentração de F fornecido aos animais e a encontrada nos seus femurs. Isto discorda dos trabalhos de BRZEZINSKI e cols. (1961) e de ARBEX e cols. (1983) feitos com ratas prenhes, estando de acordo com os trabalhos de TAYLOR e cols. (1961) e o de NAVIA, LOPES e BRADLEY (1981) feitos com ratos jovens.

Quanto a distribuição do F pelo femur, analisado no sentido periosteal-endosteal, a literatura mostra trabalhos (WEIDMAN e WEATHERELL, 1972; WEATHERELL, 1977) com um objetivo mais ilustrativo, do que procurando demonstrar uma relação dose-efeito. Os resultados apresentados nesta tese mostram que o modelo de variação da concentração de fluoreto, maior na região periosteal diminuindo e tendendo a aumentar no endosteal, independe da dose administrada (Figs. 10 e 13), o que invalida a hipótese de WEIDMAN e WEATHERELL

(1972), de que isto seria consequência de exostoses fluoróticas na superfície periosteal. Quando compara-se, a distribuição do F em função da concentração de fluor na água administrada às ratas, verifica-se após a 1ª gestação (Fig. 10) que as diferenças são notórias na região periosteal. Após a 2ª e a 3ª gestação (Figs. 11 e 12) nota-se diferença em função da dose mesmo nas regiões mais internas do femur. Quando suspendeu-se a administração de F (Figs. 14 a 17) verifica-se uma diminuição na concentração de fluor também na região periosteal, e quando administra-se as ratas o dobro da concentração de F na água do que elas normalmente vinham ingerindo, nota-se (Fig. 19) que também as diferenças são maiores na região periosteal. A tentativa de explicação destes resultados encontra subsídios em citação no trabalho de LEMON e cols. (1980), de que o coeficiente de partição sangue cortical óssea é de 0,27 enquanto que o de sangue-medula óssea é de 0,17. Também deve ser levado em consideração que estando o rato em crescimento, estes resultados podem ser em parte devido ao processo de remodelação óssea.

Procurando demonstrar a relação entre concentração óssea (femur) de F e o nível plasmático, pode-se verificar (Fig. 25) um alto coeficiente de correlação entre as variáveis. Calculando-se a relação entre a concentração de F nos ossos (ngF/grama de peso seco osso) e a do plasma (ngF/ml plasma) obtem-se para a 1ª gestação 28.000:1, para 2ª 24.000:1 e de 26.000:1 para a 3ª gestação. Estes valores estão muito próximos do obtido (20.000:1) por EKSTRAND e cols. (1981) para ratos após longa exposição a água fluoretada. Segundo TAVES e GUY (1979) a relação para humanos é de

100.000:1 (expresso por cinzas de ossos), enquanto que para ratos é 25.000:1 (concentração óssea expressa por cinzas), sendo a diferença segundos os autores devido ao tempo de exposição ao F ou à espécie animal. Porém, quando expressa-se os resultados obtidos nesta tese também por cinza de ossos, obtem-se as relações de 47.000:1, 40.000:1 e 44.000:1 para respectivamente a 1ª, 2ª e 3ª gestação, aproximando-se bastante do valor obtido para o homem, e assim conclui-se que a diferença não se deva a espécie mas sim ao fato de que TA VES e GUY (1979) utilizaram resultados de autores diferentes não havendo talvez correspondência da idade do indivíduo em relação a amostra de sangue e osso e hoje está comprovado sua dependência a idade (PARKINS e cols., 1974; HAN HIJARV, PENTILLA e PEKKARINEN, 1981; HAN HIJARVI, 1981).

Ainda com relação a linearidade entre a concentração de F no osso e a do plasma e os resultados de diminuição da concentração de fluor na região periosteal quando suspendeu-se a administração de fluor, foi feito um raciocínio chegando a um resultado surpreendente (Fig. 26). Como pode ser notado na tabela IV, a suspensão da administração do fluor no período entre o fim da 2ª gestação e o início da 3ª provocou uma diminuição na concentração de F no femur que variou de 10-15%, em função da mobilização do F previamente fixado no osso e de uma desprezível diluição devido ao crescimento do animal, valor este que está de acordo com a literatura (SAVCHUCK e ARMSTRONG, 1951; ZIPKIN, 1972; SPENCER, OSIS e LENDER, 1981). Paralelamente a este decréscimo de concentração de F no osso total, houve uma diminuição no nível sanguíneo (Tabela III), discordando de SIN GER e ARMSTRONG (1964, que descreveram uma diminuição óssea

de fluor de 13% sem qualquer alteração no nível plasmático dos ratos. O que chama a atenção nos resultados obtidos após a suspensão do fornecimento de água fluoretada, é que embora as concentrações de F no plasma das ratas dos grupos de água destilada, 12,5 e 25 ppm sejam praticamente iguais (Tabela III), as do osso (Tabela IV) são até 2 vezes maior uma em relação a outra. Assim precisaria ser demonstrado que o nível plasmático de fluoreto não depende exclusivamente da concentração total de F no osso, mas sim daquela quantidade que estaria em equilíbrio com o sangue e portanto seria perdido quando da suspensão da administração, rompendo um estado de equilíbrio. Deste modo a diferença de concentração óssea de fluor perdida no intervalo de lactação e repouso que antecedeu a 3ª gestação deveria estar relacionada com a concentração de fluor no plasma obtido logo após a 2ª gestação. Isto feito resultou na figura 26 e os cálculos mostraram que o coeficiente de correlação entre as variáveis é perfeito ($r = 0,9999$), quando comparado com os valores de 0,9877 (Fig. 25) para a concentração de F no osso total. Quando analisa-se as figuras 14 a 17 comparando-se a distribuição do F no femur dos animais sacrificados logo após ingerir F por uma segunda gestação com aquela após ingerir água destilada durante a lactação e repouso no intervalo entre a 2ª e 3ª gestação, chama a atenção que a suspensão do F provocou uma diminuição na sua concentração na região periosteal. Isto leva a supor que a concentração de fluoreto no plasma depende da sua concentração na região periosteal, no entanto não podemos desprezar a possibilidade de que isto apenas representa osso formado durante o crescimento do ani-

mal durante um período em que não se ingeriu fluor. O assunto merece um estudo cinético criterioso para se poder chegar a alguma conclusão.

Resultado surpreendente foi obtido em relação a concentração de fluor na mandíbula, pois quando suspendeu-se a administração da água fluoretada (Tabela V) não houve diminuição da concentração de F neste osso. Isto discorda de ZIPKIN (1972) que mostrou uma mobilização de fluor da mandíbula de ratos machos jovens após paralisar o fornecimento de água fluoretada a 10 ppm. Embora as condições experimentais fossem diferentes não há explicação para a divergência, a não ser o trabalho de KOMARKOVA, ZAHOR e CZBANOVA (1967) relatando que a lactação produz uma intensa mobilização de cálcio e fósforo do osso longo de ratas lactantes, sem referência a osso chato.

4. FLUORETO NO DENTE

O incisivo do rato sendo um dente de crescimento contínuo pode ser um excelente controle interno de incorporação de fluor. O dente inferior cresce 2,8 mm por semana (SCHOUR e MASSLER, 1971), portanto tomando-se a porção apical de comprimento correspondente ao período de administração do fluor, tem-se um tecido do organismo materno que estará em formação ao mesmo tempo que o fetal.

A tabela VI mostra que a concentração de fluoreto na metade apical dos incisivos das ratas não aumentou progressivamente de gestação para gestação. Comparando-se as figuras 22 e 3 nota-se que o comportamento do feto e do dente em desenvolvimento são iguais em relação ao fluor, excetuando-se a diferença absoluta de concentração que depende do grau de mineralização do tecido analisado. O fato da concentração no dente não aumentar em função do número de gestações, enquanto que um efeito acumulativo se observa no osso, não contradiz os resultados preliminares de WEATHERELL e cols. (1977) pois no presente caso não houve uma exposição contínua ao fluor, de tal modo que ao retomar-se uma nova administração o tempo necessário para se atingir um estado de equilíbrio talvez não tenha sido suficiente para se conseguir uma relação dose-efeito diretamente proporcional ao nível sanguíneo de fluor. Este mesmo pensamento é válido em relação ao feto, de tal modo concluindo-se que a ingestão de fluor durante uma única gestação não apresenta efeitos acumulativos, comportando-se o organismo materno em relação aos tecidos em formação como se nunca houvesse sido ex

posto ao fluor. Por outro lado, os resultados da tabela VI em relação aos grupos VI e VIII, quando na 3ª gestação administraram-se às ratas água com o dobro da concentração de fluor que as mesmas haviam ingerido durante as duas primeiras, obtendo-se um efeito diretamente proporcional, induz a uma reflexão em relação ao discutível trabalho de GLENN (1977).

A figura 23 mostra uma relação linear entre a concentração de fluor na metade apical dos incisivos e a fornecida aos animais pela água. Na literatura internacional somente EKSTRAND e cols. (1981) conseguiram demonstrar uma relação desta natureza, utilizando a dentina de ratos jovens após uma longa exposição ao fluor. Este resultado é indicativo de que se atingiu um estado de equilíbrio entre a concentração de fluor no sangue e a administrada aos animais. A figura 28 ratifica esta suposição mostrando que há uma relação linear entre a concentração de fluoreto no plasma das ratas e a correspondente nos seus dentes em desenvolvimento. Somente EKSTRAND e cols. (1981) relataram trabalho com os mesmos resultados. Os referidos autores obtiveram uma relação de 15.500:1 entre a concentração de fluoreto na dentina dos incisivos de ratos e a do plasma. Nesta tese as relações obtidas foram de 29.000:1, 21.000:1, 15.000:1, para respectivamente a 1ª, 2ª e 3ª gestação. Estes resultados estão de acordo com EKSTRAND e cols. (1981) considerando que os referidos autores administraram as ratas água fluoretada por 79 dias consecutivos, enquanto que os resultados aqui apresentados correspondem a três intervalos de aproximadamente 21-22 dias de exposição ao fluor. Assim, houve um efeito

acumulativo estático e a relação após 3 gestações ingerindo água fluoretada é praticamente a mesma do que se a água fosse fornecida por 79 dias ininterruptos.

O incisivo da rata também permite estudar a mobilização de fluor do esqueleto. A tabela VI mostra que a concentração de F no incisivo da rata formado no período em que se suspendeu a administração de fluor - intervalo entre a 2ª e 3ª gestação - é maior nos grupos de ratas que ingeriram 50,0 e 100,0 ppmF durante a 1ª e 2ª gravidez do que os grupos de 25,0, 12,5 e controle. Isto demonstra que o F que está sendo eliminado do osso incorpora-se no dente que está em desenvolvimento, estando de acordo com SAVCHUCK e ARMS-TRONG (1951) e WEIDMAN (1962). Os resultados confirmam os de ZIPKIN (1972), mas discordam de sua hipótese, pois fornecendo 10 ppmF a ratos seguida de interrupção não se demonstrou que fluor eliminado dos ossos recircula e incorpora em tecidos em formação. A confirmação de que ainda está havendo recirculação de fluor ósseo nos grupos de 50 e 100 ppm é evidenciada pela análise do plasma (Tabela III - resultados de antes da 3ª gestação), e está de acordo com o trabalho de HALL e cols. (1977) quanto ao tempo de meia vida do fluor no osso.

CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

1) Os resultados obtidos são contrários a existência de uma homeostasia do fluor, comprovado tanto pela relação linear entre a concentração plasmática de fluoreto e a administrada às ratas prenhes, como pela não manutenção do seu nível plasmático quando suspendeu-se o fornecimento de F.

2) Há, em relação ao F, uma relação simples entre o organismo materno e o fetal, não tendo a placenta qualquer função reguladora, evidenciada pela relação diretamente proporcional entre a concentração de F fornecido às ratas e a encontrada nos filhotes recém-nascidos, e comprovada pelo mesmo comportamento em relação ao incisivo da rata desenvolvido no mesmo período.

3) A relação entre a concentração de F nos ossos de ratas prenhes e a da água administrada é linear até o valor de 50 ppmF.

4) Há uma estreita relação entre a concentração de fluoreto no plasma de ratas prenhes e a encontrada nos seus ossos, dente em desenvolvimento e nos filhotes recém-nascidos.

5) A concentração de fluoreto no plasma de ratas prenhes não é função exclusiva da concentração de F to-

tal do osso, mas sim daquela quantidade que está em equilíbrio com sangue, comprovado pelos resultados obtidos após suspender a administração do fluor.

RESUMO

RESUMO

Estudou-se o metabolismo do fluor em ratas às quais administrou-se, durante três gestações sucessivas, água com 12,5, 25,0, 50,0 ou 100,0 ppmF. No intervalo entre as gestações - 21 dias de lactação e 30 de repouso - suspendeu-se o fornecimento de fluor, oferecendo água destilada às ratas. Determinou-se nas ratas a relação entre a concentração de fluoreto do plasma vs. a ingerida, plasma vs. osso, plasma vs. dente e o do plasma da rata vs. a no filhote recém-nascido, havendo uma linearidade entre as mesmas. A concentração de fluoreto no plasma e ossos das ratas aumentou após cada gestação, o que não aconteceu com a no dente (parte do incisivo formado durante a gestação) e a nos filhotes. Quando foi suspensa a administração da água fluoretada, observou-se que no intervalo entre a 2ª e 3ª gestação houve no plasma e femur das ratas um decréscimo da concentração de F, de respectivamente 24-78% e de 10-15%. A concentração de fluoreto nos filhotes foi diretamente proporcional a da água administrada as ratas. Os resultados deste trabalho sugerem que não existem mecanismos reguladores capazes de manter uma homeostasia do fluor, e que o feto comporta-se em relação a mãe como os demais compartimentos do organismo materno, onde relações simples entre as concentrações de fluor foram observadas.

SUMMARY

SUMMARY

Fluoride metabolism was studied in rats that ingested fluoridated water at 12,5, 25,0, 50,0 or 100,0 ppm, during three successive gestations. Between the pregnancies (51 days) the rats drank distilled water. There was a close relationship of the fluoride concentration between plasma vs. intake levels, plasma vs. bone levels, plasma vs. teeth levels (part of the incisor developed during the pregnancy) and plasma vs. newborn rats levels after each gestation. Fluoride concentration in the plasma and bones increased after each pregnancy, but in the teeth and newborn rats fluoride levels did not modify. Between the second and third gestation plasma and bone (femur) fluoride concentration decreased 24 to 78% and 10 to 15% respectively. Fluoride concentration in the newborn rats was directly proportional to the fluoride level in the drinking water given to the mothers. These results suggest that there are no mechanisms which maintains the fluoride homeostasia, and that the rat's fetuses behaves, in relation to the mother, as another maternal compartment like bone, plasma or teeth.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AASENDEN, R.; ALLUKIAN, M.; BRUDEVOLD, F.; WELLOCK, W.D. An in vivo study on enamel fluoride in children living in a fluoridated and in a non-fluoridated area. Archs oral Biol., 16: 1399-411, 1971.
- ANGMAR-MÄNSSON, B & WHITFORD, G.M. Plasma fluoride levels and enamel fluorosis in the rat. Caries Res., 16: 334-9, 1982.
- ARBEX, S.T.; NEDER, A.C.; GARBOGINI DA GAMA, M.L.; CURY, J. A.; MATTOS FILHO, T.R.; ISSÃO, M. Efeito de diferentes concentrações de fluoreto na incorporação em ossos longos e chatos de ratas prenhes. Vida Odontológica, 11:59-64, 1982.
- ARMSTRONG, W.D. Mechanisms of fluoride homeostasis. Arch. oral Biol., 4(Special Suppl.): 156-9, 1961.
- _____ & SINGER, L. Distribution del fluor en los tecidos blandos e humores organicos. In: Fluoruros y Salud, Organizacion Mundial de la Salud, Serie de Monografias, nº 59, Ginebra, 1972. pp. 94-104.
- _____ ; _____ ; MAKOWSKI, E.L. Placental transfer of fluoride and calcium. Am. J. Obstet. Gynecol., 107(3) : 432-4, 1970.
- BEAL, J.F.; ROCK, W.P. Fluoride gels. A laboratory and clinical investigation. Br. dent. J., 140: 307-10, 1976.
- BRZEZINSKI, A.; GEDALIA, I.; DANON, A.; SULMAN, F.G. Fluoride metabolism in pregnant rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 108: 342-5, 1961.

- BURT, B.A. Dietary fluoride: The effect of maternal ingestion on offspring. J. Publ. Health Dent., 26(2): 234-45, 1966.
- BUTTNER, G. & MUHLER, J.C. Fluoride placental transfer in the rat. J. D. Res., 37(2): 326-9, 1958.
- CHAREN, J.; TAVES, D.R.; STAMM, J.W.; PARKINS, F.M. Bone - fluoride concentrations associated with fluoridated drinking water. Calcif. Tiss. Intl., 27: 95-9, 1979.
- COUSINS, M.J. & MAZZE, R.I. Methoxyflurane nephrotoxicity: A study of dose response in man. JAMA, 225(13): 1611-6, 1973.
- COX, F.H. & BACKERDIRKS, O. The determination of fluoride in blood serum. Caries Res., 2: 69-78, 1968.
- CURY, J.A. & SAKATA, N.Y. Incorporação prē e pōs - eruptiva de fluoreto em dentes de ratos através da ingestão de água ou ração fluoretada. Ciência e Cultura, 32(7): 787, 1980.
- _____ & USBERTI, A.C. Fluorose dental na região de Piracicaba: Diagnóstico clínico-laboratorial. Rev.Ass. paul. Cirurg. Dent., 36(3): 276-7, 1982.
- _____ ; GOES, M.F.; ROLDI, C.R.; TSÊ, M.C.P. Incorporação sistêmica de fluoreto em dentes de ratos. RG0, 28(4): 283-6, 1980.
- DEUTSCH, D. & GEDALIA, I. Fluoride concentration in human fetal enamel. Caries Res., 16: 428-32, 1982.
- EINSPAHR, H.M. & BUGG, C.E. Enamel, apatite and caries - A crystallographic view. In: MENAKER, L. The biologic ba-

sis of dental caries. Harper & Row Pub., Maryland, 1980, pp. 191-207.

EKSTRAND, J. A micromethod for the determination of fluoride in blood plasma and saliva. Calcif. Tiss. Res., 23: 225-8, 1977.

_____. Relationship between fluoride in drinking water and the plasma fluoride concentration in man. Caries Res., 12: 123-7, 1978.

_____; ALVÄN, G.; BOREUS, L.O.; NORLIN, A. Pharmacokinetics of fluoride in man after single and multiple oral doses. Europ. J. clin. Pharmacol., 12: 311-7, 1977.

_____; KOCH, G.; LINDGREN, L.E.; PETERSSON, L.G. Pharmacokinetics of fluoride gels in children and adults. Caries Res., 15: 213-20, 1981.

_____; LANGE, A.; EKBERG, O.; HAMMARSTROM, L. Relationship between plasma, dentin and bone fluoride concentrations in rats following long-term fluoride administration. Acta pharmacol. et toxicol., 48: 433-7, 1981.

ENGLANDER, H.R. Is 1 ppm fluoride in drinking water optimum for dental caries prevention? JADA, 98: 186-7, 1979.

ERICSSON, Y. Blood fluoride clearance in rats differing in age or previous fluoride exposure: Investigations using radioactive fluorine. Acta Odontol. Scand., 24: 393-404, 1967.

_____; WEI, S.H.Y. Fluoride supply and effects in infants and young children. Ped. Dent., 1(1): 44-54, 1979.

_____; GYDELL, K.; HAMMARSKJÖLD, T. Blood plasma fluoride

de: an indicator of skeletal fluoride content. J. int. Res. Commun., 1: 33, 1973.

EVANS, R.J. & PHILLIPS, P.H. A new low fluorine diet and its effect upon the rat. J. Nutr., 18(4): 353-60, 1939.

FEJERSKOV, O.; LARSEN, M.J.; JOSEPHSEN, K.; THYLSTRUP, A. Effect of long-term administration of fluoride on plasma fluoride and calcium in relation to forming enamel and dentin in rats. Scand. J. Dent. Res., 87: 98-104, 1979.

FISKE, C.H. & SUBBAROW, Y. J. Biol. Chem., 65: 375, 1925.

FRANT, M.S. & ROSS, J.W. Electrode for sensing fluoride ion activity in solution. Science, 154: 1553-5, 1966.

GARBOGINI DA GAMA, M.L. Teores de fluoreto em carcaças de ratos recém-nascidos, cujas mães receberam água fluoreta da em diversas condições. 1980. 41p. [Tese (Livro-Docência) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP].

GEDALIA, I. Distribution en la placenta y en el feto. In: Fluoruros y Salud. Organizacion Mundial de la Salud, Serie de Monografias, nº 59, Ginebra, 1972. pp.130-6.

_____ ; ZUKERMAN, H.; LEVENTHAL, H. Fluoride content of teeth and bones of human fetuses: In areas with about 1 ppm of fluoride in drinking water. J. Amer. Dent. Assn., 71: 1121-3, 1965.

_____ ; BRZEZINSKI, A.; BERCOVICI, B.; LAZAROV, E. Placental transfer of fluorine in human fetus. Proc. Soc.-Exp. Biol., 106(1): 147-9, 1961.

_____ ; _____ ; PORTUGUESE, N.; BERCOVICI, B. The fluoride content of teeth and bones of human faetuses. Arch.

oral Biol., 9: 331-40, 1964.

GEDALIA, I.; SINGER, L.; VOGEL, J.J.; ARMSTRONG, W.D. Fetal and neonatal fluoride uptake by calcified tissues of rats. Israel J. Med. Sci., 3(5): 726-30, 1967.

GEDALIA, J.; BRZEZINSKI, A.; BERCOVICI, B. Urinary fluoride levels in women during pregnancy and after delivery. J.D.Res., 38(3): 548-51, 1959.

GLENN, F.B. Immunity conveyed by a fluoride supplement during pregnancy. J. dent. Child., 44(5): 391-5, 1977.

_____ ; GLENN, W.D.; DUNCAN, R.C. Fluoride tablet supplementation during pregnancy for caries immunity: A study of the offspring produced. Am. J. Obstet. Gynecol., 143: 560-4, 1982.

GUERRINI, R.; CURY, J.A.; ISSÃO, M. Influência do grau de saturação óssea materna de fluoreto na sua fixação nos dentes dos filhotes. Ciência e Cultura, 34(7): 102, - 1982.

GUY, W.S. Inorganic and organic fluorine in human blood. In: JOHANSEN, E. et al. Continuing evaluation of the use of fluorides. AAAS Selected Symposium Series 11, Boulder, Westview Press, 1979. chapt 5.

_____ & TAVES, D.R. Relation between F⁻ in drinking water and human plasma. J. Dent. Res., 52: 238, 1973.(Abstract).

HAC, L.R. The effects of fluoride on the total - and glycosa - minoglycan - hexosamines in bones of young rats. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 139: 827-32, 1972.

HAC, L.R. & FREEMAN, S. Effects of age on citrate metabolism in bone and on the distribution of skeletal fluoride. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 130: 428-34, 1969.

HALL, L.L.; SMITH, F.A.; HODGE, H.C. Plasma fluoride levels in rabbits acutely poisoned with sodium fluoride. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 139(3): 1007-9, 1972.

_____ ; WILPPER, R.W.; SMITH, F.A.; MORKEN, D.A.; HODGE, H.C. Kinetic model of fluoride metabolism in the rabbit. Environ. Res., 13: 285-302, 1977.

HANHIJÄRVI, H. Inorganic plasma fluoride concentrations and its renal excretion in certain physiological and pathological conditions in man. Fluoride, 4: 198-207, 1975.

_____. Ionic serum fluoride concentration and age in a low-fluoride community. Proc. Finn. Dent. Soc., 77(4) : 222-7, 1981.

_____ ; PENTILLA, I.; PEKKARINEN, A. Human ionic plasma fluoride concentration and age in a fluoridated community. Proc. Finn. Dent. Soc., 77(4): 211-21, 1981.

HEFTI, A. & MARTHALER, T.M. Bone fluoride concentrations after 16 years of drinking water fluoridation. Caries Res., 15: 85-9, 1981.

HELLSTRÖM, I. Studies on fluoride distribution in infant and small children. Scand. J. Dent. Res., 84: 119-36, 1976.

HODGE, H.C. The safety of fluoride tablets or drops. In: JOHANSEN, E. et al. Continuing evaluation of the use of fluorides. AAAS Selected Symposium Series 11, Boulder, Westview Press, 1979. Chapt 11.

- HOROWITZ, H.S. Perspectives on the use of prenatal fluorides: A symposium. Annual Session of the American Dental Association. New Orleans, 1980.
- HOTZ, P.; MÜHLEMANN, H.R.; SCHAIT, A. A new method of enamel biopsy for fluoride determination. Helv. Odont. Acta, 14: 26-9, 1970.
- HUDSON, J.T.; STOOKEY, G.K.; MÜHLER, J.C. The placental transfer of fluoride in the guinea pig. Archs oral biol., 12: 237-46, 1967.
- ISSÃO, M. Passagem transplacentária do fluor e sua quantificação nas estruturas mineralizadas de ratos recém-nascidos (Rattus norvegicus var. albinus, Rodentia, Mammalia). Rev. Fac. Odont. S. Paulo, 7(1): 175-84, 1969.
- _____ & ZUCAS, S.M. Influência do período e tempo de ingestão de fluor pela rata na cessão ao rato recém-nascido. Rev. Fac. Odont. S. Paulo, 11(2): 299-308, 1973.
- JARDILLIER, J.C. & DESMET, G. Etude du fluor sérique et de ses combinaisons par une technique utilisant une électrode spécifique. Clin. Chim. Acta, 47: 357-63, 1973.
- JENKINS, G.N. The physiology and biochemistry of the mouth. 4.ed. London, Blackwell Sci. Pub., 1976.
- KIDD, E.A.M.; THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O.; BRUUN, C. Influence of fluoride in surface enamel and degree of dental fluorosis on caries development in vitro. Caries Res., 14: 196-202, 1980.
- KOMARKOVA, A.; ZAHOR, Z.; CZABANOVA, V. The effect of lactation on the composition of long bone in rats. J. Lab. & Clin. Med., 69(1): 102-9, 1967.

LARSEN, M.J.; FEJERSKOV, O.; JENSEN, S.J. Effects of fluoride, calcium, and phosphate administration on mineralization in rats. Calcif. Tissue Int., 31: 225-30, 1980.

LARSON, R.H.; MELLBERG, J.R.; SENNING, R. Experiments on local and systemic action of fluoride in caries inhibition in the rat. Archs oral Biol., 22: 437-9, 1977.

_____ ; _____ ; ENGLANDER, H.R.; SENNING, R. Caries inhibition in the rat by water-borne and enamel-bound fluoride. Caries Res., 10: 321-31, 1976.

MADUSKA, A.L.; AHOKAS, R.A.; ANDERSON, G.D.; LIPSHITZ, J.; MORRISON, J.C. Placental transfer of intravenous fluoride in pregnant ewe. Am. J. Obstet. Gynecol., 136: 84-6, 1980.

MAPLESDEN, D.C.; MOTZOK, I.; OLIVER, W.T.; BRANION, H.D. Placental transfer of fluorine to the fetus in rats and rabbits. J. Nutr., 71(1): 70-6, 1960.

MAZZE, R.I.; CALVERLEY, R.K.; SMITH, N.Y. Inorganic fluoride nephrotoxicity: Prolonged enflurane and halothane anesthesia in volunteers. Anesthesiology, 46: 265-71, 1977.

_____ ; COUSINS, M.J.; KOSEK, J.C. Dose-related methoxyflurane nephrotoxicity in rats: A biochemical and pathologic correlation. Anesthesiology, 36(6): 571-87, 1972.

MCCANN, H.G. Determination of fluoride in mineralized tissues using the fluoride ion electrode. Archs oral Biol., 13: 475-7, 1968.

_____ & BULLOCK, F.A. The effect of fluoride ingestion on the composition and solubility of mineralized tissues of the rat. J. D. Res., 36(3): 391-8, 1957.

McCLURE, F.J. & LIKINS, R.C. Fluorine in human teeth studied in relation to fluorine in the drinking water. J. D. Res., 30(2): 172-6, 1951.

MELLBERG, J.R. Penetration of fluorine from sodium monofluorophosphate into artificially produced incipient enamel lesions. Caries Res., 14: 115-20, 1980.

_____ & LARSON, R.H. Fluoride concentrations in molars of rats fed a fluoridated diet. J. Dent. Res., 50(3) : 600-3, 1971.

MILLER, R.F. & PHILLIPS, P.H. The metabolism of fluoride in the bones of the fluoride-poisoned rat. J. Nutr., 51 : 273-81, 1953.

MURRAY, J.L. Fluorides in caries prevention. Bristol, John Wright & Sons LTD, 1976. Chapt 10.

NAVIA, J.M.; LOPEZ, H.; BRADLEY, E.L. Biological rat assay for total fluoride availability in foods. J. Nutr., 111: 755-61, 1981.

PARKINS, F.M.; TINANOFF, N.; MOUTINHO, M.; ANSTEY, M.B.; WAZIRI, M.H. Relationships of human plasma fluoride and bone fluoride to age. Calcif. Tiss. Res., 16: 335-8, 1974.

PORTELA, M.L.P.M. & SANAHUJA, J.C. Efectos bioquímicos en la ingestión prolongada de fluor en la rata. Arch. latinoam. Nutr., 22: 291-308, 1972.

POULSEN, S.; LARSEN, M.J.; LARSON, R.H. Effect of fluoridated milk and water on enamel fluoride content and dental caries in the rat. Caries Res., 10: 227-33, 1976.

POURCHET CAMPOS, M.A. Contribuição para o estudo da fixação do fluor alimentar. Anais da Faculdade de Farmácia e Odontologia da Univ. de S. Paulo, 11: 93-148, 1953.

RIGGS, B.L.; HODGSON, S.F.; HOFFMAN, D.L.; KELLY, P.J.; JOHNSON, M.D.; TAVES, D. Treatment of primary osteoporosis with fluoride and calcium: Clinical tolerance and fracture occurrence. JAMA, 243(5): 446-9, 1980.

SAKATA, N.Y. & CURY, J.A. Absorção e nefrotoxicidade do fluoreto após a aplicação tópica de gel. Rev. Ass.paul. Cirurg. Dent., 38(1): 114, 1984.

SAVCHUCK, W.B. & ARMSTRONG, W.D. Metabolic turnover of fluoride by the skeleton of the rat. J. Biol. Chem., 193: 575-85, 1951.

SCHAMSCHULA, R.G.; AGUS, H.; CHARLTON, G.; DUPPENTHALER, J. L.; UN, P. Associations between fluoride concentration in successive layers of human and individual dental caries experience. Archs oral Biol., 24:847-52, 1979.

SCHOUR, I. & MASSLER, M. The teeth. In: FARRIS, E.J. & GRIFFITH, J.Q. The rat in laboratory investigation. Hafner Pub. Co., New York, 1971.

SHEN, Y.W. & TAVES, D.R. Fluoride concentrations in the human placenta and maternal and cord blood. Am. J.Obstet. Gynecol., 119(2): 205-7, 1974.

SINGER, L. & ARMSTRONG, W.D. Regulation of human plasma fluoride concentration. J. Appl. Physiol., 15(3): 508-10, 1960.

_____ & ARMSTRONG, W.D. Regulation of plasma fluoride in rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 117:686-9, 1964.

SINGER, L. & ARMSTRONG, W.D. Relation between the fluoride contents of rat calcified tissues. J. Dent. Res., 48(5): 947-50, 1969.

SMITH, F.A.; GARDNER, D.E.; HODGE, H.C. Investigations on the metabolism of fluoride. II. Fluoride content of blood and urine as a function of the fluorine in drinking water. J. D. Res., 29(5): 596-600, 1950.

SPENCER, H.; OSIS, D.; LENDER, M. Studies of fluoride metabolism in man: A review and report of original data. The Sci. Total Environ., 17: 1-12, 1981.

SUSHEELA, A.K. & JHA, M. Effects of fluoride on glycosaminoglycan of cancellous and cortical bone of rabbits. Experientia, 37: 1097-9, 1981.

SUTTIE, J.W. & PHILLIPS, P.H. The effect of age on the rate of fluorine deposition in the femur of the rat. Arch. Bioch. Biophys., 83: 355-9, 1959.

TAVES, D.R. Normal human serum fluoride concentrations. Nature, 211: 192-3, 1966.

_____. New approach to the treatment of bone disease with fluoride. Fed. Proc., 29(3): 1185-9, 1970.

_____ & GUY, W.S. Distribution of fluoride among body compartments. In: JOHANSEN, E. et al. Continuing evaluation of the use of fluorides. AAAS Selected Symposium Series 11. Boulder, Westview Press, 1979. Chapt 7.

TAYLOR, J.M.; GARDNER, D.E.; SCOTT, J.K.; MAYNARD, E.A.; -
DOWNS, W.L.; SMITH, F.A.; HODGE, H.C. Toxic effects of fluoride on the rat kidney. II. Chronic effects. Toxicol. Appl. Pharmacol., 3: 290-314, 1961.

VAN KESTEREN, R.G.; DUURSMA, S.A.; VISSER, W.J.; VEER, VANDER, S.J.; BACKER DIRKS, O. Fluoride in human serum and bone during treatment of osteoporosis with sodium fluoride, calcium and vit. D. Metab. Bone Dis. Retat. Res., 4(1): 31-8, 1982.

ZIPKIN, I. Mobilization of fluoride from the bones and teeth of growing and mature rats. Archs oral Biol., 17 : 479-94, 1972.

_____ & BABEAUX, W.L. Maternal transfer of fluoride. J. Oral Therap., 1(6): 652-5, 1965.

_____ & McCLURE, F.J. Deposition of fluorine in the bones and teeth of the growing rat. J. Nutr., 47(4): 611-20, 1952.

_____ ; _____ ; LEONE, N.C. et al. Fluoride deposition in human bones after prolonged ingestion of fluoride in drinking water. U.S. Pub. Health Rep., 73: 732-40, 1958.

WALLACE-DURBIN, P. The metabolism of fluorine in the rat using F¹⁸ as a tracer. J.D.Res., 33(6): 789-800, 1954.

WEATHERELL, J.A.; DEUTSCH, D.; ROBINSON, C.; HALLSWORTH, A. S. Assimilation of fluoride by enamel throughout the life of the tooth. Caries Res., 11(Suppl. 1): 85-115, 1977.

WEIDMANN, S.M. Uptake and retention of fluoride by teeth of animals under experimental fluorosis. Arch. oral Biol., 7: 63-72, 1962.

_____ & WEATHERELL, J.A. Distribucion en los tejidos duros. In: Fluoruros y Salud. Organizacion Mundial de la Salud, Serie de Monografias, n° 59, Ginebra, 1972. pp. 104-129.

WHITFORD, G.M. Fluorides: Mechanisms of action, efficacy , and safety. Dental Caries Prevention in Public Health - Programs. Proceedings of a Conference. Edited by Alice M. Horowitz and Hilah B. Thomas. NIH Pub. 81-2235, Bethesda, Maryland, 1981.

_____ & REYNOLDS, K.E. Plasma and developing enamel fluoride concentrations during chronic acid-base disturbances. J. Dent. Res., 58(11): 2058-65, 1979.