

I.
M. Bezerra

LÉA MARIA BEZERRA DE MENEZES

CONCENTRAÇÃO DE FLÚOR NO OSSO COMO
INDICADOR DE INTOXICAÇÃO AGUDA:
IMPORTÂNCIA PERICIAL

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba, da
Universidade Estadual de Campinas, para a
obtenção do grau de Mestre em Ciências,
Área de Odontologia Legal e Deontologia.

PIRACICABA-SP

1996



UNIVERSIDADE	BC
N.º DE	
	UNICAMP
	M524c
V.	27433
M.	667/96
P.	X
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	25/04/96
N.º UNICAMP	00086963-3

Ficha Catalográfica Elaborada pela Biblioteca da FOP/UNICAMP

M524 c Menezes, Léa Maria Bezerra de
 Concentração de flúor no osso como indicador de intoxicação aguda:
 Importância Pericial / Léa Maria Bezerra de Menezes. - Piracicaba :
 [s.n.], 1996.
 88f. : il.
 Orientador : Jaime Aparecido Cury.
 Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas.
 Faculdade de Odontologia de Piracicaba.
 I. Flúor - toxicologia. 2. Odontologia Legal. I. Cury, Jaime Aparecido.
 II. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de
 Piracicaba. III. Título.

19.CDD - 615.925 731
 - 614.1

Índice para Catálogo Sistemático

Flúor - toxicologia	615.925 731
Odontologia Legal	614.1

LÉA MARIA BEZERRA DE MENEZES

CONCENTRAÇÃO DE FLÚOR NO OSSO COMO
INDICADOR DE INTOXICAÇÃO AGUDA:
IMPORTÂNCIA PERICIAL

*Este exemplar foi
devidamente corrigido,
conforme resolução CCPG/036/83
Piracicaba, 11 de março 1996
Jaime*

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba, da
Universidade Estadual de Campinas, para a
obtenção do grau de Mestre em Ciências,
Área de Odontologia Legal e Deontologia.

Orientador: Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury
F.O.P. - UNICAMP

PIRACICABA-SP

1996



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de Mestrado, em sessão pública realizada em 05/03/96, considerou o candidato aprovado.

1. Jaime Aparecido Cury

2. Eduardo Daruge

3. Danillo Eleutério

À ti meu Deus

Elevo meu coração, num gesto de louvor e agradecimento por teres me concedido mais esta vitória em minha vida.

Ao Professor Dr. JAIME APARECIDO CURY

Pela sua grandeza como ser humano e profissional e pela dedicação aos seus orientandos, possibilitando seu crescimento, o meu reconhecimento, a minha admiração e a minha homenagem sincera.

Ao Professor Dr. EDUARDO DARUGE

Pela honestidade e seriedade com que conduz suas atividades didáticas e pela maneira atenciosa com que me acolheu neste curso, o meu preito de consideração e de agradecimento.

Aos meus pais e irmãos

Que apesar de terem sofrido com meus períodos de ausência, me cobriram de carinho a cada retorno.

Aos meus filhos Christianne, Álvaro e Fredy e aos meus netos Vítor e Lucas razão maior do meu viver, como um incentivo à constante luta por novos conhecimentos e pelos ideais verdadeiros.

Dedico este trabalho

A minha irmã Tetê

O amor, a dedicação e o apoio incondicional que você me deu, foi o impulso que me conduziu a enfrentar a luta pelo ideal ora atingido. O meu reconhecimento e minha gratidão me fazem dividir com você esta vitória.

Ao mestre e amigo Prof. Dr. Domingos Leitão Neto

Que me acompanhou passo a passo nesta trajetória, me incentivando e me fazendo acreditar que os limites individuais são apenas obstáculos a serem superados continuamente em nossa vida, ofereço minha amizade como gratidão.

GRATIDÃO

Palavra imprescindível no dicionário dos justos, que exprime sentimentos de reconhecimento e de afeição. É ela que não me deixa omitir àquelas pessoas que direta ou indiretamente colaboraram com o meu trabalho.

Ao prof. FLÁVIO PRATA CRISÓSTOMO por ter assumido minha disciplina na Universidade Federal do Ceará, possibilitando o meu afastamento para a realização deste Mestrado.

Aos profs. MARIA CRISTINA VOLPATO e PEDRO LUIZ ROSALEN pela contribuição experimental indispensável para a realização deste trabalho.

À Sra. MARIZA DE JESUS CARLOS SOARES e ao Sr. WALDOMIRO VIEIRA FILHO técnicos do laboratório de Bioquímica Oral da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pelo inestimável auxílio na etapa experimental e sobretudo pelo carinho e afeição dispensada, tornando prazeroso o nosso convívio e o nosso trabalho.

À CÍNTIA MACHADO TABACHOURY pela prestimosa colaboração na tradução dos textos de inglês e pela amizade compartilhada.

À ELIANE MELO FRANCO pelo auxílio na digitação dos trabalhos e pelo espírito de solidariedade demonstrado.

À Prof^a ROSANA CRISTINA PARENTE pela realização das análises estatísticas.

Às Sras. SUELI DUARTE DE OLIVEIRA SOLIANI, LUZIA DE FÁTIMA DA SILVA e HELOISA MARIA CECCOTTI Bibliotecárias da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pelo auxílio nas pesquisas e pela correção das Referências Bibliográficas.

À Sra. DORALICE NASCIMENTO LEAL ROMANO (DORINHA), funcionária da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela paciência e atenção com que sempre me atendeu.

À Sra. DINOLY ALBUQUERQUE LIMA e CÉLIA REGINA MANESCO, funcionárias do Curso de Pós Graduação de Odontologia Legal e Deontologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela atenção e carinho que me dispensaram durante esta jornada.

À Sra. ANA MARIA COSSA, secretária dos cursos de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pelo interesse demonstrado e auxílio permanente.

Ao CENTRO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE ENSINO SUPERIOR (CAPES), pelo auxílio financeiro fornecido, possibilitando a realização deste trabalho.

Às minhas amigas KIRA ANAYANSI SINGH e ANDRÉA BEATRIZ BONSI que embora não tenham participado diretamente neste trabalho, me proporcionaram grande suporte afetivo e emocional nesta etapa da minha vida.

A todos os que tive oportunidade de conhecer durante este período, Professores, Alunos e Ex-alunos dos cursos de Pós-Graduação, especialmente a MARINÊS NOBRE dos SANTOS, PAULO EDELVAR PERES e ROGÉRIO NOGUEIRA de OLIVEIRA, pelo companheirismo e pela amizade.

SUMÁRIO

1. Lista de Ilustrações.....	1
2. Listas de Abreviaturas Siglas.....	4
3. Resumo.....	5
4. Introdução.....	7
5. Revisão da Literatura.....	11
6. Proposição.....	39
7. Material e Métodos.....	41
8. Resultados.....	50
9. Discussão dos Resultados.....	62
10. Conclusões.....	68
11. Apêndice.....	70
12. Summary.....	74
13. Referências Bibliográficas.....	76

1. LISTA DE ILUSTRAÇÕES:

1.1 FIGURAS:

Figura 1: Fêmur removido de um dos animais.....	43
Figura 2: Remoção de um fragmento de 5 mm da região diafisária de um fêmur.....	44
Figura 3: Pulverização do fragmento ósseo em almofariz de porcelana.....	44
Figura 4: Pó de osso sendo pesado na Balança Analítica OHAUS de precisão $\pm 0,01$ mg.....	45
Figura 5: Analisador de Íons acoplado a eletrodo específico para flúor.....	46
Figura 6: Fragmento de osso com área circular de 2,0 mm exposta para análise.....	47
Figura 7: Agitador Kline contendo tubo plástico com fragmento ósseo.....	48
Figura 8: Gráfico representativo da concentração de flúor no osso em função das doses de flúor.....	52

Figura 9: Gráfico representativo da concentração de flúor no osso em função dos tratamentos, após o ajuste dado pela regressão polinomial de segundo grau.....	55
Figura 10: Gráfico representativo do percentual de animais mortos pelos respectivos tratamentos.....	58
Figura 11: Gráfico representativo das concentrações médias de flúor no osso total e superficial versus porcentagem de morte dos animais em função dos tratamentos.....	61

1.2.TABELAS

Tabela I: Média e erro padrão da concentração de íon flúor no osso total pulverizado em função dos tratamentos e teste de TUKEY.....	51
Tabela II: Médias ajustadas pela equação de regressão e médias observadas da concentração de flúor total em função dos tratamentos.....	54
Tabela III: Média e erro padrão da concentração de flúor na camada superficial do osso em função dos tratamentos.....	56
Tabela IV: Número de animais vivos e mortos pelas dosagens.....	58

Tabela V: Tempo de morte dos animais e respectivos tratamentos.....	59
Tabela..VI: Concentrações médias de flúor no osso ($\mu\text{g/g}$) total e superficial versus porcentagem de morte dos animais em função dos tratamentos.....	60

2. LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APF - fluorfosfato acidulado

DCL - dose certamente letal

dL - decilitro

DST - dose seguramente tolerada

DPT- dose provavelmante tóxica

F- flúor

H- Hidrogênio

HCl- ácido clorídrico

HF- ácido hidrofúorídrico

Kg- quilograma

L- litro

L_{D50} - dose 50% letal

L_{D100} - dose 100% letal

M- mol

MFP- monofúorfosfato

mg- miligrama

ml- mililitro

NaF- fluoreto de sódio

NaOH- hidróxido de sódio

ng- nanograma

pKa- constante de dissociação do ácido

ppm- parte por milhão

SnF_2 - fluoreto estanhoso

TISAB- Total Ionic Strenght Adjustor Buffer-Tampão acetato 1M pH 5,0 contendo NaCl 1,0 M e ciclohexilenediaminotetracético 0,04%

RESUMO

RESUMO

Como se sabe o flúor após absorvido se agrega aos tecidos calcificados. Diante disso, pensou-se na possibilidade de nas exumações cadavéricas se analisar a concentração de flúor no osso, para se ter uma comprovação da **causa mortis** por uma intoxicação por flúor, quando não tiverem sido feitas análises de concentração de flúor no sangue, e em nenhum outro órgão. O objetivo deste trabalho foi verificar se existe correlação entre as concentrações de flúor no osso, em função das doses administradas a animais e as mortes ocorridas. Para este estudo foram usados 148 ratos, linhagem Wistar, pesando de 180 a 220 gramas. Os animais foram divididos aleatoriamente em 07 grupos de 20 animais, os quais foram submetidos à doses crescentes de flúor por via gástrica, variando de 10,0 a 90,0 mg F/Kg (grupos de I a VII). Um grupo de 08 animais serviu de controle (C). Os animais que sobreviveram foram sacrificados após 76 horas. De todos os animais foram removidos os fêmures dos quais eliminou-se os tecidos moles e desidratou-se em estufa a 90°C. Um fragmento de 5,0 mm da região diafisária foi obtido de cada um dos fêmures. Um foi pulverizado e pesado para análise do flúor total, o qual foi extraído com HCl 0,5M e determinado com eletrodo específico. No outro fêmur, foi isolado uma área circular de 2,0 mm para ser determinado o flúor incorporado superficialmente, utilizando-se HCl 0,5M sob agitação constante por 1 minuto. Com eletrodo específico, a concentração de flúor nas soluções foi determinada após tamponamento com TISAB. A concentração de íon flúor na amostra, foi calculada a partir da quantidade de osso na solução, a qual é decorrente da dosagem de fósforo. Os resultados obtidos (média \pm erro padrão) em $\mu\text{g F/g}$ de osso total pulverizado foram respectivamente: C = 208,5 \pm 7,38 c; I = 252,9 \pm 4,40 bc; II = 335,2 \pm 10,3 ab; III = 405,9 \pm 16,20 a; IV = 386,8 \pm 19,47 a; V = 364,5 \pm 52,08 a; VI = 363,80 \pm 34,8 a; VII = 269,10 \pm 10,95 bc. A análise do flúor (média \pm erro padrão) na camada superficial do osso ($\mu\text{g F/g}$), apresentou os seguintes resultados: C = 475,875 \pm 31,46 d; I = 926,610 \pm 45,71 dc; II = 1480,895 \pm 76,18 b; III = 1721,235 \pm 121,27 ab; IV = 2033,770 \pm 106,72 a; V = 1859,645 \pm 150,09 ab; VI = 1802,645 \pm 164,43ab; VII = 1413,825 \pm 116,84 bc. O número de animais mortos pelas dosagens foi: I = 0; II = 1; III = 2; IV = 11; V = 19; VI = 17; VII = 20. A análise de variância apresentou significância estatística para os efeitos de dosagens de flúor nas duas formas de análises e houve significância estatística na associação entre as doses e as mortes ocorridas. Entretanto o teste de Tukey (médias seguidas de letras distintas diferem estatisticamente a 5%) revelou uma maior confiabilidade na análise da camada superficial do osso do que a análise do flúor total para relacionar concentração de flúor com as mortes ocorridas. No entanto, estes métodos não podem ser utilizados com segurança total como prova **pós - mortem** de uma intoxicação aguda por flúor, servindo apenas como meio auxiliar de diagnóstico.

Palavras-Chaves: Flúor
Toxicologia

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

Apesar do comprovado efeito cariostático dos fluoretos e ação preventiva e terapêutica em certas doenças sistêmicas, efeitos colaterais se verificam quando de sua utilização inadequada, podendo estes serem agudos, quando quantidades grandes são tomadas de uma só vez, e crônicos quando quantidades pequenas ou relativamente pequenas são tomadas com uma certa constância provocando a fluorose dental ou até a fluorose esquelética. (WHITFORD⁷², CURY¹³)

Os efeitos agudos variam dependendo da dose, desde um leve distúrbio gástro-intestinal, manifestado por náuseas, vômitos, dores abdominais e diarreia até uma redução na capacidade de concentração urinária, paralisia cárdio-respiratória e morte (DUXUBURY¹⁷, WHITFORD⁷⁰). No passado, era muito comum ocorrerem casos de intoxicação por flúor^{*1}, porque o fluoreto de sódio era usado como raticida ou inseticida sendo guardado em domicílios e devido sua aparência, era muitas vezes confundido com outros produtos como por exemplo leite em pó, bicarbonato de sódio, farinha etc...(HODGE & SMITH³⁵). Hoje em dia ainda acontecem casos de intoxicações por flúor tanto pela via sistêmica como pela tópica. Atualmente uma grande variedade de produtos contendo flúor estão disponíveis, tanto para aplicação profissional quanto para uso em casa. Existem várias formulações diferentes contendo flúor para uso tópicos tais como soluções de fluoreto de sódio a 0,05%; 0,2%; 2,0%; solução de fluoreto estanhoso a 2%, 4%,8% e 10%, solução de fluorfosfato de sódio acidulado a 1,23% de Flúor.

¹ Termo genérico para definir as formas iônica, ionizável e não ionizável do elemento flúor.

A literatura relata inúmeros casos de intoxicação aguda devido a doses elevadas de flúor, com alguma frequência de fatalidades. CHURCH¹⁰ (1976); GOLINSKY³⁰ (1981); EICHLER et al¹⁹ (1982); NIKIFORUK⁵¹ (1985); HODGE & SMITH³⁶ (1986); LI⁴⁴ (1993). Para comprovar a *causa mortis*, associados aos sintomas clínicos, geralmente são realizados autópsias ou exames de sangue e de urina onde níveis de flúor ou níveis de cálcio e potássio são analisados.

O quadro clínico na toxicidade aguda por flúor sempre se apresenta muito rapidamente e se não forem tomadas medidas de urgência pode levar o paciente a morte em poucos minutos. Logo após ser submetido a uma dose alta, o indivíduo apresenta náuseas e dores estomacais sempre acompanhadas de vômitos. Alguns sinais não específicos tendem a surgir tais como: salivação excessiva, dores de cabeça, sudorese, diarreia, espasmo das extremidades, distúrbios no balanço eletrolítico, particularmente hipocalcemia e hiperpotassemia BEAL & ROCK⁴ (1976); CHURCH¹⁰ (1976); GOLINSKY³⁰ (1981); DUXUBURY¹⁷ (1982); EICHLER et al¹⁹ (1982); HEIFETZ & HOROWITZ³³ (1984); AUGENSTEIN et al² (1991); RANDAL & FRASER⁵⁴ (1995).

No Brasil, o único caso relatado de fatalidade, possivelmente por intoxicação de flúor refere-se a um menino de três anos de idade que faleceu após a aplicação tópica de flúor feita em consultório Odontológico, utilizando um produto contendo NaF a 33 %. GAZETA DE ALAGOAS¹⁵ (1989). A falta de coleta de sangue ou de qualquer fluido corporal ou tecidos moles na ocasião para que fossem feitas análises do teor de flúor, impossibilitou a afirmativa de ter sido intoxicação pelo flúor a *causa mortis*. Posteriormente foram enviados fragmentos de ossos para análise do teor de flúor (PALHARES & MASSINI⁵²,1989). Mesmo assim não foi possível esclarecer, uma vez que os dados da literatura até aquele momento não

faziam menção ao flúor incorporado ao esqueleto como indicador biológico para comprovar uma intoxicação aguda letal por flúor e não existia comprovação científica da interrelação da quantidade de flúor ingerida no caso de intoxicação aguda e a concentração encontrada no osso.

No entanto, com relação ao metabolismo do flúor sabe-se que o flúor rapidamente é absorvido, penetrando nos fluidos do corpo através dos pulmões ou trato gastro- intestinal. No plasma ele é distribuído para os outros compartimentos do corpo e eliminado. Aproximadamente 50% da quantidade absorvida é excretada pela urina durante as primeiras 24 horas, enquanto a maior parte do remanescente se agrega aos tecidos calcificados, logo após a ingestão (WHITFORD^{72, 74}; HEIFETZ & HOROWITZ²³; NIKIFORUK⁵¹; RESEMBRUG⁵⁵). Por esta razão se viu a possibilidade de utilizar o esqueleto como prova *pós -mortem* de uma intoxicação aguda por flúor.

O objetivo deste trabalho foi portanto verificar se existe correlação entre as concentrações de flúor no osso em função das doses administradas a animais e as mortes ocorridas, contribuindo assim com a Justiça nos casos de julgamento de processos por crimes de responsabilidade profissional.

REVISÃO DA LITERATURA

REVISÃO DA LITERATURA

1-TOXIDADE AGUDA DO FLÚOR

SANKARAM & GADEKAR⁵⁹ em 1964 afirmaram que o íon flúor pode produzir vários efeitos biológicos definitivos no organismo. Eles podem ser fisiológicos ou patológicos dependendo da concentração. Pode produzir mudanças no osso, rins, dentes, tireóide e no crescimento.

HODGE & SMITH³⁵ (1965) analisando os casos de toxicidade aguda que ocorreram com NaF, estabeleceram que a dose certamente letal (DCL) para um homem de 70 Kg, seria de 5 a 10g de NaF correspondente a 32 a 64 mg de íon flúor por quilo de peso corporal. Um quarto da DCL seria considerada dose seguramente tolerada (DST). Isto é, a quantidade que poderia ser ingerida, sem produzir sintomas sérios de toxicidade aguda, ou seja, de 8 a 16 mg F/Kg.

Em 1969, EAGERS¹⁸ observou que o conteúdo normal de flúor no sangue está entre 0,014 e 0,10 ppm, mas níveis de flúor de 4,0 5,0 e 15,0 ppm foram relatados nas autópsias de pessoas que morreram por intoxicação aguda de flúor, onde vários órgãos do corpo são afetados como resultado da absorção dos íons flúor na corrente sanguínea. A ingestão de flúor sempre resulta na presença de algum ácido hidrófluorídrico no estômago como resultado da reação entre o ácido clorídrico presente nos sucos digestivos e

o flúor. O autor relata ainda as três vias nas quais envenenamento por fluoreto pode ocorrer: através da via oral (ingestão) onde o trato gastrointestinal está envolvido, através do trato respiratório (inalação) e através do contato local pela pele (absorção). A maioria dos casos de intoxicação por administração oral resultavam da confusão de compostos de flúor com outras substâncias, por causa de sua semelhança com outros produtos e porque o fluoreto de sódio era muito usado como raticida e inseticida sendo guardado em casa. Foram relatados alguns casos de suicídio e de homicídio no qual compostos de flúor foram utilizados. A primeira fatalidade com fluoreto foi relatada em 1873. Um homem de 35 anos morreu após tomar aproximadamente 15 ml de ácido hidrófluorídrico.

Em um dos casos de fatalidade a amostra de sangue mostrou 2,6 mg de cálcio em 100 ml de soro, quando o nível de cálcio normal no sangue é 9 a 11,5 mg por 100 ml de soro.

BEAL & ROCK⁴ (1976) observaram que após a aplicação tópica de gel com 1,23% F os pacientes refletem sintomas de toxicidade aguda por flúor tais como náuseas, o que é atribuído como consequência da deglutição do gel de flúor causado pelo extravasamento do gel da moldeira durante a aplicação.

Em 1976, CHURCH¹⁰ descreveu o primeiro caso letal com flúor em consultório, ocorrido em Maryland nos Estados Unidos. Uma criança de 3 anos de idade foi levada ao consultório Odontológico onde lhe foi feito inicialmente uma profilaxia utilizando pedra pomes e fluoreto estanhoso (SnF_2) a 4%. Em seguida foi removida a pedra pomes com um algodão embebido em solução de SnF_2 a 4%. Posteriormente foi entregue a criança uma solução de SnF_2 a 4% para ela bochechar. Após 5 minutos a

criança apresentou náuseas, vômitos entrou em convulsão e foi encaminhada ao hospital onde veio a falecer 3 horas após.

HARRIS³² (1976) cita trabalhos que indicam que uma dose única de 250 mg de fluoreto de sódio causa severos sintomas de envenenamento e uma dose maior pode ser fatal dentro de poucas horas. Sintomas agudos de envenenamento foram relatados com doses de 20 a 140 mg. Uma dose única de 200 mg de fluorsilicato de sódio é fatal e ácido fluorsilício é mais tóxico. O flúor tem uma afinidade especial pelos ossos e dentes. Segundo este autor, é uma maneira do corpo tentar eliminar o excesso de flúor não excretado pelo rim.

Em 1979, MYERS⁴⁸ observou que quando os produtos odontológicos fluoretados são usados tópicamente, como o APF gel, grande quantidade do produto fica retido na cavidade bucal e é ingerido. Durante a ingestão do gel ocorre ação sistêmica do flúor, devido a absorção, distribuição e excreção de fluoreto.

GOLINSKY³⁰ (1981) relatou um caso de intoxicação aguda letal por flúor ocorrida em 1974. Uma criança de 3 anos do Brooklin de Nova York foi para sua primeira consulta Odontológica. O Cirurgião-Dentista pediu para enfermeira odontológica aplicar flúor nos dentes da criança. A enfermeira deu para criança um frasco de 45 ml de SnF₂ a 2%. Por uma falha da enfermeira, a criança ao invés de bochechar bebeu toda a solução, passando a sentir dor de cabeça, náuseas e dor de estômago. Devido a demora no atendimento médico a criança morreu, sendo estimada que a mesma foi submetida a uma dose de 16,0mgF/Kg.

DUXUBURY¹⁷ em 1982 afirmou que não há dúvida que o flúor tomado em quantidades suficientemente altas é tóxico e pode ser fatal. O início dos sintomas de uma intoxicação aguda por flúor é rápido, ocorrendo dentro de uma hora. Geralmente a morte pode acontecer em poucas horas não ultrapassando 24 horas. Segundo o autor, o mecanismo pelo qual o flúor produz seu efeito tóxico ainda não está bem elucidado, embora o principal fator possa ser a hipocalcemia.

EICHLER et al¹⁹ (1982) relataram 108 casos de ingestão acidental de comprimidos de flúor na Áustria. Destes, um foi fatal, quando uma criança de 12,5 Kg ingeriu 200 comprimidos de 1,0 mg de flúor cada. A criança vomitou imediatamente e parecia que tinha se recuperado, porém morreu 7 horas depois, sendo estimado que foi submetida a uma dose de 16,0 mg F/Kg de peso corporal.

SMITH & HODGE⁶³ (1983) afirmaram que há muito tempo o flúor tem sido considerado como tóxico para seres humanos. Mortes acidentais ou intencionais tem acontecido do mau uso de inseticidas e pesticidas. Entretanto o número de mortes anuais devido ao flúor nos Estados Unidos constitui somente cerca de 1% de todas as mortes devidos aos envenenamentos. Resultados de trabalhos indicam pequena diferença na resposta tóxica LD₅₀ entre três tipos de compostos fluoretados, MFP, NaF e SnF₂. O fluoreto estanhoso é mais tóxico dos três e o MFP é um pouco menos tóxico que o fluoreto de sódio, a curto prazo. Os efeitos tóxicos do MFP são atribuídos ao íon flúor liberado pela hidrólise do composto. A longo prazo o MFP produz o mesmo quadro de efeitos renais e estocagem esquelética que o NaF.

Segundo WHITFORD⁷² em 1983, alguns produtos contendo flúor, tem quantidade suficiente do íon para se tornar perigoso. Eles deveriam ser estocados e manuseados com muito cuidado. O autor ressalta que um gel tópico de fluorfosfato acidulado a 1,23%, contém 12300 ppm de flúor ou 12,3 mg/g. Uma determinada quantidade, ou seja, 28 gramas já ameaça a vida de uma criança pesando entre 11 e 23 quilos. Portanto tais produtos deveriam ser guardados fora do alcance das crianças. Independente da técnica utilizada na aplicação tópica de flúor gel, as quantidades do produto aplicados para os dois arcos variam de 3 a 6 gramas ou mililitros. Assim a quantidade de flúor utilizada varia de 36 a 74 mg. Destas quantidades aproximadamente 50% não são recuperadas da boca, nem com as moldeiras nem com os rolos de algodão. Se o paciente não expectorar nem bochechar por pelo menos 30 segundos após a aplicação, essencialmente todo flúor remanescente será deglutido e absorvido. Tem sido confirmado por vários estudos clínicos, picos de níveis plasmáticos, várias horas após a aplicação tópica de gel, variando de 15 a 50 μM , quando os níveis normais são de 1 μM ou menos. Níveis de flúor urinário, também tem sido encontrado proporcionalmente elevado. Assim, o autor conclui suas observações alertando os profissionais para estes fatos, para que os produtos sejam usados com a finalidade de promover benefício e segurança.

De acordo com HEIFETZ & HOROWITZ³³ em 1984 o número crescente e a disponibilidade de agentes de prevenção de cáries com diferentes concentrações de flúor, usada nos consultórios, casas e escolas exigem que os profissionais, dentistas, higienistas e auxiliares de dentistas entendam seus potenciais tóxicos. Os sinais e sintomas da toxicidade aguda de flúor começam dentro de 30 minutos após a ingestão e são os seguintes:

a) gastro-intestinais: náuseas, vômitos, diarreia, dores abdominais e cãimbras.

b) neurológicos: parestesias, tetania, depressão do sistema nervoso central e coma .

c) sistema cárdio-vascular: pulsação fraca, hipotensão, palidez, choque, irregularidades cardíacas.

d) química do sangue - acidose, hipocalcemia e hipomagneemia.

A ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (WHO) ⁷⁹ em 1984 apresentou as seguintes considerações sobre a toxicologia do flúor: No envenenamento agudo por flúor, praticamente todos os órgãos e sistemas são afetados. HODGE, 1969 citado neste trabalho, agrupou a maioria dos efeitos agudos do flúor em 4 categorias:

- a) inibição enzimática
- b) formação de complexos de cálcio
- c) choque
- d) injúria a órgãos específicos

Na intoxicação aguda, o flúor provoca a morte por bloquear o metabolismo celular normal. Interferências com funções corporais necessárias controladas pelo cálcio, podem ser até mais importante. A forte afinidade do íon flúor por cálcio resulta em hipocalcemia. O mais severo caso de hipocalcemia relatado em seres humanos foi num paciente com envenenamento por flúor (RABINOWITCH⁵³ 1945 *apud* W.H.O⁷⁹). Em pacientes com insuficiência renal, a excreção do flúor é diminuída e a concentração do íon flúor no plasma é mais alta que a normal (JUNCOS & DONADIO⁴¹ 1972; BERMAN & TAVES⁵ 1973; HANHIJAERVI³¹ 1974 *apud* W.H.O⁷⁹).

NIKIFORUK⁵¹ em 1985 relatou a morte de uma criança que ingeriu 120 ml de uma solução de NaF a 2,2% (10 mg F/ml) que lhe havia sido prescrito para ingerir uma gota ao dia. Segundo o autor, os sinais e sintomas da toxicidade aguda envolvem a maioria dos sistemas do corpo. O quadro patológico indica hemorragia gastro-entérica, nefrite tóxica aguda e injúria do fígado. O mecanismo de ação tóxica resulta da ação inibitória do íon flúor na atividade de vários sistemas enzimáticos.

HODGE & SMITH³⁶ (1986) afirmaram que a intoxicação aguda se verifica quando da ingestão de uma grande quantidade de flúor de uma única vez, desenvolvendo-se muito rapidamente. O íon flúor no suco gástrico se torna uma molécula não ionizada de ácido hidrofluorídico e atravessa as membranas rapidamente, penetrando no sangue onde dentro de minutos concentrações máximas nos tecidos moles são alcançadas. O mecanismo íntimo da resposta tóxica é ainda suposição segundo esses autores. Talvez uma inibição simultânea de enzimas essenciais ocorre junto com a estimulação de uma grande variedade de processos metabólicos e hormonais dentro da célula. Durante a primeira metade do século XX, vários problemas de toxicidade aguda por flúor foram relatados nos Estados Unidos. Isto se deve provavelmente ao fato do NaF ser utilizado como inseticida e raticida sendo guardado em domicílio, e tendo em vista sua aparência ser semelhante a leite em pó, farinha ou bicarbonato tendo sido várias vezes confundidos com esses produtos. Neste período ocorreram 600 casos de mortes por envenenamento agudo por flúor, sendo mais dramático o episódio ocorrido em 1942 em um hospital de Oregon, quando 263 pacientes foram envenenados por um alimento de ovos mexidos preparados inadvertidamente com fluoreto de sódio ao invés de leite em pó. Dos 263 pacientes que ficaram doentes, 47 morreram. As análises de flúor nos tecidos dos pacientes que morreram, apresentaram variações dependendo do curso de

tempo entre a ingestão e a morte. O estômago do paciente que morreu em quinze minutos continha 17 gramas de flúor. Os que morreram após uma hora apresentaram uma quantidade bem menor, 3,7 g e os que morreram 18 horas após a dosagem apenas 0,2 gramas.

De acordo com NEWBRUN⁵⁰ em 1987 o tratamento da toxicidade aguda do flúor depende em parte da dosagem. O autor recomenda que, se menos que 5,0 mg de flúor for ingerido, administração oral de cálcio na forma de leite pode ser suficiente. Entretanto, dosagens mais altas necessitam imediata hospitalização e na ausência de vômito, proceder uma lavagem gástrica. Em adição, monitoramento cardíaco deveria começar e intubação endotraqueal para ajudar a respiração, se necessário. Amostras de sangue necessitam ser monitorizadas para controlar os níveis de cálcio , magnésio , potássio e pH. Infusão intravenosa para restabelecer o volume sanguíneo e gluconato de cálcio e magnésio para restabelecer os níveis de cálcio e magnésio para faixas normais. Diurese alcalina pode acelerar a excreção do flúor.

WHITFORD⁷⁰ (1987) revendo os casos acidentais de intoxicação aguda letal por produtos contendo fluoreto, sugeriu o conceito de Dose Provavelmente Tóxica (DPT), estimada em 5 mg F/Kg e definida como a menor dose capaz de causar sinais e sintomas tóxicos, incluindo morte . No caso de crianças pequenas, o autor chama atenção para certos produtos comerciais fluoretados cuja embalagem traz quantidade de fluoreto excedendo a dose provavelmente tóxica.

Segundo WHITFORD et al⁷⁶ em 1987 o uso de produtos contendo flúor para aplicação tópica, particularmente o fluorfosfato acidulado APF gel

1,23% que implica em quantidades relativamente grande de géis (4 a 8 ml) utilizados, correspondendo a 49 a 100 mg de flúor, na ausência do sugador e da expectoração após a aplicação, está associada com a deglutição de quantidades relativamente grandes de flúor. Há necessidade imediata dos profissionais dentais padronizarem métodos para aplicação do gel, que minimize as quantidades de flúor disponíveis para ingestão e absorção sistêmica.

RIPA⁵⁶ em 1987 num trabalho de revisão analisa os aspectos dos riscos e benefícios do flúor. Sugere que a retenção e a ingestão por via oral de flúor podem ocorrer ou por tratamentos tópicos de flúor por profissionais ou pelo conteúdo de flúor dos dentífrícios e bochechos fluoretados e ainda por ingestão inadvertida de produtos fluoretados. Os efeitos dessa ingestão são influenciados pela idade do paciente, a quantidade de flúor consumido e se a ingestão foi aguda ou crônica.

Num trabalho de revisão feito em 1987 por LE COMPTE⁴² foram avaliados os riscos quando da aplicação tópica de flúor e várias recomendações com respeito ao uso de produtos fluoretados foram feitas.

1) Ao se utilizar moldeiras para aplicação do gel, apenas 40% da sua capacidade deve ser utilizada e não mais que 2g de gel por moldeira.

2) O uso do sugador de saliva durante o atendimento é indispensável, uma vez que alguns pacientes sentem necessidade de deglutir durante o tempo que o gel está sendo aplicado.

3) Após os 4 min de aplicação, o paciente deveria ser instruído para expectorar intensamente por 30 segundos a 1 minuto, independente se sucção de alta potência tenha sido utilizado. Expectorção é provavelmente o meio isolado mais efetivo para reduzir o flúor retido na cavidade bucal.

4) Quando utilizar moldeiras individuais para pacientes de aplicação tópica diária ou semanal , utilizar somente 5 a 10 gotas do produto por moldeira.

SPAK et al⁶⁴ em 1989 objetivando examinar as respostas teciduais da mucosa gástrica após a ingestão de flúor , administraram 20,0 mg de flúor a 12 voluntários adultos sem nenhuma história progressiva de doença gástrica. Duas gastroscopias foram feitas, uma antes e a outra após a ingestão do flúor. Duas biópsias também foram realizadas. Os resultados mostraram que após a ingestão de flúor a mucosa gástrica ficou alterada, ressaltando portanto a necessidade de grandes cuidados quando se usar géis contendo alta concentração de flúor, desde que 20 mg de flúor ou mais podem ser deglutidas durante o tratamento de gel com flúor.

CURY¹³ (1989) ressaltou a importância da manutenção constante de flúor na cavidade bucal, no controle e na prevenção da cárie. No entanto, faz uma observação com relação a toxicidade do flúor. O flúor como qualquer outro fármaco é tóxico. O parâmetro de diferenciação entre remédio e veneno é a dose. A toxicidade do flúor é dividida em aguda e crônica. Aguda relacionada a ingestão de uma grande quantidade de flúor de uma única vez e crônica, a de pequena quantidade durante prolongado período de tempo. Com relação a toxicidade aguda da aplicação tópica de flúor profissional, os sintomas de náuseas e vômitos muito comum após a aplicação tópica de flúor em gel, decorre do fato de que sendo o gel ácido, ocorre estimulação da salivação havendo deglutição do mesmo durante a aplicação.

WHITFORD⁷⁴ em 1989 fez um estudo para avaliar a hipocalcemia e a hipercalemia associadas com casos de toxicidade aguda por flúor. A hipocalcemia contribuiu para outros sinais de intoxicação tais como, depressão do sistema cárdio-vascular e respiratório. Relatos mais recentes tem sugerido que a hipercalemia leva à arritmias cardíacas fatais podendo também ocorrer em toxicidade aguda por flúor. O autor avalia esta possibilidade. Ratas fêmeas Sprague Dolley em jejum pesando 190 gramas receberam 85 mgF/Kg na forma de NaF, MFP ou em combinação por intubação gástrica. Amostras de sangue foram coletadas 30 minutos, 1, 2, 4 e 6 horas depois da dose. Os níveis de flúor, sódio, potássio, cálcio e magnésio no plasma foram analisados. Com respeito ao flúor não existiram diferenças significativas entre os grupos que receberam NaF, MFP ou a combinação dos dois. Os picos de flúor plasmático ocorreram aos 30 minutos e variaram de 379 ± 61 (média \pm desvio padrão) para 443 ± 84 $\mu\text{mol/L}$. Os níveis de cálcio foram se tornando menos ativo, de $10\text{mg}\%$ para $7\text{-}8\text{mg}\%$ em cada grupo não existindo clara relação entre morte dos animais e grau de hipocalcemia. Os níveis de sódio e magnésio não foram extraordinários. Dois ratos em cada grupo morreram dentro de 6 horas e as fatalidades foram associadas com a concentração de potássio no plasma maiores que $5,0$ mg/L. Entre os ratos que sobreviveram mais que 6 horas, somente dois tiveram um transitório aumento no potássio. Segundo o autor, os achados sugerem que hipercalemia é um acontecimento característico nos casos de intoxicação aguda por flúor que termina em fatalidade.

WHITFORD⁷⁵ em 1990 afirmou que os produtos dentais contendo flúor para uso doméstico como soluções para bochechos, dentifrícios, suplementos na forma de comprimidos ou gotas, eram os principais responsáveis pelo grande número de intoxicações. Numa revisão da

literatura, o autor encontrou uma larga variação de estimativa para a dose aguda letal em humanos. Elas variavam de 6-9 mg F/Kg (DREISBACH¹⁶ 1980 *apud* WHITFORD⁷⁵ 1990) para acima de 100 mg F/Kg (LIDBECK et al⁴⁵ 1943 *apud* WHITFORD⁷⁵ 1990). Vários fatores ocasionaram estas divergências, incluindo o conhecimento impreciso das quantidades de flúor ingeridas, se ocorreram ou não vômitos e variações nas quantidades e composição do trato gastro-intestinal. Baseados em vários casos relatados, de mortes de crianças induzidas pelo flúor foi estabelecido que a Dose Provavelmente Tóxica (DPT) é aproximadamente 5 mg F/Kg. Isto não implica que esta dose deve resultar em morte, nem que uma dose menor seria inócua. Significa que sempre que houver suspeita que esta quantidade foi ingerida, deveria se constituir um caso de emergência e se dispensar cuidados imediatos, inclusive com internação hospitalar. O autor ainda chama a atenção para as quantidades de flúor contidas em alguns produtos dentais, que excedem a D.P.T. Por exemplo, para uma criança de dois anos pesando 11,3 kg a D.P.T é 57 mg. Esta quantidade está contida em 57g de um dentifício a 1000 ppm de flúor ou em 38g de um a 1500 ppm. Em 248 ml de uma solução para bochecho a 0,05% de fluoreto de sódio e em 57 comprimidos de 1,0 mg de flúor ou em apenas 4,6 ml de um gel de flúorfosfato acidulado a 1,23%.

D'ANGELO¹⁴ (1991) avaliou as condições de segurança da aplicação tópica de flúor em gel feita rotineiramente em consultório em crianças e concluiu que quanto a letalidade, há segurança quando os procedimentos clínicos de rotina na aplicação tópica de flúor em gel são seguidos, porém precauções devem ser tomadas em relação a conduta clínica, considerando as alterações na mucosa gástrica produzidas quando quantidades de flúor são ingeridas.

AUGENSTEIN et al², em 1991 fizeram um estudo de revisão de todos os casos de ingestão de flúor em crianças menores de 12 anos relatados ao Rocky Mountain Poison Center, entre janeiro e dezembro de 1986. Foram identificados 87 casos, dos quais 84 envolveram ingestão acidental de produtos dentais fluoretados para uso caseiro (comprimidos, gotas, soluções para bochechos) em crianças de 8 meses a 6 anos de idade. Outras duas crianças mais velhas(8 e 9 anos) tornaram-se sintomáticas após receber tratamento de flúor pelo dentista. Uma criança de 13 meses morreu após ingerir uma quantidade desconhecida de fluoreto de sódio inseticida. O nível de cálcio no soro após a morte foi 4,8mg/dL quando o normal é 8,8 a 10,3 mg/dL. Os sintomas se desenvolveram em 26 (30%) dos 87 casos, iniciando-se nas primeiras 6 horas de ingestão, apresentando os pacientes, dores abdominais, náuseas, vômitos e diarreia. Os autores fazem uma advertência que apesar do flúor em quantidades recomendadas ser benéfico, o excesso pode produzir significativa toxicidade em humanos e até a morte. O mecanismo tóxico do flúor pode acontecer por três diferentes modos de ação:

1- Ação corrosiva - Fluoreto de Sódio reage com ácido hidrocloreídrico no estômago para formar ácido hidrofluorídrico, altamente corrosivo, resultando em sintomas gastro-intestinais.

2- Afinidade dos íons flúor por cálcio - produzindo hipocalcemia que conduz a depressão do sistema cardíaco-vascular, fraquezas, parestesias, espasmos, ataques e um estado de hipocoagulação. Os níveis de cálcio sérico chegam a ficar tão baixos como 2,2 e 2,6 mg/dL.

3- Ação do flúor sobre enzimas - flúor interfere com vários sistemas de enzimas, incluindo colinesterase e enzimas envolvidas na glicólise. Isto pode explicar a fraqueza neuromuscular, a depressão do

sistema nervoso central e depressão cardíaca que acontece em vários casos de toxicidade por flúor. Outros efeitos do excesso do flúor no corpo como, hipercalcemia, tem sido associado com arritmias cardíacas que levam à fatalidade. O flúor diminui o cálcio extracelular, aumentando as reservas de cálcio intracelular, causando um efluxo de potássio cálcio-dependente nos eritrócitos.

ROSALEN & CURY⁵⁷ em 1992 verificaram a capacidade do antiácido em reduzir a absorção do fluoreto sem interferir na reatividade com o esmalte. Concluíram que o hidróxido de alumínio diminui a absorção do flúor quando da aplicação tópica de gel, sem interferir com sua reatividade com o esmalte dental, o que sugerem seu uso para maior segurança durante este procedimento clínico.

CURY¹², 1992 citou alguns problemas enfrentados quando da indicação de suplementos de flúor para crianças, entre eles estão os riscos em termos de saúde geral, devido a possibilidade de ingestão acidental dos produtos. Recomendou que não se prescreva vidros com mais de 50 comprimidos de 1,0 mg F, nem mais que 10,0 ml de NaF a 1% (flúor em gotas) aos pacientes. Ao serem usados dentifrícios fluoretados em crianças pequenas, a escovação deve ser supervisionada, para evitar que as crianças ingiram grandes quantidades de pasta e possam apresentar sintomas de intoxicação aguda e crônica. Bochechos não podem ser prescritos para crianças que ainda não desenvolveram a capacidade de cuspir, para evitar efeitos tóxicos. Quanto aos produtos utilizados para aplicações tópicas profissionais, a opção é pelos vernizes fluoretados, devido a facilidade de aplicação e maior segurança com relação a toxicidade aguda. Náuseas e vômitos tem sido comum ocorrerem após aplicação tópica de flúor. Do

ponto de vista de dose letal, tanto a quantidade aplicada quanto a ingerida normalmente durante a aplicação, podem ser consideradas seguras para o paciente quando do uso do flúor em gel. A medida clínica mais importante para reduzir a absorção é solicitar para o paciente cuspir após a aplicação e usar o sugador de saliva durante a aplicação. Ainda pode-se lançar mão dos comprimidos antiácidos a base de hidróxido de alumínio que reduzem a absorção do flúor em torno de 60%.

WHITFORD⁶⁹ (1992) fez um paralelo entre a última metade do século XIX e primeira metade do século XX, e constatou que a frequência de fatalidades originadas da ingestão de compostos fluoretados, declinou bastante. Desde 1978 houveram apenas 4 casos de fatalidades pela ingestão de flúor, todas com produtos dentais. Entretanto o número de exposições a doses de flúor que causam preocupação tem aumentado, como indica a American Association of Poison Control. O número de relatos aumentou de 7700 em 1984 para 10700 em 1989. Acima de 3700 pessoas foram tratadas por exposição ao flúor neste período. Diante disso o autor sugere aos fabricantes e aos profissionais de saúde que informem ao público sobre certas medidas prudentes como:

1- Supervisão dos pais no uso de produtos fluoretados usados pelas crianças em casa.

2- Orientação das crianças no sentido de expectorar os produtos.

3- Guarda dos produtos fora do alcance das crianças.

Os educadores dentais, as organizações profissionais e os fabricantes de produtos dentais deveriam intensificar seus programas educativos para que toda a comunidade fique atenta aos perigos associados ao uso caseiro e aplicações profissionais dos produtos fluoretados.

Em seus relatos sobre intoxicação aguda por flúor, LI⁴⁴ em 1993 cita que a fluoretação das águas também conduz ocasionalmente um risco de sobre exposição, causando intoxicação aguda de flúor. Menciona 16 incidentes de sobre exposição de flúor entre 1972 e 1992. Sendo o mais recente, o ocorrido em maio de 1992 em Alaska, onde uma falha no equipamento de fluoretação das águas resultou em uma morte e mais que 90 casos de pessoas doentes.

RANDAL & FRASER⁵⁴ em 1995 relataram um caso de um adulto que faleceu após ingerir um composto contendo flúor que ele confundiu com manteiga de amendoim de consistência e cor similar e acondicionado numa embalagem também semelhante. O paciente sobreviveu por 6 horas após a ingestão do flúor. Ele foi admitido na sala de emergência apresentando sérios sintomas gastro-intestinais. Suas condições orgânicas deterioraram-se rapidamente antes da morte, com parada cardíaca abrupta e profunda hipocalcemia (5,5 mg/dL). Autópsia mostrou somente hiperemia gástrica e descoloração com um nível plasmático de flúor *pós-mortem* de 19 mg/l.

2- FARMACOCINÉTICA DO FLÚOR

SANKARAM & GADEKAR⁵⁹ (1964) já mencionado no ítem anterior desta revisão afirmaram que o flúor é um halógeno que tem uma forte afinidade pelos metais alcalis, formando fluoretos com eles, sendo o esqueleto o local mais importante para a deposição do flúor, que ocorre principalmente por dois mecanismos: troca de íons e formação de osso novo. No primeiro, íons flúor fazem trocas com íons hidroxila na camada dos cristais. O segundo mecanismo é lento e envolve o remodelamento do osso pela atividade osteoblástica e osteoclástica, crescimento e recristalização.

SINGER & ARMSTRONG⁶⁰ em 1969 observaram que o conteúdo de flúor do esqueleto pode ser calculado a partir daquele encontrado no cimento. Os autores fizeram uma comparação do conteúdo de flúor do dente humano e tecidos esqueléticos e demonstraram que o conteúdo de flúor do cimento e do osso permite exatidão satisfatória dos cálculos do conteúdo de flúor do esqueleto através daquele do cimento. O conteúdo de flúor da dentina pode também ser usada para prognosticar dentro de 100% a média da quantidade de flúor dos ossos específicos.

ZIPKIN⁶⁷ (1972) estudou a mobilização do flúor de todos os ossos e dentes em ratos em crescimento e em ratos adultos. Verificou também a habilidade do osso incorporar flúor. Concluiu que os componentes do esqueleto variavam na taxa de mobilização do flúor devido ao tipo de osso, isto é, se longo ou chato (membranoso ou endocondral), taxa de mineralização e maturação e talvez mobilidade funcional. 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 as análises foram feitas. Após o período de administração do flúor, a concentração de fluoreto no fêmur, foi um pouco maior que o da mandíbula.

RESEMBURG⁵⁵ em 1979 estudando o metabolismo do flúor, relatou que após a ingestão, o flúor solúvel é prontamente absorvido no estômago e intestino delgado por difusão passiva e entra no plasma de onde é rapidamente e eficientemente liberado para que o nível de flúor plasmático seja mantido em baixo nível ($\pm 0,01$ ppm na forma iônica). Vários elementos inorgânicos interferem na absorção do flúor tais como: cálcio, magnésio, alumínio, molibdênio. Cálcio tende a retardar a taxa de absorção do flúor enquanto o molibdênio promove absorção e retenção esquelética do flúor sob condições experimentais especialmente em ratos mais velhos.

EKSTRAND & KOCH²⁵ (1980) relatam a absorção sistêmica do flúor após uma única aplicação tópica de 5 ml de gel a 1,23%. Eles submeteram os pacientes a 61,5 mg de flúor e trinta minutos após observaram uma concentração plasmática de fluoreto atingindo o pico máximo 51,6 μ M, com um leve declínio duas horas após.

LE COMPTE & WHITFORD⁴³ em 1982 determinaram os níveis de flúor plasmático e urinário antes e após a aplicação de APF gel de rotina. Verificaram as quantidades de flúor recuperadas e retidas na boca durante a aplicação. Concluíram que após a aplicação de APF gel a 1,23% ocorrem quantidades substanciais de flúor absorvido sistemicamente. A quantidade e a concentração do flúor ingerido pode ajudar a explicar porque crianças sempre reclamam de náuseas e às vezes exibem vômitos, após aplicação tópica de flúor. Os autores recomendam principalmente em

crianças com esmalte em desenvolvimento, que o sugador seja aplicado durante e depois do tratamento e que o paciente expectore bastante após a aplicação do gel.

BAYLINK et al³ (1983) verificaram que o flúor é um efetivo agente no tratamento da osteoporose e é o único agente disponível que é capaz de produzir um grande aumento na massa óssea. Ele estimula a formação óssea, através do aumento do número de osteoblastos e da atividade destes osteoblastos.

WHITFORD⁷² em 1983 definiu fluoreto como a forma iônica do flúor, um halógeno que se combina reversivelmente com íons hidrogênio para formar um ácido fraco, ácido hidrofúorídrico ($F^- + H \rightleftharpoons HF$, $pK_a = 3,4$). Verificou que na maioria das condições, absorção do flúor se dá muito rapidamente através da mucosa gastro-intestinal, por difusão passiva do ácido hidrofúorídrico (HF) formado e é dependente do pH do estômago e do pH da solução. Quando o conteúdo ácido do estômago está alto, a taxa de absorção do flúor é maior. Após a absorção, o flúor passa para o sangue para se distribuir através do corpo e ser parcialmente excretado. A porcentagem do flúor ingerido que é excretado por dia tem uma relação direta com a idade. Isto se dá pela maior captação do flúor pelo osso nos indivíduos mais jovens e conseqüentemente a excreção pela urina será menor.

Em 1984, a ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE⁷⁹ (WHO) descreveu uma abrangente revisão, considerando vários aspectos da captação e da liberação do flúor pelo osso, conforme exposição a seguir: O flúor absorvido pelo corpo humano circulará no sangue e então será retido

nos tecidos, predominantemente no esqueleto ou será excretado principalmente na urina. O flúor retido previamente pode ser lentamente liberado do esqueleto e este flúor pode aumentar os níveis sanguíneos e urinários. Estudos conduzindo flúor radioativo sugeriram que o osso retém cerca de 60% do flúor injetado intravenosamente e que a meia vida para esta captação é somente 13 minutos (CHARKES et al⁹. 1978 *apud* WHO⁷⁹1984). Após a ingestão de fluoreto de sódio, os níveis de flúor no plasma apresentam uma mudança muito mais lenta com uma meia vida de aproximadamente 3 horas (EKSTRAND et al²⁴., 1977a). Íons flúor são captados rapidamente pelo osso pela substituição dos íons hidroxila na apatita óssea. Os íons flúor entram nos fluidos extracelulares do cristal de apatita pelo processo de troca de íons em tres estágios: a hidroxila do osso mineral existe como cristais extremamente pequenos cercados por uma capa de hidratação. Primeiro o flúor entra na capa de hidratação na qual os íons estão em equilíbrio com aqueles dos flúidos teciduais e os da camada dos cristais de apatita. O segundo estágio constitui uma mudança entre o flúor da capa de hidratação e o grupo hidroxila na camada do cristal onde ele é mais firmemente ligado. No terceiro estágio, algum flúor pode migrar mais profundo para o cristal, como um resultado da recristalização. O flúor é então incorporado para os tecidos duros pelo processo de troca e incorporação na matriz apatita durante a mineralização(NEWMAN & NEWMAN⁴⁹ 1958 *apud* W.H.O⁷⁹). A quantidade de flúor presente no osso, depende de uma série de fatores, incluindo a ingestão de flúor, idade, sexo, tipo de osso e parte específica do osso. Cerca da metade do flúor absorvido é depositado no esqueleto onde ele se acumula. Animais jovens estocam mais da ingestão diária de flúor que os mais velhos. Isto é talvez relacionado ao crescimento esquelético. Esta observação pode explicar a mais rápida remoção do íon flúor do plasma de indivíduos mais jovens e portanto suas

concentrações mais baixas no plasma. A concentração de flúor no osso aumenta com a idade (SMITH et al⁶² 1953; JACKSON & WEIDMANN³⁹ 1958 *apud* W.H.O⁷⁹). Osso trabecular contém mais flúor que osso compacto, e a camada biologicamente ativa do osso capta flúor mais prontamente que o interior (ARMSTRONG et al¹ 1970 *apud* W.H.O⁷⁹). A liberação do flúor no osso, segundo HODGE & SMITH³⁷ 1970 citados nesta revisão⁷⁹, acontece em duas fases: um processo rápido, levando semanas e provavelmente envolvendo uma troca iônica na capa de hidratação e uma fase mais lenta, com uma média de meia vida de oito anos devido a reabsorção osteoclástica do osso. Com base em dados humanos, SPENCER et al⁶⁵ 1975 *apud* W.H.O.⁷⁹ sugeriram que 2 a 8 % do flúor retido no osso é excretado durante 18 dias após o início da retenção. A meia vida do flúor no plasma aumenta com a dose, variando de 2 a 9 horas EKSTRAND²² 1977; EKSTRAND et al²⁷ 1977b *apud* W.H.O⁷⁹. Para a mesma ingestão, a concentração de íon flúor no plasma aumenta significativamente com a idade CARLSON et al⁸ 1960; EKSTRAND²² 1977; SINGER & OPHAUG⁶¹ 1979 *apud* W.H.O⁷⁹. Isto porque a captação é mais rápida no osso jovem, o qual é menos saturado com flúor WEATHERELL⁶⁸ 1966 *apud* W.H.O⁷⁹ e também porque quantidades maiores podem ser liberadas do processo de remodelamento ósseo para o plasma, em indivíduos mais velhos.

Em 1984, CURY¹¹ estudou a relação entre a concentração de fluoreto ingerida e a encontrada nos vários compartimentos do organismo de ratas prenhes, verificando a interrelação dos mesmos. Concluiu que não há uma homeostasia do flúor, pois ao suspender o fornecimento de flúor aos animais, não houve uma manutenção do seu nível plasmático. A relação

entre a concentração de flúor nos ossos de ratas prenhes e a da água administrada foi linear até o valor de 50 ppm de flúor.

NIKIFORUK⁵¹ em 1985 apontou os principais fatores que influenciam a absorção do flúor: a espécie, a concentração de flúor ingerido, a solubilidade e o grau de ionização dos compostos e outros constituintes dietéticos, tais como, cálcio, que pode formar sais insolúveis com o flúor. Quando um programa de fluoretação é iniciado, indivíduos recebendo flúor diariamente, primeiro excretarão cerca da metade do flúor na urina e a outra metade será incorporada no esqueleto. Depois de anos de exposição, o esqueleto perde a sua avidéz por flúor e porcentagens maiores de flúor ingerido aparecem na urina e menores são retidas no esqueleto.

De acordo com WHITFORD⁷¹ em 1986 a concentração de flúor iônico no plasma sanguíneo é diretamente proporcional ao flúor ingerido. O pico de nível plasmático de flúor ocorre entre 20 e 60 minutos e é seguido de um rápido declínio, devido ao fato da rápida taxa de clearance do plasma pelos rins e tecidos calcificados, voltando aos níveis de pré-ingestão dentro de 3 a 6 horas, quando doses pequenas são envolvidas.

A meia vida para absorção do flúor é aproximadamente 30 minutos. Isto significa que neste intervalo de tempo 50% da quantidade ingerida já foi absorvida. A administração de soluções alcalinas como bicarbonato de sódio nos fluidos extracelulares, faz com que o flúor das células se difunda para o fluido extracelular, reduzindo portanto os níveis celulares, produzindo aumento da resistência aos efeitos tóxicos, tais como a inibição enzimática.

SAKATA & CURY⁵⁸ em 1987 fizeram um estudo da absorção do flúor e nefrotoxicidade após aplicação tópica de flúor gel em adultos.

Observaram que o pico do íon flúor no plasma ocorreu 30-60 minutos após a aplicação nos voluntários que não ingeriram o excesso de gel. O valor médio atingido foi 330,0 ng F/ml que é considerado não nefrotóxico. Para o voluntário que ingeriu todo o gel retido, o nível de flúor no plasma alcançou o pico máximo dentro de 2 horas sendo 2180,0 ng F/ml, caracterizando-se uma nefrotoxicidade evidenciada por alterações de sódio, uréia e creatinina no sangue e na urina. O paciente que não cuspiu o gel retido na boca após a aplicação tópica sentiu náuseas e mal estar. As náuseas não são devidos ao gel, mas ao flúor que ao atingir o estômago se transforma em ácido hidrófluorídrico (HF) que irrita a mucosa gástrica. Os resultados do trabalho mostram a importância dos cuidados a serem seguidos na aplicação tópica de flúor em gel, principalmente a solicitação para o paciente expectorar completamente após a aplicação tópica de flúor em gel.

WHITFORD et al⁷⁶ (1987) concluíram que os resultados do aumento dos níveis de íon flúor no plasma podem ser suficientes para causar uma redução na capacidade do rim concentrar a urina. O rim é considerado o órgão alvo na intoxicação aguda por flúor.

EKSTRAND²¹ em 1987 estudando a farmacocinética do flúor, verificou a sua biodisponibilidade, ou seja a porcentagem da dose administrada que é finalmente absorvida. As concentrações de flúor dos produtos planejados para uso tópico, geralmente variam de 250 ppm a 23000 ppm (0,025% a 2,3%). Verificou que as propriedades físico-químicas do material ingerido pode influenciar tanto a taxa como o grau de absorção e que entre as variáveis fisiológicas, o modelo de absorção é influenciado pela presença ou não de alimentos no estômago do paciente quando o flúor é ingerido. Tanto a taxa como o grau de absorção pode ser reduzido pela

presença de alimento no trato gastro-intestinal. A prevenção da deglutição inadvertida de algum gel aplicado é difícil, principalmente em crianças pequenas que chegam a deglutir uma quantidade de flúor que pode ser suficiente para provocar efeitos colaterais agudos ou crônicos.

TRAUTNER & EINWAG⁶⁶ (1989) estudaram a influência do leite e certos alimentos na biodisponibilidade do flúor e concluíram que a diminuição na absorção foi provavelmente causada pela ligação do flúor com certos componentes do alimento, incluindo cálcio, outros cátions di ou trivalentes e o produto de coagulação do leite.

Em 1989 WHITFORD⁷⁴ fez uma abrangente descrição sobre a captação do flúor pelo osso afirmando que o flúor é ávido por tecidos calcificados e que aproximadamente 99% do flúor do corpo está associado com tecidos calcificados, onde existe principalmente na forma de fluorapatita. Todavia, o flúor dos tecidos calcificados especialmente os que foram recentemente adquirido, segundo o autor, não é irreversivelmente ligado. Ele pode fazer trocas isoiônica com íons flúor ou heteroiônica com outros ânions disponíveis do líquido extracelular. A longo prazo, o flúor no esqueleto é também liberado durante o curso do processo normal ou remodelamento do osso. O principal fator que determina a taxa de flúor captada pelo osso é a idade ou o grau de calcificação óssea, modificando assim o metabolismo do flúor. Análises do conteúdo de flúor no fêmur, mostraram que o grau de retenção do flúor é inversamente proporcional a idade. Este fato explica porque os animais mais jovens são mais resistentes aos efeitos tóxicos agudos de grandes doses de flúor. A captação de flúor pelo osso e outros tecidos calcificados está diretamente ligado a vascularidade e a taxa de mudança no tecido. Onde o osso está se

formando e existe um rico suprimento sanguíneo, como nas epífises, a concentração de flúor na fase mineral é aumentada. O nível de flúor ingerido e a composição da dieta, também são importantes fatores que influenciam a concentração de flúor no osso. Dietas com baixo teor de cálcio, aumentam a deposição, enquanto ingestão de cálcio ou alumínio, reduz a absorção do íon, promovendo sua excreção nas fezes.

Em 1990, WHITFORD⁷⁵ relata que os níveis de flúor nos fluidos corporais não são homeostaticamente controlados e portanto os níveis de flúor plasmático podem ser usados como um indicador de uma exposição prévia ao íon. A eficiente remoção do flúor do plasma é devido a excreção renal e captação pelo osso.

Em seguida, no ano de 1992 WHITFORD⁶⁹ descreve os danos provocados nos tecidos quando quantidades maiores que as recomendadas são tomadas. Segundo o autor, entre os tecidos moles do corpo, a mucosa gástrica é exposta frequentemente as mais altas concentrações do íon flúor. No ambiente ácido do estômago, íons flúor se combinam com prótons para formar o HF (ácido hidrofluorídrico), um ácido fraco $pK_a = 3,4$. Alguns produtos, tais como os géis acidificados com ácido fosfórico, são formulados para terem um pH de 3,4, assim cerca de 50% do flúor na embalagem já está na forma de HF, que atravessa as membranas das células e do epitélio rapidamente quando comparadas ao íon flúor. Uma vez tendo entrado na mucosa onde o pH está próximo do neutro, a molécula se dissocia para liberar flúor iônico e prótons. Associados com este fenômeno, estão várias mudanças estruturais e funcionais relacionadas com dose e tempo. Os fluxos de água, sódio, potássio, prótons e outros íons aumentam agudamente. A secreção da mucosa aumenta e é seguida por danos

irregulares e difundidos na camada de muco. Hiperemia, edema e hemorragia podem ocorrer.

WHITFORD⁷³ em 1994 relatou que cerca de 99% do volume de flúor do corpo, está associado com tecidos calcificados e a maioria não é permutável. A concentração de flúor no osso não é uniforme. Nos ossos longos, as concentrações são mais altas, principalmente na região periosteal. Geralmente, o clearance do flúor do plasma pelo esqueleto é inversamente proporcional ao estágio de desenvolvimento esquelético. Aproximadamente 50% do flúor absorvido por dia por um jovem ou adulto de meia idade saudável, se torna associado com tecidos calcificados dentro de 24 horas, enquanto todo o remanescente é excretado na urina.

A ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (WHO)⁷⁸ em 1994 num informe menciona que as concentrações de flúor no osso são indicadores muito eficientes de exposição crônica e carga corporal ao flúor. Embora o flúor não seja uniformemente distribuído através do osso. O osso esponjoso tem concentrações de flúor mais altas que o osso cortical. Relata também que as concentrações de flúor da dentina são similares àquela do osso e como tal elas tendem a aumentar com os anos desde que a ingestão de flúor não decline.

BROGLIO⁷ (1994) administrou via intra-peritoneal uma dose única de 7 mg F/Kg de peso a ratas para avaliar a relação entre fluorose dental e a concentração de flúor no osso. Após a administração da dose sacrificou grupos de animais a cada período de tempo de 15 e 30 minutos, 1, 2, 4, 6, 12, 24, 48 e 96 horas e 8 e 16 dias. Observou uma correspondência cinética entre os aumentos da concentração de flúor no sangue e as concentrações no

esmalte e osso imediatamente após a administração da dose. Houve um aumento na concentração de flúor no fêmur, com um pico em torno de 24 horas, após o que houve um decréscimo de concentração. Concluiu que os níveis de flúor nos ossos em geral, contribuem para manter um nível de flúor circulante significativo, o qual em acréscimo ao flúor liberado do osso adjacente ao órgão do esmalte, seriam os responsáveis pelas alterações que podem ocorrer durante o desenvolvimento dental.

Assim, os dados da literatura a respeito dos indicadores biológicos para comprovar a intoxicação aguda letal por flúor não fazem menção ao flúor incorporado no esqueleto, o que foi o objetivo deste trabalho.

PROPOSIÇÃO

PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho foi verificar se existe correlação entre as concentrações de flúor no osso em função das doses administradas a animais e as mortes ocorridas, na possibilidade de se utilizar o esqueleto como prova pós-mortem de uma intoxicação aguda por flúor, contribuindo assim com a Justiça nos casos de julgamento de processos por crimes de responsabilidade profissional.

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL E MÉTODOS

1-ANIMAIS

Foram utilizados no experimento, 148 ratos da linhagem Wistar, adultos jovens com dois meses de idade pesando entre 180 a 220 gramas

Todos os animais foram submetidos a jejum de dezoito horas (Água “ad libitum”) após o que foram divididos em sete grupos experimentais com 20 animais cada, sendo 10 fêmeas e 10 machos e um grupo controle de 8 animais.

Após o jejum de 18 horas estes grupos de animais receberam doses de flúor diferenciadas, variando de 10 a 90 mg F/kg de peso corporal de solução de Fluoreto de Sódio, via oral, através de sonda estomacal.

Grupo C = 0 mg F/Kg

Grupo I = 10 mg F/Kg

Grupo II = 25 mg F/Kg

Grupo III = 35 mg F/Kg

Grupo IV = 45 mg F/Kg

Grupo V = 60 mg F/Kg

Grupo VI = 75 mg F/Kg

Grupo VII = 90 mg F/Kg

Três horas após a administração do fluoreto foi fornecido água e ração aos animais e estes foram então observados por 76 horas com intervalos de 3, 6, 12, 24, 48 e 76 horas.

Os animais que sobreviveram à dosagem e os do grupo controle foram sacrificados por deslocamento cervical.

A ração e a água fornecida aos animais estava livre de flúor.

2- DETERMINAÇÃO DO FLÚOR TOTAL NO OSSO.

Após a morte dos animais e o sacrifício dos que sobreviveram, foram retirados de todos eles os fêmures (Fig. 1), removida toda musculatura e colocadas as peças em estufa a 90 °C por 24 horas.

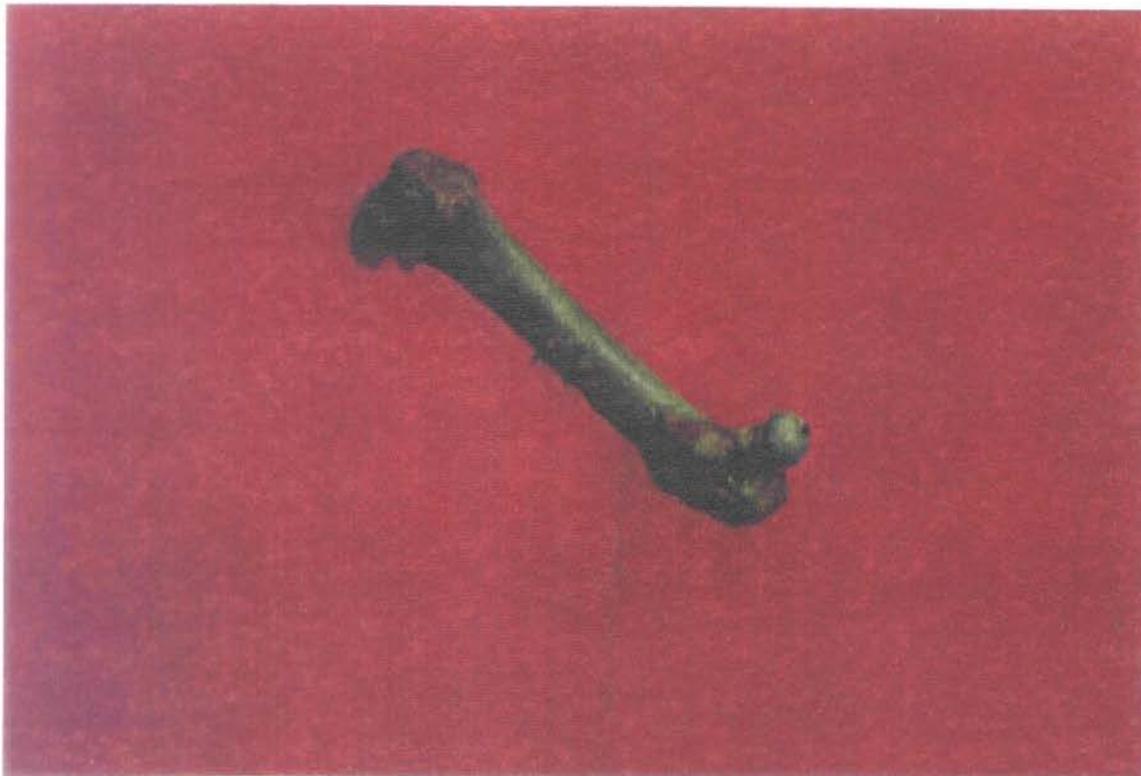


Fig 1. Fêmur removido de um dos animais.

Do fêmur direito de cada animal foi retirado um fragmento de 5 mm. da região diafisária, utilizando para isso um disco de Carborundum adaptado em motor Betil (Fig 2).



Fig 2. Remoção de um fragmento da região diafisária de um fêmur.

Cada fragmento foi pulverizado separadamente em almofariz de porcelana (Fig 3), levado novamente à estufa a 90⁰C por mais 24 horas.

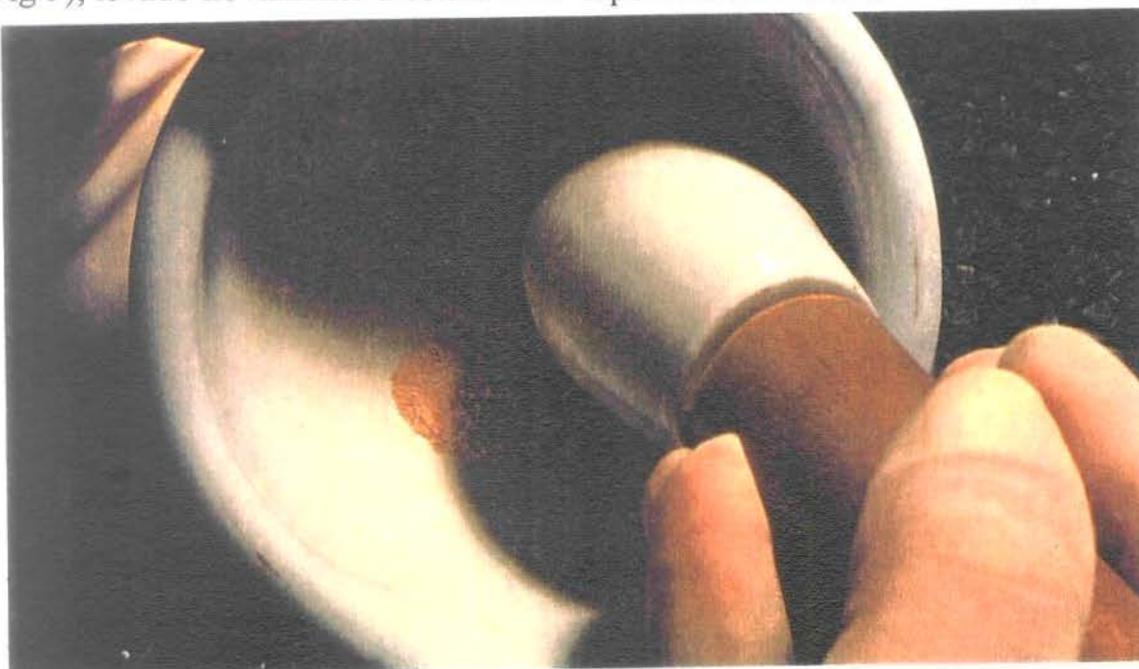


Fig 3. Pulverização do fragmento ósseo em almofariz de porcelana

Feito isso utilizou-se uma balança analítica OHAUS de precisão $\pm 0,01$ mg para pesar 5.0 mg do pó de fêmur (Fig 4) que foi desmineralizado por uma hora em 0,5ml de HCl 0,5M, após o que 0,5ml de TISAB² * contendo 20 g NaOH/l foi acrescentado para fazer o tamponamento da amostra.

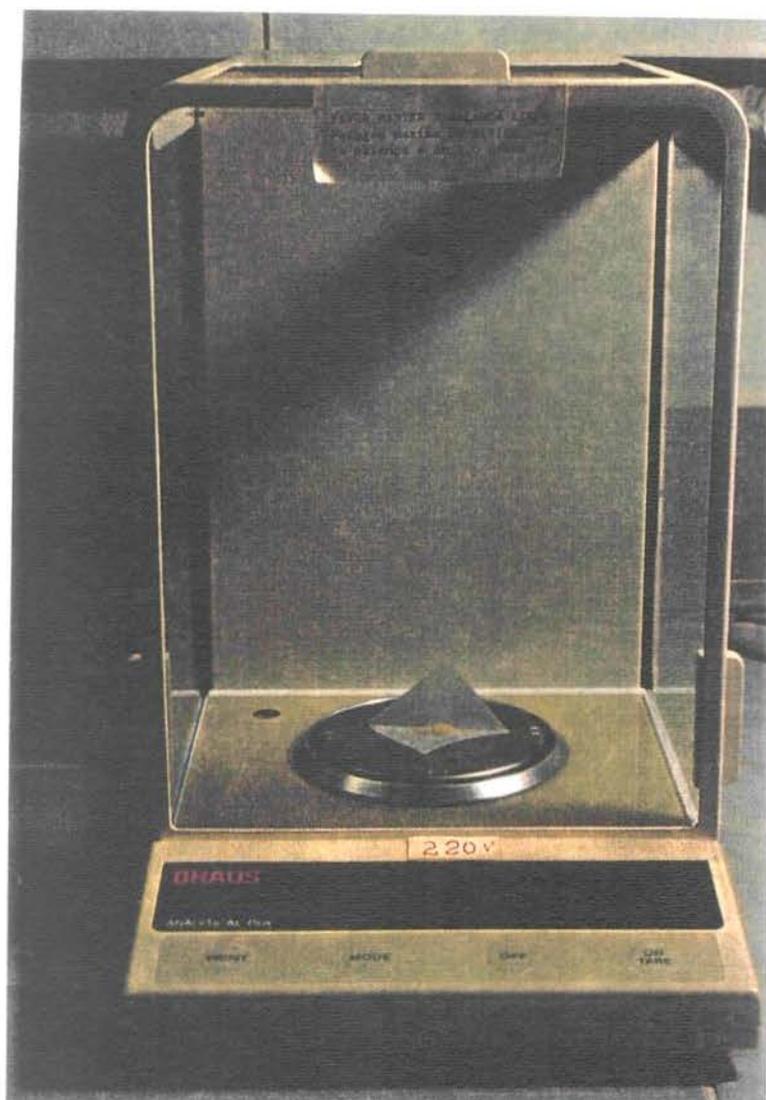


Fig 4. Balança analítica OHAUS, pesando 0,05 g de osso

Os teores de flúor na solução foram determinados através de método potenciométrico introduzido por FRANT & ROSS²⁹ (1966) *apud* CURY¹¹ (1984). As concentrações de flúor foram determinadas em potenciômetro

² * TISAB - Acetato 1.0 M pH 5.0, contendo NaCl 1.0 M e ciclohexilenodiaminotetraacético a 0.4%.

digital modelo ORION RESEARCH EA-940, utilizando-se eletrodo específico para flúor ORION 96-09 (Fig 5).

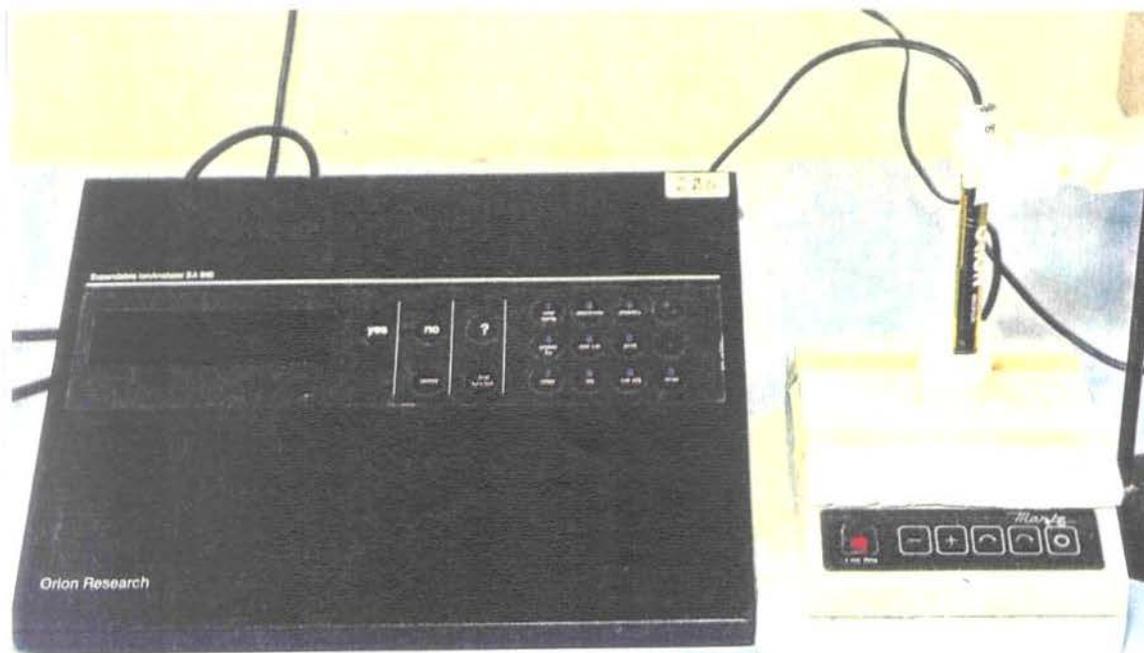


Fig 5. Analisador de íons acoplado a eletrodo específico para flúor

Previamente às leituras, uma curva de calibração foi elaborada a partir de soluções padrões de íon flúor preparadas em HCl 0,5 M e TISAB (20g NaOH /l) contendo de 0,5 a 5,0 $\mu\text{g F/ml}$.

Obtida a concentração de íon flúor na solução ($\mu\text{g/ml}$), a concentração de flúor no osso em função do peso da amostra foi calculada através de uma regra de três simples e expressa em $\mu\text{g F/g}$.

$$\mu\text{g F/ml} \rightarrow 0,005\text{g osso}$$

$$x \rightarrow 1,0\text{g osso}$$

\therefore

$$\mu\text{g F/g} = 200 \times \mu\text{g F/ml}$$

Obs: As leituras de todas as amostras e padrões foram feitas sob agitação magnética constante, utilizando-se um agitador magnético FANEM e barras magnéticas.

3- DETERMINAÇÃO DO FLÚOR NA CAMADA SUPERFICIAL DO OSSO

Do outro fêmur foi seccionado outra porção de aproximadamente 5mm da mesma região (diafisária) utilizando disco de carborundum adaptado a um motor Betil como mencionado no item anterior. Os fragmentos foram colocados em acetona por um minuto e secados ao ar. Com um vazador de 2 mm e fita adesiva branca (Scotch 3M) aderiu-se um círculo numa face do fragmento para isolar a porção que ia ser desmineralizada. As extremidades dos fragmentos foram fechados com cera utilidade e todo o fragmento foi pincelado com esmalte de unhas de cor vermelha. Após secar o esmalte, a fita adesiva foi removida para expor a área onde foi feita a análise (Fig 6).



Fig 6. Fragmento ósseo com área circular de 2mm exposta para análise

Os fragmentos foram colocados em tubos plásticos, aos quais adicionou-se 0,50 ml de HCl 0,5 M e agitou-se por 1 minuto em agitador KLINE (Fig 7), sendo neutralizado imediatamente com TISAB contendo 20,0 g de NaOH/l de acordo com o descrito por MELLBERG⁴⁶ (1980) *apud* CURY¹¹ (1984) para esmalte dental.

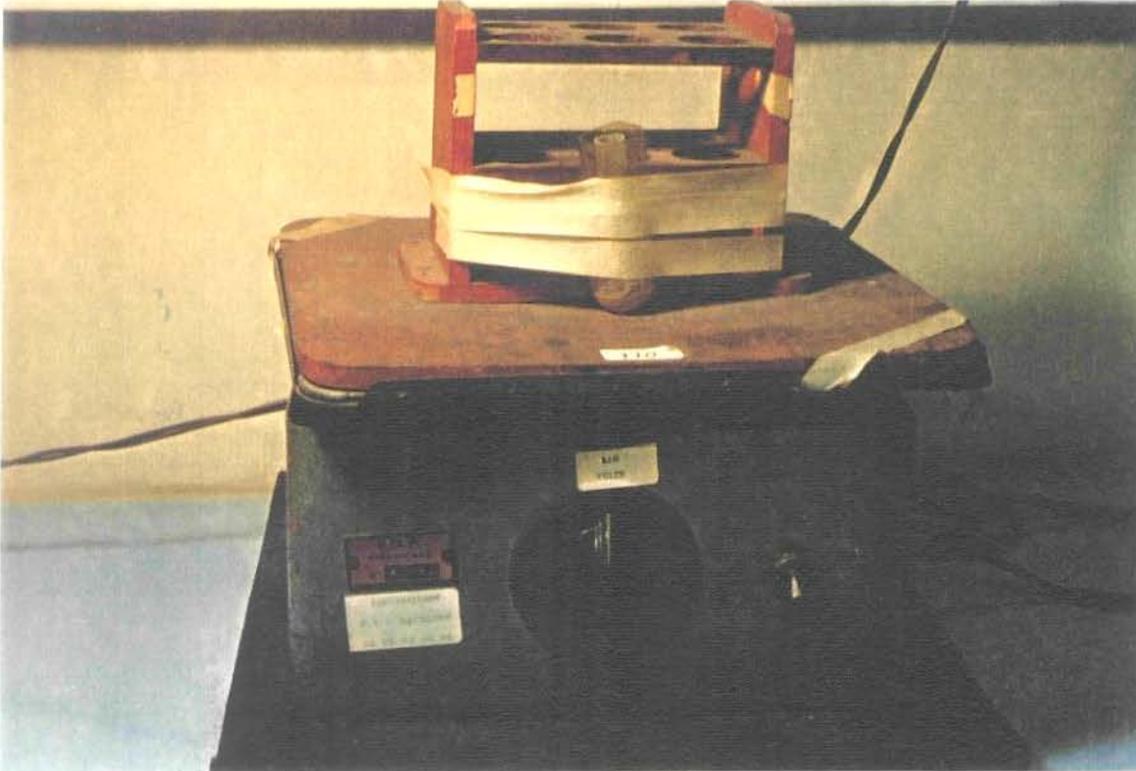


Fig 7. Agitador KLINE, contendo tubo plástico com fragmento ósseo.

Feito isto procedemos as leituras nas soluções, da quantidade de flúor removida do osso utilizando método potenciométrico descrito no item anterior.

A seguir, as concentrações de fósforo foram determinadas em 0,25 ml da solução. O fósforo foi determinado pelo método de FISKE-SUBBAROW²⁸ (1955) *apud* CURY¹¹ (1984) sendo as absorvâncias lidas em um espectrofotômetro BECKMAN DU-65.

Obtida a concentração de íon flúor na solução, a concentração de íon flúor na 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, JENKINS⁴⁰ (1978) *apud* CURY¹¹ (1984). Deste modo as concentrações de fósforo devem ser praticamente iguais (13,5%) e ainda supondo-se ser constante pelo fêmur.

4- ANÁLISE ESTATÍSTICA

As concentrações de flúor total nas amostras foram analisadas pela análise de variância e pelo ajuste de regressão polinomial de acordo com MONTGOMERY⁴⁷ 1991.

As concentrações de íon flúor na camada superficial do fêmur dos animais foram analisadas através da análise de um critério de classificação, onde o fator a ser estudado foi a dosagem e os níveis deste fator, eram as dosagens crescentes de flúor, seguindo as recomendações de BHATTACHARYYA & JOHNSON⁶ (1977).

Como os níveis eram quantitativos, o procedimento inicial foi ajustar uma curva de regressão polinomial, mas fez-se também a comparação das médias através do teste de Tukey.

As respostas de morte dos animais pela dosagem de íon flúor administrada, foi analisada através da técnica de dados categorizados, onde se contou para cada dosagem de flúor aplicada, o número de ratos vivos e o número de ratos mortos. O teste utilizado foi a análise de variância de máxima verossimilhança feito pelo X^2 (lê-se quiquadrado) que identifica se houve alguma associação entre morte de animais versus aumento da dosagem de flúor.

RESULTADOS

RESULTADOS

1. CONCENTRAÇÃO DE ÍON FLÚOR NO OSSO TOTAL

A Tabela I expressa as médias da variação da concentração de íon flúor no osso total pulverizado encontradas no grupo controle e nos demais grupos experimentais nos quais foram administradas doses diferenciadas e progressivamente altas de íon flúor variando de 10 mg F a 90 mg F de peso corporal.

Tabela I - Médias e erro padrão da concentração de íon flúor no osso total pulverizado, encontradas no grupo controle e nos demais grupos experimentais em função dos tratamentos.

TRATAMENTOS (mg F/Kg)	MÉDIAS \pm ERRO PADRÃO OBSERVADAS (μ g F/g)
0	208,50 \pm 7,3751 c
10	252,90 \pm 5,4007 bc
25	335,20 \pm 10,3001 ab
35	405,90 \pm 16,1952 a
45	386,80 \pm 19,4695 a
60	364,50 \pm 25,0851 a
75	363,80 \pm 34,8144 a
90	269,10 \pm 10,9520 bc

médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância de 5%(Tukey).

A Figura 8 representa a ilustração dos dados da Tabela I.

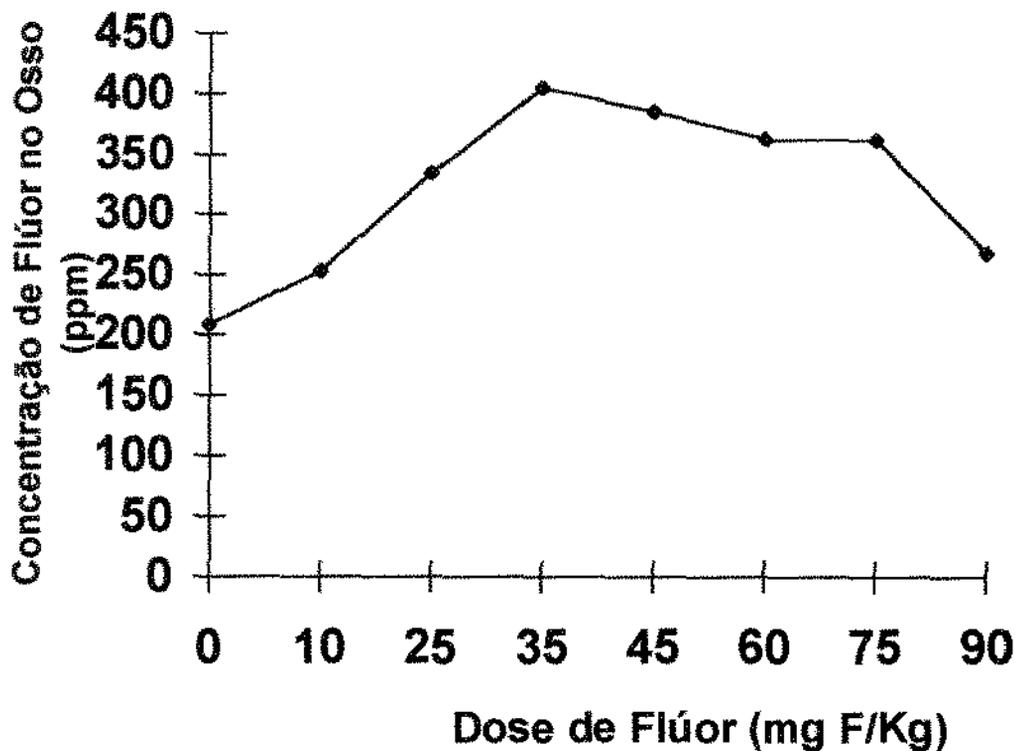


Fig. 8: Gráfico representativo da concentração de flúor no osso em função das doses de flúor

A média da concentração de flúor no osso encontrada no grupo controle foi de 208,50 ppm. A medida que se vai aumentando a dosagem, observa-se que as médias das concentrações também vão aumentando. Até a dosagem de 35 mg F/Kg, que é quando ela atinge a maior média de concentração de flúor: 405,90 ppm. A partir dessa dosagem, as concentrações tendem a declinar, e a se estabilizar, até a dosagem de 75 mg F/Kg. Com a dosagem máxima administrada, 90 mg F/Kg houve um declínio brusco e a média da concentração de flúor quase que se iguala àquela do grupo controle - 269,10 ppm.

Pelos resultados obtidos no teste de TUKEY, vemos que as médias obtidas com as doses de 35, 45, 60, 75 e 25 mg F/Kg não diferiram estatisticamente entre si e que a média da dose 25, não diferiu da de 90 mg nem da de 10 mg

e estas duas não diferiram do controle. É possível observar que a menor média de concentração é obtida com o grupo controle e que do ponto de vista de estatística, não diferiu como já foi dito da dosagem máxima nem da dosagem mínima administrada.

Embora a concentração máxima de flúor tenha sido obtida com a dose de 35 mg F/Kg, esta também não diferiu estatisticamente das doses de 45, 60, 75 e 25 mg F/Kg.

Através de uma equação de regressão polinomial fez-se um ajuste das doses, desdobrando-se os graus de liberdade de doses em até uma equação de terceiro grau, observando-se que a significância estatística foi encontrada com um ajuste de uma equação de regressão de segundo grau, com o desvio de regressão não apresentando significância estatística, sendo esta portanto, a equação de regressão polinomial mais indicada para o ajuste das doses.

A equação de regressão ajustada para os dados foi:

$$Y_{est} = 193,2352 + 7,9727X - 0,0788X^2$$

com $R^2 = 0,9233$

A Tabela II expressa as médias ajustadas pela equação de regressão e as médias observadas de concentração de flúor no osso total pulverizado.

Tabela II - Médias ajustadas pela equação de regressão polinomial e médias observadas da concentração de flúor total no osso em função do tratamento com doses variando de 0 a 90 mg F/Kg de peso corporal.

Tratamentos (mgF/Kg)	Média Ajustada($\mu\text{g F/g}$)	Média observada ($\mu\text{g F/g}$)
0	193,23	208,50
10	265,08	252,90
25	343,28	335,20
35	375,71	405,90
45	392,38	386,80
60	387,81	364,50
75	347,77	363,80
90	272,2	269,10

As médias ajustadas pela regressão indicam que a maior concentração de flúor foi observada com a dose de 45mgF/Kg.

A Figura 9 ilustra os dados da Tabela II, apresentando o ajuste dado pela regressão polinomial de segundo grau.

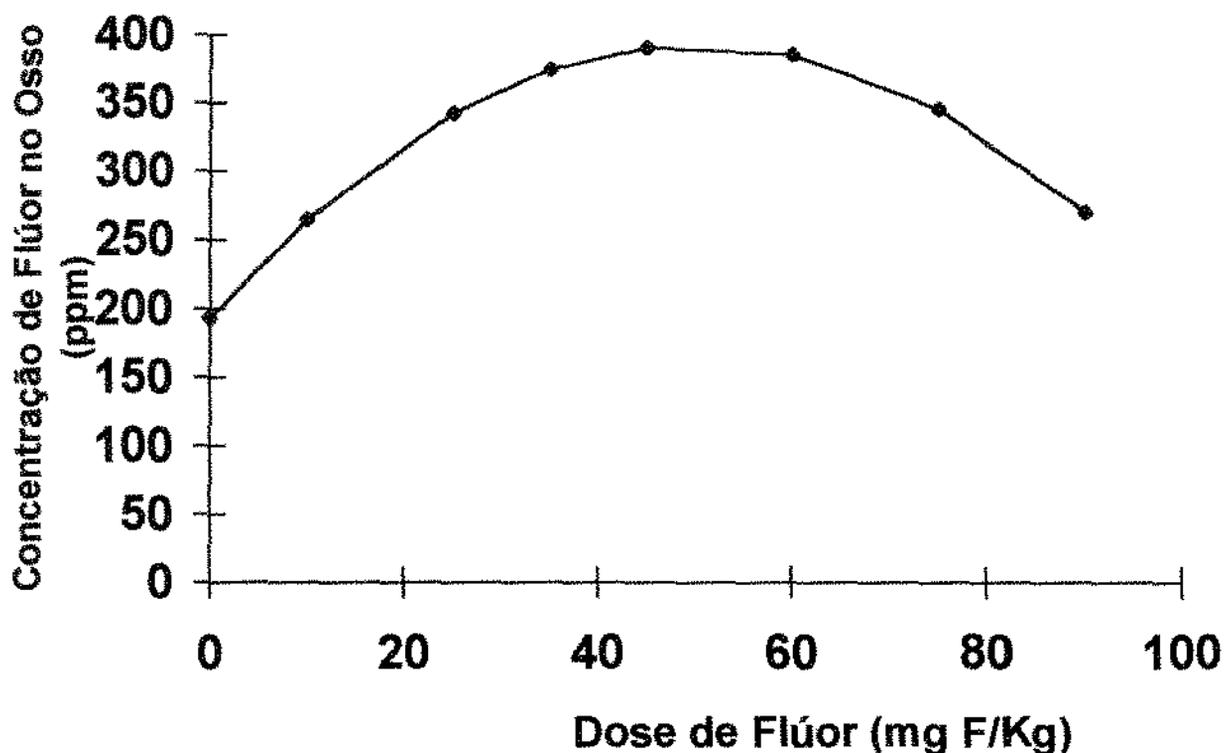


Fig.9: Gráfico representativo das concentrações de flúor no osso em função das doses de flúor após o ajuste dado pela regressão polinomial de segundo grau

2- CONCENTRAÇÃO DE ÍON FLÚOR NA CAMADA ÓSSEA SUPERFICIAL

A Tabela III expressa a média de variação da concentração de íon flúor em amostras obtidas da camada óssea superficial após desmineralização de 60 segundos, bem como a significância estatística entre os tratamentos (Teste de TUKEY).

Tabela III - Média e erro padrão para a concentração de flúor ($\mu\text{g/g}$) na camada superficial do osso, com aumento progressivo de dosagem de flúor.

TRATAMENTOS (mg F/Kg)	MÉDIAS \pm ERRO PADRÃO OBSERVADAS ($\mu\text{g F/g}$)
0	475,875 \pm 31,4684 d
10	926,610 \pm 45,7131 dc
25	1480,895 \pm 76,1847 b
35	1721,235 \pm 121,2720 ab
45	2033,770 \pm 106,7208 a
60	1859,235 \pm 150,0914 ab
75	1802,645 \pm 164,4327 ab
90	1413,825 \pm 116,8403 bc

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% de significância (Tukey).

A análise de variância com os dados de concentração de flúor na camada superficial do osso ($\mu\text{g/g}$), apresentou significância estatística para os efeitos de dosagens da flúor ($p < 0,0001$).

Foi feito o ajuste de regressão polinomial para as doses de flúor e os resultados destes ajustes, indicaram que o polinômio de segundo grau foi o significativo ($p = 0,0001$), com o teste de desvio da regressão sendo não significativo ($p > 0,50$). Estes resultados portanto, indicam que a equação polinomial representativa para esse conjunto de dados é a seguinte:

$$Y = 448,5346 + 54,1228X - 0,4832X^2$$

$$R^2 = 0,9785$$

A partir desta equação polinomial, podemos determinar o ponto de máximo e o ponto de mínimo da função, que representa a dosagem máxima de flúor que apresentou a maior concentração de flúor no osso, e a dosagem mínima

de flúor, que apresentou a menor concentração de flúor no osso. Os dois pontos obtidos são os seguintes:

ponto de mínimo - dosagem de flúor (X) = 0,97 mg

concentração de flúor no osso (Y) = 500,6 ($\mu\text{g/g}$)

ponto de máximo - dosagem de flúor (X) = 56 mg

concentração de flúor no osso (Y) = 1964,1 ($\mu\text{g/g}$)

A dosagem de flúor que dá uma concentração máxima de flúor no osso, é a obtida com a administração de 56 mg de flúor. A partir daí, aumentando-se a dosagem de flúor, a sua concentração no osso decresce.

Os resultados do teste de TUKEY indicam que as médias das dosagens 0 e 10 não diferiram significativamente entre si, e a média de 10 não diferiu significativamente da dosagem de 90 mg F/Kg. Também as médias de 35 e 75 mg F/Kg não diferiram entre si e as médias de 25, 35, 60, 75 e 90 também não apresentaram significância estatística entre si.

O teste de associação entre morte e aumento de dosagem apresentou significância estatística com o valor de qui-quadrado = 65,31 ($p < 0,00001$).

A tabela IV apresenta o número de animais vivos e o número de animais mortos pelas dosagens.

Tabela IV- Número de animais vivos e o número de animais mortos pela dosagem.

Dosagens de flúor (mg F/Kg)	Animais Vivos	Animais Mortos
10	20	0
25	19	01
35	18	02
45	09	11
60	01	19
75	03	17
90	00	20

A Figura 10 ilustra os resultados da Tabela IV em termos de % de morte em função dos tratamentos.

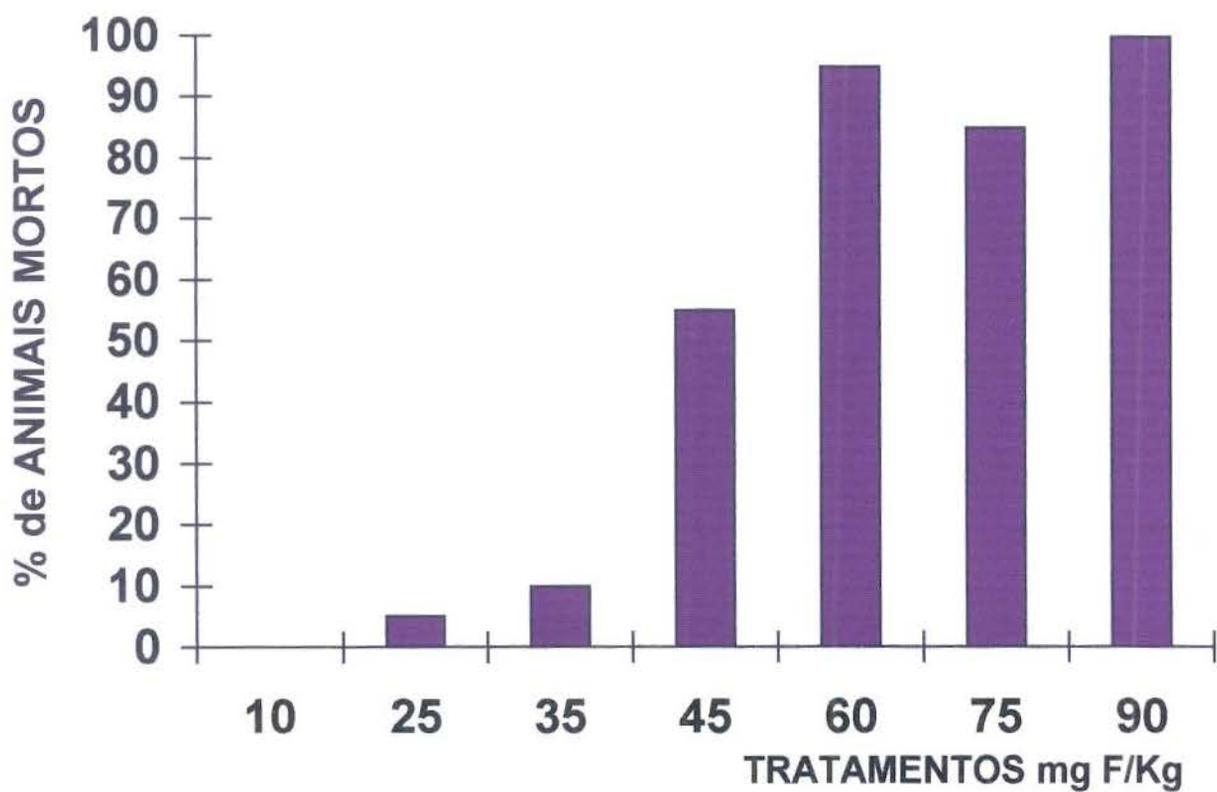


Fig. 10 - Porcentagem de animais mortos versus tratamentos.

O tempo de morte dos animais variou de 3 a 48 horas independente de uma maior ou menor dosagem administrada como pode ser visto na tabela V.

Tabela V - Período de tempo (h) em que ocorreram a morte dos animais em função dos tratamentos

Tratamentos mg F/Kg	Número de mortes ocorridas após				
	3 hs	6 hs	12 hs	24 hs	48 hs
10	-	-	-	-	-
25	1	-	-	-	-
35	1	-	1	-	-
45	3	1	6	1	-
60	6	4	4	4	1
75	8	7	-	1	1
90	16	1	2	1	-

A tabela VI relaciona as concentrações de flúor no osso total e na superfície em função dos tratamentos com a porcentagem de morte dos animais.

Tabela VI- Concentrações médias de flúor no osso ($\mu\text{g/g}$) versus porcentagem de morte dos animais em função dos tratamentos.

TRATAMENTOS (mg F/Kg)	FLÚOR no OSSO		% MORTES
	TOTAL	SUPERFICIAL	
0	208,5 c	475,9 d	0,0
10	252,9 bc	926,6 dc	0,0
25	335,2 ab	1480,9 b	5,0
35	405,9 a	1721,2 ab	10,0
45	386,8 a	2033,8 a	55,0
60	364,8 a	1859,2 ab	95,0
75	363,8 a	1802,6 ab	85,0
90	269,1 bc	1413,8 bc	100,0

Médias seguidas de letras distintas diferem estatisticamente a 5% (Tukey)

Observa-se que há uma melhor relação entre as concentrações de flúor no osso superficial e as mortes dos animais do que as observadas no osso total.

A Figura 11 ilustra os resultados da Tabela VI.

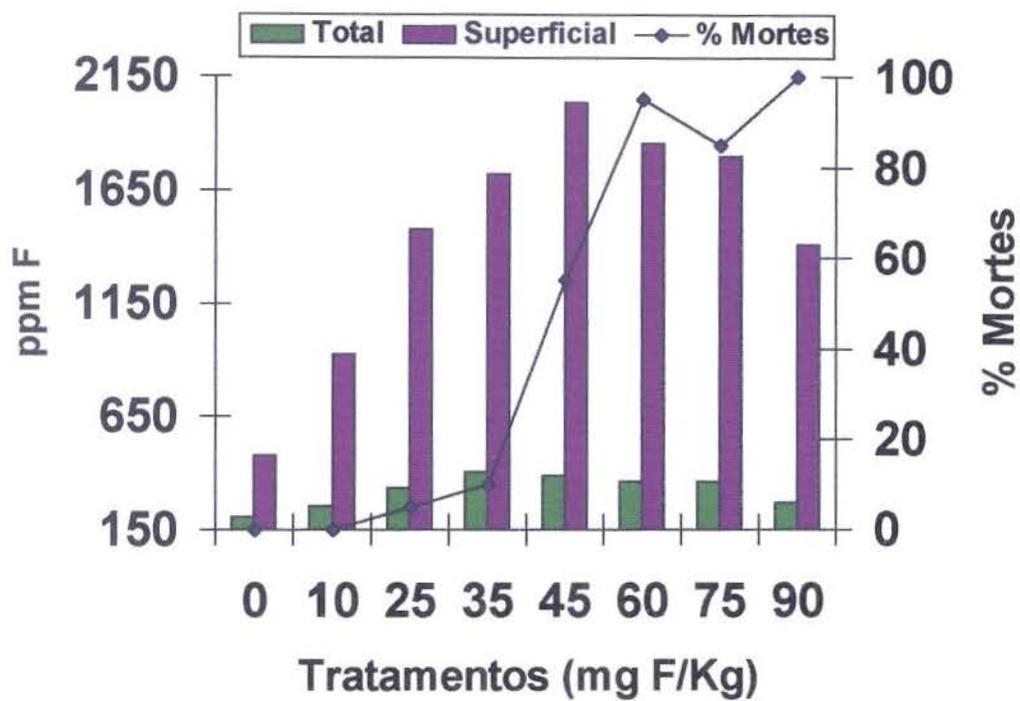


Fig. 11 - Relação entre as concentrações médias de flúor no osso total (■) e superficial (■) com a porcentagem de mortes (—) dos animais em função dos tratamentos.

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Os resultados do presente trabalho, em relação a concentração de íon flúor no osso total pulverizado (Tab.II), mostraram que as médias ajustadas de concentração de flúor no osso aumentaram em função da dose, até uma determinada dosagem. Com a administração de 45 mg F/Kg, a média das concentrações atingiu um pico máximo de 392,38 $\mu\text{g/g}$ e em seguida, teve um ligeiro declínio, tendendo a se estabilizar com a dosagem de 75 mg F/Kg. Com a administração de 90 mg F/Kg, onde nenhum animal sobreviveu, a média das concentrações declinou bastante, chegando a valores estatisticamente semelhantes àqueles encontrados nos grupos controle e I, onde não ocorreram mortes, como no grupo II onde apenas um animal morreu (Tabela VI). Como pode ser observado (TabelaIV), no grupo que recebeu 10 mg F/Kg todos os animais conseguiram sobreviver. Esta dose apesar de ser duas vezes maior que a Dose Provavelmente Tóxica para humanos (WHITFORD⁷⁰, 1987), não provocou a morte de nenhum animal. No entanto, a média de concentração de flúor no osso desse grupo não diferiu do grupo controle, nem do grupo de animais que receberam 25 mg F/Kg e onde só se verificou uma morte. Uma vez que foi administrada uma dose relativamente significativa (10 mg F/Kg) e esta dose foi aumentada 2,5 vezes havendo a morte de um animal, seria esperado uma concentração bem maior que as observadas no grupo I comparada ao grupo controle e no grupo II comparada ao grupo I. Porém, de acordo com os achados de BROGLIO⁷ (1994), há um aumento na concentração de flúor no osso logo após a administração de uma dose única com um pico em torno de 24 horas, após o que, ocorre um decréscimo da concentração. Neste estudo os animais do

grupo controle e os que sobreviveram à dose, 100% deles do grupo I e 95% do grupo II, só foram sacrificados 76 horas após a administração da dosagem. Neste período de tempo, segundo o estudo citado anteriormente, já deveria ter ocorrido a liberação de grande parte do flúor captado pelo osso para a corrente sanguínea. Em acréscimo, o intervalo de tempo entre a administração do flúor e a morte do animal do grupo II (Tab. V), foi insuficiente para o osso captar todo o percentual esperado.

Também estatisticamente, não foram verificadas diferenças entre os grupos que receberam dosagens variando de 25 a 75 mg F/Kg, embora o percentual de animais mortos tenha aumentado significativamente, a medida que se administrou uma quantidade maior de flúor (Fig.10). Isto também nos dá subsídio para uma discussão.

Em termos de conhecimento atual sobre metabolismo do flúor, sabe-se que o flúor solúvel é prontamente absorvido no estômago e intestino delgado por difusão passiva do ácido hidrófluorídrico formado, circulando no sangue rapidamente, o qual ao ser distribuído para os tecidos é fixado predominantemente no esqueleto (RESEMBURG⁵⁵ 1979, WHITFORD⁷² 1983). Após a ingestão de fluoreto de sódio, o osso capta cerca de 50% da quantidade ingerida e a meia vida para esta captação dura aproximadamente 3 horas (EKSTRAND et al²⁷ 1977; NEWMAN & NEWMAN⁴⁹ 1958; SMITH et al⁶² 1953). Neste estudo o tempo de morte dos animais variou bastante (Tab. V). Foram observados animais mortos após intervalos de 3, 6, 12, 24 e 48 horas, o que está em desacordo com um trabalho de revisão feito por DUXUBURY¹⁷ em 1982, onde este autor menciona que a morte por intoxicação por flúor acontece em poucas horas, não ultrapassando 24 horas. Assim, considerando as condições controladas do presente trabalho e à semelhança de outros fenômenos, a variação biológica deve ser levada em consideração quando de intoxicação letal por flúor.

A razão para o fato da aparente constancia nas médias de concentração de flúor no osso, apesar do aumento acentuado nas dosagens de 25 mg F/Kg a 75 mg F/Kg, supõe-se que seja devido a incapacidade do osso incorporar grandes quantidades de flúor e ao tempo decorrido entre a administração da dose e a morte dos animais. Com relação a questão da saturação óssea, na literatura consultada encontramos nos relatos da Organização Mundial de Saúde⁷⁹ (1984), um trabalho de WEATHERELL⁶⁸ (1966) que afirma que a captação do flúor pelo osso é mais rápida no osso jovem, que é menos saturado com flúor. NIKIFORUK⁵¹ em 1985, também relata que após anos de exposição ao flúor, o esqueleto vai ficando saturado e perde sua avidéz pelo flúor. No caso do nosso estudo, as altas concentrações administradas não foram mais capazes de aumentar a concentração no osso além de um determinado limite. Os resultados do presente estudo coincidem com os achados de CURY¹¹ (1984). Embora o autor tenha estudado o efeito crônico, verificou uma linearidade até o valor de 50 ppm entre a concentração de flúor na água administrada e a encontrada nos ossos de ratas prenhes.

Quando no presente trabalho, foi administrado 90 mg F/Kg, a alta concentração do íon fez com que a maioria dos animais (80%) morressem num curto período de tempo (Tab. V), interrompendo o metabolismo, não havendo tempo para o osso captar a quantidade de flúor que poderia. Isto também está de acordo com os dados encontrados na literatura, que dependendo do tempo de morte do animal e com a conseqüente interrupção do metabolismo, cessa a captação do flúor pelo osso. Segundo EAGERS¹⁸ em 1969, os níveis plasmáticos de flúor encontrados nas autópsias de pessoas que morreram por intoxicação aguda de flúor, onde vários órgãos do corpo são afetados, variavam de 4.0 a 15.0 ppm, dependendo do tempo de morte após serem submetidos às doses. Em alguns casos, a morte acontece

muito rapidamente por um desequilíbrio eletrolítico grave, provocando uma parada cardíaca. Na autópsia de um paciente que morreu 15 minutos após a ingestão de uma grande quantidade de flúor, o nível de cálcio no soro sanguíneo declinou bastante chegando a 2,6 mg %. Em acréscimo, HODGE & SMITH³⁶ (1986) relataram que as análises de flúor nos tecidos dos pacientes que morreram por intoxicação por flúor apresentaram também variações, dependendo do curso de tempo, entre a ingestão do halógeno e a morte. No estômago de um paciente que morreu em 15 minutos, foram encontrados 17 gramas de flúor. Já os que morreram após uma hora, tendo ingerido a mesma quantidade de flúor apresentaram uma quantidade bem menor, 3,7 gramas e os que morreram 18 horas após a dosagem, foram encontrados apenas 0,2 gramas. Provavelmente, nestes pacientes onde o tempo de morte foi maior, houve tempo para o osso captar maior quantidade de flúor. Supõe-se que se tivesse sido realizado a análise da concentração de flúor no tecido ósseo naqueles pacientes, uma quantidade bastante significativa teria sido encontrada. Ao contrário, os que morreram num intervalo de tempo muito pequeno, onde o flúor ficou praticamente todo retido no estômago e parte no plasma sanguíneo, menor concentração óssea seria encontrada. Deste modo, quando da intoxicação por altas doses de flúor, a concentração de flúor total no osso não é um indicador seguro, pelo fato da morte ocorrer rapidamente e não haver tempo de incorporação de flúor no osso, além de se considerar o problema de incapacidade do osso para captar grandes quantidades de flúor. Neste caso, o parâmetro clínico tempo em que ocorreu a morte pode ter um significado complementar no diagnóstico.

Por outro lado, refletindo-se sobre os dados das tabelas III e VI, observa-se que em relação a concentração de flúor no osso superficial, esta oferece mais subsídios que o flúor total em termos de diagnóstico *pós-*

mortem por flúor. Assim, enquanto a concentração de flúor total no osso não diferencia estatisticamente o grupo controle do que foi submetido à dose máxima, a concentração de flúor no osso superficial os diferenciou. Entretanto não houve diferença significativa na concentração de flúor no osso superficial entre a dose máxima e a de 10,0 mg F/Kg. Isto pode estar relacionado com a amostragem, tendo em vista a grande diferença numérica nas concentrações observadas (Tab. III).

Também percebe-se uma maior concentração de flúor na superfície óssea do que no osso total (Tab. VI), coincidindo com a literatura revisada (WHITFORD⁷⁴ (1989); SINGER & ARMSTRONG⁶⁹ (1969); NEWMAN & NEWMAN⁴⁹ (1958) a qual relata que a captação do flúor pelo osso, ocorre em três estágios: O primeiro envolve migração do flúor para camadas de hidratação dos cristais na qual os íons estão em equilíbrio com os dos fluidos teciduais. O segundo estágio, constitui uma mudança entre o flúor da capa de hidratação e o grupo hidroxila na camada do cristal, sendo o terceiro estágio um processo bem mais lento, onde o flúor pode migrar mais profundo para o interior do cristal. Assim sendo, é descrito que o flúor se incorpora mais na superfície óssea do que no seu interior. Estes dados também são consistentes com os estudos prévios de ARMSTRONG et al¹ (1970) onde foi mencionado que a camada biologicamente ativa do osso, capta flúor mais prontamente que o interior.

Deste modo, os resultados do presente trabalho sugerem que a análise de flúor no osso pode ter alguma utilidade como prova *pós-mortem* por intoxicação aguda por flúor, sendo a concentração na superfície óssea mais promissora. Entretanto, para que isto possa ser aplicado a humanos, os parâmetros de normalidade devem ser estabelecidos, levando em consideração a idade do indivíduo e a exposição ao flúor durante a vida, o que deverá ser a próxima etapa da continuidade desta pesquisa.

CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

1- A concentração de flúor na camada superficial do osso, apresentou uma melhor relação com as mortes dos animais do que a observada na análise do osso total.

2- Para se fornecer um diagnóstico mais preciso, outras observações como o quadro clínico e a história relatada de exposição ao flúor devem ser analisados e somados aos resultados das análises de flúor na camada óssea superficial.

3- Para que isto possa ser aplicado, os parâmetros de normalidade em humanos devem ser estabelecidos previamente através de pesquisa.

APÊNDICE

Tabela VII. Concentração de flúor no osso ($\mu\text{g/g}$) em função do tratamento

TRATAMENTOS								
AMOSTRA	C	I	II	III	IV	V	VI	VII
1	220.0	272.0	404.0	378.0	330.0	332.0	346.0	242.0
2	226.0	276.0	388.0	486.0	306.0	384.0	294.0	244.0
3	232.0	290.0	374.0	428.0	296.0	216.0	282.0	250.0
4	228.0	264.0	360.0	394.0	412.0	314.0	242.0	280.0
5	202.0	260.0	314.0	480.0	346.0	366.0	306.0	240.0
6	176.0	282.0	326.0	468.0	296.0	248.0	268.0	296.0
7	196.0	284.0	330.0	418.0	392.0	292.0	246.0	280.0
8	188.0	252.0	244.0	436.0	438.0	396.0	370.0	278.0
9	X	248.0	414.0	366.0	472.0	250.0	262.0	216.0
10	X	226.0	346.0	372.0	312.0	298.0	332.0	272.0
11	X	252.0	370.0	362.0	482.0	438.0	226.0	212.0
12	X	268.0	302.0	354.0	226.0	470.0	270.0	234.0
13	X	230.0	302.0	562.0	324.0	210.0	274.0	360.0
14	X	282.0	398.0	416.0	526.0	226.0	298.0	388.0
15	X	224.0	306.0	280.0	352.0	400.0	668.0	212.0
16	X	230.0	350.0	432.0	554.0	470.0	362.0	216.0
17	X	290.0	308.0	398.0	464.0	398.0	282.0	338.0
18	X	220.0	232.0	458.0	346.0	482.0	638.0	256.0
19	X	178.0	362.0	398.0	454.0	450.0	732.0	264.0
20	X	230.0	274.0	232.0	408.0	650.0	578.0	304.0
MEDIA	208.5	252.9	335.2	405.9	386.8	364.5	363.8	269.1

Tabela VIII. Concentração de flúor na camada superficial do osso ($\mu\text{g/g}$) em função do tratamento (Biópsia 60^{''})

AMOSTRA	TRATAMENTOS							
	C	I	II	III	IV	V	VI	VII
1	376.3	720.7	1333.8	1791.6	1573.2	1586.5	1324.9	1192.5
2	603.6	722.4	1171.2	1643.5	1651.8	1532.0	1456.6	1668.9
3	576.0	790.3	1437.7	1519.1	1653.8	1378.9	1208.3	983.7
4	470.6	726.9	1816.3	1292.8	1977.7	1358.7	1477.0	1474.1
5	540.8	881.0	1156.4	1019.1	1783.9	1555.6	1267.6	1031.9
6	426.0	1074.6	996.0	2143.2	2102.4	1261.5	1249.3	1344.0
7	368.5	831.8	1361.7	1351.5	1500.2	1043.3	1390.7	1203.6
8	445.2	1056.3	2012.9	1248.8	2360.7	2042.1	2085.0	607.8
9	X	700.3	1756.1	2080.5	2328.7	1165.8	1484.2	579.6
10	X	797.1	1784.0	1481.2	1638.5	1510.0	1147.4	1134.8
11	X	1059.0	1531.5	1320.3	1889.7	2510.5	1391.2	898.2
12	X	902.0	1867.0	1278.0	1175.7	2282.0	1556.0	2397.6
13	X	779.0	1338.3	2132.5	1943.3	1014.6	1501.6	1998.5
14	X	1022.3	1547.6	1548.0	2158.6	1212.2	1794.0	2353.2
15	X	874.1	2078.1	3549.0	2273.1	2339.2	1418.4	1137.3
16	X	1131.3	1239.6	1461.4	3307.5	2890.4	2903.2	1155.2
17	X	1573.7	1346.3	1856.2	2224.0	2166.4	1746.3	1900.0
18	X	1069.5	773.5	2063.8	2066.1	3187.1	2756.1	1521.0
19	X	897.6	1372.6	1908.9	2756.3	2228.7	3661.1	1991.5
20	X	922.3	1697.3	1735.3	2328.2	2919.2	3234.0	1703.1
MÉDIA	475.8	926.6	1480.8	1721.2	2033.7	1859.2	1802.6	1413.8

Tabela IX. Camada osséa em (μm) removida dos grupos controle e experimentais nas desmineralizações (60 seg.)

TRATAMENTOS								
AMOSTRA	C	I	II	III	IV	V	VI	VII
1	33.1	24.6	21.1	25.5	17.5	19.3	17.7	30.7
2	14.7	7.0	19.7	23.5	20.6	20.9	18.8	15.7
3	9.0	19.9	24.1	11.7	18.3	19.5	23.1	28.4
4	11.7	24.0	17.4	12.3	17.1	16.5	22.0	27.6
5	19.7	21.3	14.5	12.7	20.7	17.1	15.7	22.4
6	22.6	19.8	25.8	22.6	18.3	26.4	10.2	18.3
7	17.3	19.5	18.6	25.4	21.9	20.1	22.7	27.7
8	21.1	19.2	20.2	17.2	23.7	20.6	19.2	22.4
9	X	16.7	19.3	35.4	20.0	21.8	21.4	25.5
10	X	18.1	16.7	21.9	27.7	26.6	31.9	18.0
11	X	18.0	17.1	4.9	13.0	18.1	11.8	20.0
12	X	9.4	19.4	14.8	15.9	20.9	17.9	22.8
13	X	23.4	32.0	15.1	11.5	20.6	24.4	15.9
14	X	19.5	11.3	19.5	9.4	23.2	13.7	20.6
15	X	18.3	19.4	17.5	19.0	21.8	20.5	30.7
16	X	13.9	16.2	26.1	21.3	22.1	22.4	27.3
17	X	21.3	12.8	14.2	23.4	23.2	20.4	28.4
18	X	15.2	46.8	28.8	28.4	20.9	17.5	16.6
19	X	10.0	23.9	21.6	17.3	15.6	32.2	26.8
20	X	20.5	13.8	17.0	25.5	15.2	29.6	32.3
MÉDIA	18.6	18.0	20.5	19.4	19.8	20.2	20.6	23.9

SUMMARY

SUMMARY

Fluoride is uptaken by calcified tissues, so that it is possible to analyze fluoride concentration in bone in the cadaveric exhumations. This is important in order to have a post-mortem proof when no other analysis has been done soon after death. To evaluate this hypothesis 148 rats Wistar strain, weighing 180-220 grams, were submitted to increasing fluoride doses, ranging from 10,0 to 90,0 mg F/Kg (Groups from I to VII) by gastric route. One group of 8 animals was used as control (C). The animals which survived were sacrificed after 76 hours. From all animals, the femurs were removed, the soft tissue was eliminated and they were dehydrated in an oven at 90° C. One 5.0 mm section from diaphisary region was obtained from each of the femurs. One was powdered and weighed for total fluoride analysis, which was extracted with 0.5 M HCl and determined with specific electrode. In the other femur, a 2.0 mm circular section was isolated in order to be determined the fluoride incorporated superficially, using 0.5 M HCl under constant agitation for 1 min. Also using the specific electrode, fluoride concentration in the solutions were determined after buffering with TISAB. Fluoride concentration in the sample was calculated from the bone content in the solution, which is derived from phosphorus analysis. The results obtained in µg F/g of powdered bone (mean ± standard error) in total powdered bone were respectively: C = 208.5 ± 7.38c; I = 252.9 ± 4.40bc; II = 335.2 ± 10.3ab; III = 405.9 ± 16.20a; IV = 386.8 ± 19.47a; V = 364.5 ± 52.08a; VI = 363.80 ± 34.8a; VII = 269.10 ± 10.95bc. Fluoride analysis (mean ± standard error) in the bone superficial layer (µg F/g) showed the following results: C = 475.875 ± 31.46d; I = 926.610 ± 45.71dc; II = 1480.895 ± 76.18b; III = 1721.235 ± 121.27ab; IV = 2033.770 ± 106.72a; V = 1859.645 ± 150.09ab; VI = 1802.645 ± 164.43ab; VII = 1413.825 ± 116.84bc. The percentage of dead animals by the doses were: I=0,0; II=5,0; III=10,0; IV=55,0; V=95,0; VI=85,0; VII=100,0. Analysis of variance showed statistical significance to the effects of fluoride doses in two forms of analysis. There was also statistical significance in the association between the doses and the deaths. Meanwhile, TUKEY test (means followed by distinct letters differ at 5%) showed a greater confidence in the analysis of the bone superficial layer to correlate fluoride concentration in bone with death than the analysis of total fluoride. Nevertheless, these methods may not be used isolately as *post-mortem* proof due to fluoride acute toxicity, being only an auxiliar means of diagnosis.

Key Words : Fluoride-Toxicology

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS³

- 1- ARMSTRONG, W.D., SINGGER, L., MAKOWSKI, W.L. Placental transfer of fluoride and calcium. **Am. J. Obstet. Gynec.**, St. Louis, v.107, p.432-434, 1970. *Apud* World Health Organization. *Op. cit.* Ref. 80.
- 2-AUGENSTEIN, W.L. et al. Fluoride ingestion in children: a review of 87 cases. **Pediatrics**, New York, v.88, n.5, p.907-911, Nov. 1991.
- 3- BAYLINK, D.J. et al. Monofluorophosphate physiology: the effects of fluoride on bone. **Caries Res.**, Basel, v.17, p.56-76, Oct. 1983. [Supplement, 1]
- 4- BEAL, J.F., ROCK, W.P. Fluorides gel - a laboratory and clinical investigation. **Br. dent. J.**, London, v.140, n.1, p.307-310, Oct. 1976.
- 5- BERMAN, L.B., TAVES, D. Fluoride excretion in normal and uremic humans. **Clin. Res.**, New York, v.21, p.100, 1973. *Apud* World Health Organization. *Op. cit.* Ref. 79.
- 6- BHATTACHARARYYA, G.K., JOHNSON, R.A. **Statistical concepts and methods**. New York: John Wiley. 1977. 639p.

³ Conforme a NBR 6023 da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) de 1989. Abreviatura dos periódicos através do "World List of Scientific Periodicals"

- 7- BROGLIO, L.A.Z. **Estudo cinético do efeito do flúor sanguíneo e ósseo na incorporação do esmalte dental de animais previamente expostos ou não submetidos a uma dose única.** Tese (doutorado em Biologia e Patologia Buco-dental) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, 1994. 71p.
- 8- CARLSON, C.H., ARMSTRONG, W.D., SINGER, L. Distribution migration and binding of whole blood fluoride evaluated with radiofluoride. **Am. J. Physiol.**, Boston, v.199, p.187-189, 1960.
- 9- CHARKES, N.D., MAKLER JUNIOR, P.T., PHILLIPS, C. Studies of skeletal tracer kinetics, I. digital - computer solution of a five compartment model of (^{18}F) fluoride kinetics in humans. **J. nucl. Med.**, Chicago, v.19, p.1301-1309, 1978. *Apud* World Health Organization. *Op.cit* .Ref. 79.
- 10-CHURCH, L.E. Fluorides- use with caution. **J. M. dent. Ass.** v.19, n.3, p.106, May, 1976. *Apud* D'ANGELO, N. *Op. cit.* Ref. 14.
- 11- CURY, J. A. **Estudo do metabolismo do flúor em função da sua administração a ratas por períodos pré-natais sucessivos.** Tese (livre-docência em Bioquímica) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, 1984. 136p.
- 12- _____. Flúor dos 8 aos 80. In: BOTTINO, M.A., FELLER, C. **Atualização na clínica odontológica.** São Paulo: Artes Médicas, 1992. cap.26, p.375-382.

- 13- CURY, J.A. Uso do flúor. In: BARATIERI, L.N. et al. **Dentística procedimentos preventivos e restauradores**. Rio de Janeiro: Quintessence, 1989. cap.2, p.43-67.
- 14- D'ANGELO, N. **Segurança da aplicação tópica de flúor em gel**. Tese (doutorado em Farmacologia) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, 1991. 51p.
- 15- DENTISTA vai ser ouvida sobre morte de criança. **Gazeta de Alagoas**, Maceió, ago. 1989. *Apud* D'ANGELO, N. *Op. cit.* Ref.14.
- 16- DREISBACH, R.H. Fluorine, hydrogen fluoride and derivatives. In: ed. **Handbook of poisoning**. Los Altos: Lange Medical Publishers, 1980. p.210-213. *Apud*: WHITFORD, G.M. *Op. cit.* Ref. 75.
- 17- DUXUBURY, A.J., LEACH, F.N., DUXUBURG, J.T. Acute fluoride toxicity. **Br. dent. J.**, London, v.153, n.2, p.64-66, July, 1982.
- 18- EAGERS, R.Y. Effects on human fluoride poisoning. In: _____, **Toxic properties of inorganic fluorine compounds**. Amsterdam: Elsevier, 1969. cap.1, p.4-76.
- 19- EICHLER, H. G. et al. Accidental ingestion of NaF tablets by children: report of a poison control center and one case. **Int. J. clin. Pharmac. Ther. Toxicol.**, St. Louis, v.20, n.1, p.334-338, 1982.
- 20- EINSPAHR, H.M., BUGG, C.E. Enamel apatite and caries- a crystallographic view. In: MENAKER, L. **The biologic basis of dental caries**. Maryland: Harper & Row 1980. p.191-207. *Apud* CURY, J.A. *Op. cit.* Ref.11

- 21- EKSTRAND, J. Pharmacokinetic aspects of topical fluorides. **J. dent. Res.**, Washington, v.66, n.5, p.1061-1065, May, 1987.
- 22- _____. **Studies on the pharmacokinetics in man.** Thesis - Karolinska Institute, 1977. *Apud* World Health Organization. *Op.cit* .Ref.79.
- 23- _____, EHRNEBO, M., BOREUS, L.O. Fluoride bioavailability after intravenous and oral administration: importance of renal clearance and urine flow. **Clin. Pharmac. Ther.**, St. Louis, v.23, n.3, p.329-337, 1978. *Apud* World Health Organization. *Op. cit.* Ref. 79.
- 24- _____, ERICSSON, Y., ROSELL, S. Absence of protein-bound fluoride from human blood plasma. **Archs oral Biol.**, Oxford, v.22, 1977a *Apud* World Health Organization. *Op. cit.* Ref.79.
- 25- _____, KOCH, G. Systemic fluoride absorption following fluoride gel application. **J. dent. Res.**, Washington, v.59, n.6, p.1067, June, 1980.
- 26- _____, SPAK, C.J., EHRNEBO, M. Renal clearance of fluoride in a steady-state condition in man: influence of urinary flow and pH changes by diet. **Acta pharmac. tox.**, Kobenhavn, v.50, n.5, p.321-325, May, 1982. *Apud* World Health Organization. *Op. cit.* Ref.79.

- 27- EKSTRAND, J. et al. Pharmacokinetics of fluoride in man after single and multiple oral doses. **Eur. J. clin. Pharmac.**, New York, v.12, n.4, p.311-317, Dec. 1977b. *Apud* World Health Organization. *Op. cit.* Ref.79.
- 28- FISKE, C.H., SUBBAROW, Y. **J. Biol. Chem.**, v.65, 375p. 1925, *apud* CURY, J.A. *Op.cit.* Ref.11.
- 29- FRANT, M.S., ROSS, J.W. Electrode for sensing fluoride ion activity in solution. **Science**, Washington, v.154, p.1553-1555, 1966. *Apud* CURY, J. A. *Op. cit.* Ref.11.
- 30- GOLINSKY, A. Fatal incidents of fluoride intoxication. **Can. dent. Hyg.**, Vancouver, v.15, n.1, p.14-16, 1981.
- 31- HANHIJAERVI, H. Comparison of the ionized fluoride concentrations of plasma and renal clearance in patients of artificially fluoridated and non fluoridated drinking water areas. **Proc. Finn. dent. Soc.**, Finland, v.70, p.21, 1974. [Supplement, 3]. *Apud* World Health Organization. *Op. cit.* Ref.79.
- 32- HARRIS, M. Fluoridation: aspects of toxicity. **Probe.**, London., v.18, n.4, p.153-156, Oct. 1976.
- 33- HEIFETZ, S.B., HOROWITZ, H.S. The amounts of fluoride in current fluoride therapies: safety considerations for children. **J. Dent. Child.**, Chicago, v.51, n.4, p.257-269, July/Aug. 1984.

- 34- HODGE, H.C. Fluoride. In: GLEASON, M.N. et al., ed. **Clinical toxicology of commercial products. Acute poisoning.** 3.ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1969. p.112-116. *Apud* World Health Organization. *Op. cit.* Ref.79.
- 35- _____, SMITH, F.A. Biological properties of inorganic fluorides. In: SIMONS, J. ed. **Fluoride chemistry.** New York: Academic, 1965. p.2-365.
- 36- _____, _____. Fluoride toxicity. In: NEWBRUN, E., ed. **Fluorides and dental caries.** 3. ed. Illinois: Charles C. Thomas, 1986. cap.8, p.199-218.
- 37- _____, _____. Minerals: fluoride and dental caries. In: **Dietary chemicals vs dental caries.** Washington: American Chemical Society, 1970. *Apud* World Health Organization. *Op. cit.* Ref.79.
- 38- HOTZ, P., MUHLEMANN, H.R., SCHAIT, T.A. A new method of enamel biopsy for fluoride determination. **Helv. odont. Acta** Zurich, v. 14, p.26-29, 1970. *Apud* CURY, J.A. *Op. cit.* Ref.11
- 39- JACKSON, H.C., WEIDMANN, S.M. Fluorine in human bone related to age and the water supply of different regions. **J. Path. Bact.,** London, v.76, p.451-459, 1958. *Apud* World Health Organization. *Op. cit.* Ref.79.
- 40- JENKINS, G.N. **The physiology and biochemistry of the mouth.** 4. ed. London: Blackwell, 1976. *Apud* CURY, J.A. *Op. cit.* Ref.11.

- 41- JUNCOS, L.I., DONADIO, J.V. Renal failure and fluorosis. **J. Am. med. Ass.**, Chicago, v.222, n.7, p.783-785, 1972. *Apud* World Health Organization *Op. cit.* Ref.79.
- 42- LE COMPTE, E.J. Clinical application of topical fluoride products-risks, benefits and recommendations. **J. dent Res.**, Washington, v.66, n.5, p.1066-1071, May, 1987.
- 43- _____, WHITFORD, G.M. Pharmacokinetics of fluoride from APF gel and fluoride tablets in children. **J. dent. Res.**, Washington, v.61, n.3, p.469-472, Mar. 1982.
- 44- LI, Y. Fluoride: safety issues. **J. Indiana. St. dent. Ass.**, Fort Wayne, v.72 , n. 3, p.22-26, May-Jun, 1993.
- 45- LIDBECK, W.L., HILL, I.B., BEEMAN, J.A. Acute sodium fluoride poisoning. **J. Am. med. Ass.**, Chicago, v.121, p.826-827, 1943.
- 46- MELLBERG, J.R. Penetration of fluorine from sodium monofluorophosphate into artificially produced incipient enamel lesion. **Caries Res.**, Basel, v.14, p.115-120, 1980. *Apud* CURY, J.A. *Op. cit.* Ref. 11.
- 47- MONTGOMERY, D.C. **Design and analysis of experiments.** 3.ed. New York: John Wiley, 1991.
- 48- MYERS, H.M. Fluorides and dental fluorosis. **Monogr. oral Sci.**, v.7, p.15-20, 1979.

- 49- NEUMAN, W.F., NEUMAN, M.W. **The chemical dynamics of bone mineral.** Chicago: University of Chicago 1958. *Apud* World Health Organization *Op. cit.* Ref.79.
- 50- NEWBRUN, E. Topical fluoride therapy: discussion of some aspects of toxicology, safety and efficacy. **J. dent. Res.**, Washington, v.64, n.5, p.1084-1086, May, 1987.
- 51- NIKIFORUK, G. Metabolism of fluoride toxicology. In: _____. **Understanding dental caries.** Basel: Karger, 1985. v.2, p.113-141.
- 52- PALHARES, A.B., MASSINI, N. **Laudo toxicológico.** Campinas: Departamento de Medicina Legal. Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP. 1989.
- 53- RABINOWITCH, V.M. Acute fluoride poisoning. **Can med. Ass. J.**, Toronto v.52, p.345-349, 1945. *Apud* World Health Organization. *op. cit.* Ref.80.
- 54-RANDAL, B.B., FRASER, B.J. Peanut butter and fatal fluoride poisoning. A case of mistaken identity. **Fluoride**, Warren, v.28, n.2, p.111, May, 1995. [Abstracts].
- 55- RENSEMBURG, B.G.J. Metabolism of fluorides. **J. dent. Ass. S. Afr.**, Capes Town, v.34, n.3, p.163-166, Mar. 1979.
- 56- RIPA, L.W. Topical fluorides: a discussion of risks and benefits. **J. dent. Res.**, Washington, v.66, n.5, p.1079-1083, May, 1987.

- 57- ROSALEN, P.L., CURY, J.A. Estudo *in vivo* dos efeitos de antiácido na farmacocinética e reatividade do fluoreto com esmalte dental, após aplicação tópica de flúor em gel. In: REUNIÃO da SOCIEDADE BRASILEIRA de PESQUISAS ODONTOLÓGICAS., 8., Águas de São Pedro, 1992. **Anais...** São Paulo: SBPqO, 1992. p.5-11.
- 58- SAKATA, N.Y., CURY, J.A. Absorção de flúor. **Revta Ass. paul. Cirurg. Dent.**, São Paulo, v.41, n.1, p.57-89, jan./fev. 1987.
- 59- SANKARAN, B., GADEKAR, N.G. Skeletal fluorosis. In: BLACKWOOD, H.J.J. ed. **Bone and tooth symposium.** New York, 1964. p.357-362.
- 60- SINGER, L., ARMSTRONG, W.D. Relation between the fluoride content of rat calcified tissues. **J. dent. Res.**, Washington, v.48, n.5, p.947-950, Sept/Oct. 1969.
- 61- _____, OPHAUG, R.H. Total fluoride intake of infants. **Pediatrics**, New York, v.63, p.460-466, 1979. *Apud* World Health Organization. *Op. cit.* Ref.79.
- 62- SMITH, F.A., GARDNER, D.E., HODGE, H.C. Age increase in fluoride content in human bone. **Fedn Proc.**, Bethesda, v.12, p.368, 1953. *Apud* World Health Organization *Op. cit.* Ref.79.
- 63- SMITH, F.A., HODGE, H.C. Toxicology of monofluorophosphate. **Caries Res.**, Basel, v.17, p.36-45, Oct. 1983. [Supplement,1]

- 64- SPAK, C.J. et al. The tissue reaction of human gastric mucous after fluoride ingestion. **Caries Res.**, Basel, v.23, n.2, p.100, Mar./Apr. 1989. [Abstract, 31].
- 65- SPENCER, H., OSIS, D., WIATROWSKI, E. Retention of fluoride with time in man. **Clin. Chem.**, Baltimore, v.21, n.4, p.613-618, 1975. *Apud* World Health Organization *Op. cit.* Ref.79.
- 66- TRAUTNER, K., EINWAG, J. Influence of milk and food on fluoride bioavailability from NaF and Na₂FPO₃ in man. **J. dent. Res.**, Washington, v.68, n.1, p.72-77, Jan. 1989.
- 67- - ZIPKIN, I. Mobilization of fluoride from the bones and teeth of growing and mature rats. **Archs oral Biol.**, Oxford, v.17, n.3, p.479-494, Mar. 1972.
- 68- WEATHERELL, J.A. Fluoride and the skeletal and dental tissues. In: EICHER, O. et al., ed. **Handbook of experimental pharmacology**, New York: Springer-Verlag, 1966. v.20, pt.1, p.141-172. *Apud* World Health Organization *Op. cit.* Ref.79.
- 69- WHITFORD, G.M. Acute and chronic fluoride toxicity. **J. dent. Res.**, Washington, v.71, n.5, p.1249-1254, May, 1992.
- 70-_____. Fluoride in dental products: safety considerations. **J. dent. Res.**, Washington, v.66, n.5, p.1056-1060, May, 1987.

- 71- WHITFORD, G.M. Fluoride metabolism. In: NEWBRUN, E. ed. **Fluorides and dental caries**. 3. ed. Illinois: Charles C. Thomas, 1986. p.174-197.
- 72- _____. Fluorides: metabolisms, mechanism of action and safety. **Dent. Hyg.** Chicago, v.57, p.16-29, May, 1983.
- 73- _____. Intake and metabolism of fluoride. **Adv. dent. Res.**, Washington, v.8, n.1, p.5-14, June, 1994.
- 74- _____. **The metabolism and toxicity of fluoride**. Basel: Karger, 1989. v.13, 159p.
- 75- _____. The physiological and toxicological characteristics of fluoride. **J. dent. Res.**, Washington, v.69, p.539-549, Feb. 1990. [Special Issue]
- 76- _____, ALLMAN, D.W., SHAMED, A.R. Topical fluorides: effects on physiologic and biochemical processes. **J. dent. Res.**, Washington v.66, n.5, p.1072-1078, May, 1987.
- 77- _____, PASHLKEY, D.H., STRINGER, G.I. Fluoride renal clearance a pH-dependent event. **Am. J. Physiol.**, Bethesda, v.230, n.2, p.527-532, 1976. *Apud* World Health Organization *Op. cit.* Ref.79.
- 78- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Fluorides and oral health**. Geneva: WHO, 1994. p. 9-15.

- 79- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Fluorine and fluorides.**
Geneva: WHO, 1984. p.37-45; 72-94.