

THALES ROCHA DE MATTOS FILHO

CONSUMO DE O₂ PELOS TECIDOS HEPÁTICO E RENAL,
OBTIDOS DE RATAS PRENHAS, SUBMETIDAS A
TRATAMENTO COM ÁGUA FLUORETADA EM DIFERENTES
CONCENTRAÇÕES E CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS.

*Exemplar corrigido,
de acordo com a resolução
CCPG/1036/83.
Piracicaba, 4 de agosto de 1984*

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba da Uni-
versidade Estadual de Campinas,
para a obtenção do Título de
Doutor em Odontologia (Farma-
cologia).

PIRACICABA
- 1984 -

A meus pais, THALES e ZORAB

A meus irmãos, DARIO BAPTISTA, ANTONIO
GUILHERME e GRACE MARIA

À JULIANA

carinhosamente dedico esse
trabalho.

Ao Professor Doutor ANTONIO CARLOS NEDER,
pelo exemplo de valorização da carreira
docente, através da criação dos Cursos de
Pós-Graduação em Farmacologia para Cirur
giões Dentistas e pelo apoio e confiança
em mim depositados, desde que aqui cheguei ...

Ao Professor Doutor MYAKI ISSÃO, pelo
incentivo e ajuda na estruturação des
te trabalho, e pelas valiosas suges
tões apresentadas ...

... as minhas homenagens.

A G R A D E C I M E N T O S

Ao Professor Doutor JOSÉ ARISTODEMO PINOTTI, Magnífico Reitor da UNICAMP, pelo apoio ao ensino e à pesquisa em nosso meio universitário.

Ao Professor Doutor LUIZ VALDRIGHI, Diretor da FOP-UNICAMP, pela ênfase que dedica às atividades didáticas e de pesquisa em nossa Faculdade.

Ao Professor Doutor SAMIR TUFIC ARBEX, Coordenador dos Cursos de Pós-Graduação da FOP-UNICAMP, pela amizade e incentivo.

Ao Professor Doutor AMADO LEONÍSIO DE AZEVEDO, Chefe do Departamento de Ciências Fisiológicas, da FOP-UNICAMP, pelo apoio recebido.

Aos Professores Doutores MARIA DE LOURDES GARBOGGINI DA GAMA e RENÉ GUERRINI, pela constante cooperação em todas as fases da elaboração deste trabalho.

A Organização Pan-Americana de Saúde, na pessoa da Profes

sor Doutor LUIZ OCTÁVIO GUIMARÃES, pela cessão tem
porária de aparelhagem.

Ao Professor Doutor JAIME APARECIDO CURY, pelas sugestões
de grande valia e colaboração eficaz nas determina
ções bioquímicas.

À Professora Doutora SONIA VIEIRA, pela orientação no tra
tamento estatístico dos resultados.

Aos Colegas da Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terape
utica, pela amizade constante, encorajamento e de
ferência a nós dispensadas.

Ao Senhor ULYSSES DE OLIVEIRA MARTINS, pela eficiente colara
boração na parte experimental.

À Senhora SONIA MARIA APARECIDA SIMIONATO VICTÓRIA FÁVERO,
pela dedicada e eficiente colaboração na parte admi
nistrativa da área e ainda datilográfica deste tra
balho.

À Bibliotecária IVANY DO CARMO GUIDOLIN GEROLA, pelas su
gestões na bibliografia apresentada.

C O N T E Ú D O

	p.
- INTRODUÇÃO	1
- REVISTA DA BIBLIOGRAFIA	3
- PROPOSIÇÃO	14
- MATERIAL E MÉTODOS	15
- RESULTADOS	31
- DISCUSSÃO	54
- CONCLUSÕES	63
- SINOPSE	65
- SUMMARY	67
- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

INTRODUÇÃO

Constituindo-se num dos maiores desafios à saúde bucal, a cárie dentária tem sido objeto de especial atenção por parte dos pesquisadores, em suas investigações laboratoriais e clínicas.

Nesse sentido, um dos aspectos mais interessantes e que tem despertado grande interesse, está voltado para o campo da prevenção da moléstia, cujos recursos ganharam grande desenvolvimento nos últimos anos.

Sob esse aspecto, o fluoreto* aparece com grande destaque, pois muitos são os autores que o reputam como o mais eficiente meio de prevenção à cárie.

As comprovações clínicas desse fato são tantas, que atualmente os administradores públicos, orientados por organismos de educação sanitária, elaboram leis que regulamentam a fluoretação das águas de abastecimento público, com o intuito de fazer uma odontologia preventiva

* Fluoreto = F^- = elemento químico: fluor (F)

de grande alcance populacional e de baixo custo, quando com
parado com o tratamento dentário.

REVISTA DA BIBLIOGRAFIA

Após a descoberta de que o fluoreto reduz a incidência de cárie dentária, as investigações científicas sobre o assunto, ganharam muito destaque. Trabalhos em diferentes espécies animais, como ratos, cães, ovelhas, e mesmo seres humanos, como gestantes e crianças, têm trazido valiosas informações sobre o assunto.

Pelo fato desse halogênio ser encontrado nos ossos, dentes e outros tecidos do organismo animal, postulou-se que o mesmo seria essencial à nutrição. Porém, as tentativas de se comprovar esse fato têm falhado, como se depreende dos trabalhos realizados por SHARPLESS & McCOLLUM (1933); PHILLIPS, HART & BOHSTEDT (1934).

Um dos aspectos de grande importância e que tem merecido muita atenção por parte dos pesquisadores, refere-se à importância do referido ion na prevenção da cárie dentária. Segundo OSTROM (1980), esse halogênio se incorpora ao esmalte do dente quando da formação de seu germe, tornando-o mais resistente ao ataque ácido pelas bactérias bucais, após a sua erupção.

Baseando-se nesse fato, pesquisadores, como DEAN & ARNOUD (1943), McCLURE & LIKINS (1951), CHAVES (1960), RUSSEL & WHITE (1961) e DOUGLAS & COPPERSMITH (1966), acharam que quando administrado a uma concentração de 1 ppm durante o período de mineralização dos dentes, o fluoreto reduz a incidência de cárie em 60%.

McCLURE & KINSER (1944) mostraram a relação da ingestão de fluoreto e sua eliminação renal em crianças e adultos. Quando a água de abastecimento estava isenta de fluoreto, aparecia de 0,3 a 0,5 ppm do mesmo na urina. Um aumento na taxa de fluoreto urinário estava sempre associado ao consumo de água fluoretada a 0,5 ppm. Mostraram, também, uma relação entre a ingestão de fluoreto pela água e diminuição de cárie dentária. Com o trabalho, ficou claro que a eficiente eliminação renal do ion é fator principal para que não aconteça fluorose por acumulação em regiões com água fluoretada natural. Isso mostrou, também, que o metabolismo do fluoreto é uma função normal do organismo humano.

STOOKEY, CRANE & MUHLER (1964) confirmaram a excelente absorção do fluoreto no estômago e intestino delgado. Observaram, também, que a dieta pode dificultar a ab

sorção, principalmente pelo seu conteúdo em Ca^{++} e Mg^{++} , enquanto que o Fe^{++} , P^{--} e SO_4^{--} facilitam a absorção e aumentam o metabolismo. Esses resultados mostraram que o flúoreto pode ter sua absorção alterada conforme seja ingerido com o estômago pleno ou vazio; segundo esses autores, a administração oral do halogênio em situação de jejum, aumenta em 32% a sua absorção.

Trabalho realizado por CALL & colab. (1965), em Utah, mostra que as pessoas que vivem nessa região industrial dos EUA, onde o ar respirado apresenta grande concentração de flúoreto, apresentam deposição de flúoreto e cálcio nas paredes da artéria aorta, de onde os autores concluem que a presença do flúoreto se deve à calcificação que ocorre na referida artéria. Histologicamente, não encontraram alteração, concordando com os resultados obtidos por GEEVER & colab. (1958), que também não conseguiram detectar tais alterações nos tecidos de 37 (trinta e sete) pessoas, que morreram após terem vivido pelo menos 10 (dez) anos em comunidades, cuja água de abastecimento continha de 1 a 4 ppm de fluor; note-se que não se registrou alterações nos tecidos moles nem tão pouco nos ossos.

Na análise dos achados histológicos e químicos, deparamos com algumas controvérsias, que podem, a nosso ver, ser reputadas a dosagens, falhas de administração, técnicas de evidenciação e metodologia nos trabalhos. OGILVIE (1953), trabalhando com ratos, produziu intoxicação crônica nos mesmos, utilizando fluoreto de sódio em doses elevadas, concluindo que não houve mudanças significativas nas estruturas do fígado, rins, pâncreas, adrenal e tireóide, quando comparados com os mesmos órgãos de animais controle, que receberam cloreto de sódio. Histologicamente, os rins foram os mais afetados, mostrando edema, degeneração tubular e hiperemia; o pâncreas apresentou aumento do conjuntivo e de mitoses nas células acinares; a tireóide apresentou-se levemente atrófica; e o fígado permaneceu normal.

PINDBORG (1957), preocupado em mostrar a relação entre a ingestão de fluoreto de sódio a 0,05%, através da dieta, e as possíveis alterações histológicas renais, mostrou que as mudanças começaram a acontecer a partir do 21-28 dias de tratamento e que eram mais pronunciadas em animais de um mês do que em animais de três meses de idade. As mudanças encontradas foram: dilatação da alça

de Henle na área justacortical da medula, seguida de um a chatamento do epitélio dos túbulos contorneados corticais e distensão dos túbulos, ocorrida possivelmente por uma in terrupção da alça de Henle.

TAYLOR & colab. (1961) mostraram em seu tra balho, que a DL_{50} de fluoreto de sódio para 24 (vinte e qua tro) horas, em ratos Rochester, é de 47 mg/kg por via pa renteral, e que para 30 (trinta) dias, essa dose passa a 26 mg/kg de peso. Com esses resultados, os autores deixa ram claro que a cronicidade do uso de fluoreto de sódio po de ser altamente deletéria com doses bem inferiores do que aquela necessária para matar os animais rapidamente. Para os animais que morreram imediatamente após a administração de fluoreto de sódio, os autores sugerem que a mesma tenha ocorrido por uma inibição geral da respiração celular. Os estudos histopatológicos não evidenciaram comprometimento renal ou hepático, que pudesse ser responsabilizado pelo fluoreto.

MOUCDCY (1968) observou diminuição do volume nuclear e aumento do conteúdo em glicogênio em hepatócitos de ratos tratados com água fluoretada a 4 e 10 ppm, mas não em ratos tratados com 1 e 7 ppm. Em todos os animais trata

dos com água fluoretada a 10 ppm, encontrou infiltração gordurosa e aumento do RNA citoplasmático.

MELLO, BARBÉRIO & CAMPOS (1963) mostraram lesões degenerativas no fígado e rins de ratos, que foram tratados com água fluoretada a 1 ppm.

CAMARGO & MERZEL (1980) relatam em seu trabalho, que não observaram nenhuma alteração com relação a ganho de peso, morfologia e aparência microscópica nos rins e fígado de ratos tratados com água fluoretada nas concentrações de 1, 10 e 100 ppm por 90-180 dias. Histoquimicamente, não detectaram alterações nos polissacarídeos, grupos proteicos reativos e fosfatase ácida ou alcalina. Com relação aos lípidos, detectaram infiltração gordurosa nos rins e fígado dos animais no grupo de 180 (cento e oitenta) dias, tendo apenas a infiltração hepática se revelado estatisticamente significativa.

DeEDS & THOMAS (1934) concluíram em seu trabalho, que o fluoreto é capaz de induzir intoxicação crônica, demonstrável pelo branqueamento dos dentes incisivos em ratos, em concentrações tão baixas quanto 14 a 16 ppm na ração, significando que a ingestão de 0,5 a 1 mg de fluoreto

to por quilo de peso corpóreo, por dia, é capaz de produzir definitivos sinais de injúria nos incisivos do rato. Extrapolando para o ser humano, concluíram os autores que a ingestão de 1 a 2 mg de fluoreto, por dia, é tóxico para a criança.

Da mesma forma, NAYLOR & WILSON (1967) detectaram fluorose em diversos graus, nos incisivos de crescimento constante de ratos submetidos à água fluoretada, nas concentrações de 10, 25, 100, 250 e 500 ppm. Porém, histologicamente, os autores não detectaram nenhuma alteração no tecido renal, em quaisquer das concentrações utilizadas no experimento. Nesse trabalho, os autores mediram, também, o consumo de oxigênio pelo tecido renal e concluíram que o fluoreto, em concentrações entre 100 e 250 ppm, causa uma significativa inibição do consumo de O_2 .

Com respeito às alterações metabólicas, desde que WARBURG & CHRISTIAN (1941) mostraram que o fluoreto, em concentrações tão baixas quanto 0,5 mM, poderia causar inibição da enolase, "in vitro", pela formação do complexo Mg-F-P, o mesmo tem sido usado como inibidor da glicólise em preparações isoladas. Contudo, SHEARER & SUTTIE (1970), administrando dieta com 450-600 ppm de fluoreto, detecta

ram uma diminuição no nível da maioria dos intermediários glicolíticos, particularmente piruvato e lactato, e um grande aumento do citrato hepático. A ingestão do fluoreto causou, também, um decréscimo na atividade da quinase pirúvica, mas não influenciou a atividade da enolase hepática. No mesmo trabalho, os autores administraram 2 mg de fluoreto de sódio para os animais e os sacrificaram 15 (quinze) minutos após. A injeção aumentou substancialmente o teor de fluoreto no fígado, causando mudanças metabólicas comparáveis a uma inibição da enolase. Como o teor de fluoreto encontrado no fígado dos animais (0,4 mM) foi semelhante ao teor usado para inibir a enolase "in vitro" (0,5 mM), os autores concluíram que o fluoreto, muito provavelmente, foi o responsável pela inibição da enolase hepática e que essa inibição se processou da mesma forma como acontece "in vitro".

ELSAIR & colab. (1979), administrando fluoreto (40 mg/kg/d), através da água de beber, durante sete meses, não encontraram alterações nos conteúdos de triglicerídeos, proteínas e transaminases plasmáticas, nem alterações histológicas no fígado. Porém, mostraram que houve um aumento do consumo de oxigênio por esse órgão.

PORTELA & SANAHUJA (1972) estudaram os efeitos de dieta fluoretada, por um período de sete meses, no fígado de ratos. Para os ratos que receberam o fluoreto a 25 ppm, os autores constataram um pequeno aumento na porcentagem de proteínas, ligeira queda na atividade da fosfatase ácida, sem, contudo, constatar alterações na atividade da fosfatase alcalina. Com relação à atividade da enolase hepática, os autores não encontraram alterações no referido grupo, porém em um outro grupo, no qual os animais foram tratados com dieta contendo 100 ppm de fluoreto, no mesmo período, a atividade da enzima mostrou-se aumentada. Pelo fato do fluoreto ser um inibidor da enolase "in vitro" e ter sido constatado esse aumento de atividade no animal inteiro, os autores atribuíram esse resultado a um efeito paradoxal do ion.

Um outro aspecto que tem sido bastante explorado pelos pesquisadores, refere-se à passagem placentária do fluoreto. Autores, como KNOUFF & colab. (1935), MURRAY (1936), LEHMAN & MUHLER (1954), BAWDEN, WOLKOFF & FLOWERS (1964), GEDALIA & colab. (1964), ERICSSON & HAMMARSTROM (1964), ISSÃO (1968 e 1972) e GAMA (1980), mostraram, em seus trabalhos, que o fluoreto atravessa a barreira placentária e se fixa no organismo do feto em desenvolvimento:

essa é, aliás, a razão de se administrar fluoreto às ges tan tes, para que o mesmo se incorpore ao esmalte dos den tes do feto, quando eles se encontram em fase de minerali zação. Contudo, a referida passagem torna-se mais efetiva após a saturação do organismo da mãe pelo referido ion, o que denota a função protetora que a placenta exerce ao fe to, pois ISSÃO (1968) afirmou em suas conclusões, que a fixação do fluoreto pelo filhote diminui com o aumento da ingestão do halogênio pela rata, até certo limite. após o que esse nível aparentemente se mantém.

ISSÃO (1972), trabalhando com ratas prenhas, que receberam água fluoretada a 50 ppm, mostrou que a fixa ção do fluoreto pelas ratas é variável em função da pre nhez das mesmas. Assim, concluiu que:

- as ratas que receberam água fluoretada du rante todo o experimento (desde o desmame até a cria) apre sentaram menor fixação percentual de fluoreto:

- as fêmeas fecundadas e que receberam água fluoretada até o acasalamento, retêm maior quantidade de fluor do que as não fecundadas;

- a prenhez não altera a fixação do fluoreto na fêmea, quando o mesmo é fornecido através da água de beber, apenas durante o período de prenhez;

- parece que a excreção e a fixação pela mãe são os principais mecanismos de proteção do feto contra uma sobrecarga de fluor.

PROPOSIÇÃO

Sabemos que o fluoreto apresenta farmacopexia pelos tecidos ósseos do organismo, mas os dados referentes a seus efeitos sobre os tecidos moles ainda deixam margem a especulações, devido às muitas controvérsias existentes.

Assim, com base no exposto, objetivamos nesse trabalho:

1. Verificar, através da respirometria, a possível influência do fluoreto no consumo de oxigênio pelos tecidos hepático e renal, em ratas que receberam o ion sob a forma de fluoreto de sódio, em diversas concentrações e diferentes condições experimentais.

2. Comparar o consumo de oxigênio pelos tecidos hepático e renal, em ratas que receberam diversas conocentrações de fluoreto de sódio, em diferentes condições experimentais.

MATERIAL E MÉTODOS

1- ANIMAIS

1.1- ORIGEM

As experiências foram realizadas em 68 (sesenta e oito) ratos (Rattus norvegicus - variedade albinus), da linhagem Wistar, 45 (quarenta e cinco) fêmeas e 23 (vinte e três) machos, obtidos de terceira geração de animais criados sob condições padronizadas, no laboratório de Farmacologia, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas.

1.2- CONTROLE DE PESO

Semanalmente os animais foram pesados em balança, marca Marte, devidamente aferida pelo Instituto Nacional de Pesos e Medidas, para controle de crescimento.

Esse procedimento serviu para indicar a época em que os animais atingiram a plenitude de crescimento somático, e para confirmar a homogeneidade da amostra.

1.3- ACASALAMENTO

As ratas, utilizadas no experimento, foram separadas logo após o desmame, com peso médio de 35 (trinta e cinco) gramas.

Foram colocadas 5 (cinco) ratas em cada gaiola e acompanhou-se o crescimento das mesmas até alcançarem a plenitude de crescimento somático, usando como referência as variações em peso corpóreo. As pesagens foram realizadas semanalmente e quando as últimas três pesagens apresentaram variação muito pequena, as ratas foram colocadas em convívio com os machos, pois foram consideradas aptas para o início dos experimentos.

Esse período de acasalamento prolongou-se por 12 (doze) dias, sendo que a cada 2 (dois) dias os machos eram remanejados com o objetivo de se conseguir alto índice de acasalamento.

1.4- SACRIFÍCIO DOS ANIMAIS

Logo após o nascimento dos filhotes, as ratas foram sacrificadas por deslocamento cervical e esgorjadas.

2- RAÇÃO

Os animais receberam ração balanceada CERES, especial para laboratório, contendo a seguinte composição:

Proteína bruta	14	a 20%
Extrato etéreo	03	a 05%
Fibras	14	a 18%
Minerais (máximo)		7,5%
Cálcio (máximo)		1,8%
Fósforo (máximo)		0,7%
Umidade (máxima)		12%

Enriquecimento por quilo:

Sais Minerais	163,09	mg
(Mn-80 mg; Zn-33 mg; Fe-40 mg; Cu- 10 mg; Na; O; Se-0,09 mg)		
Vitamina A	5000	UI
Vitamina C	1	g
Vitamina D ₃	1000	UI
Etoxigin	0,8	g

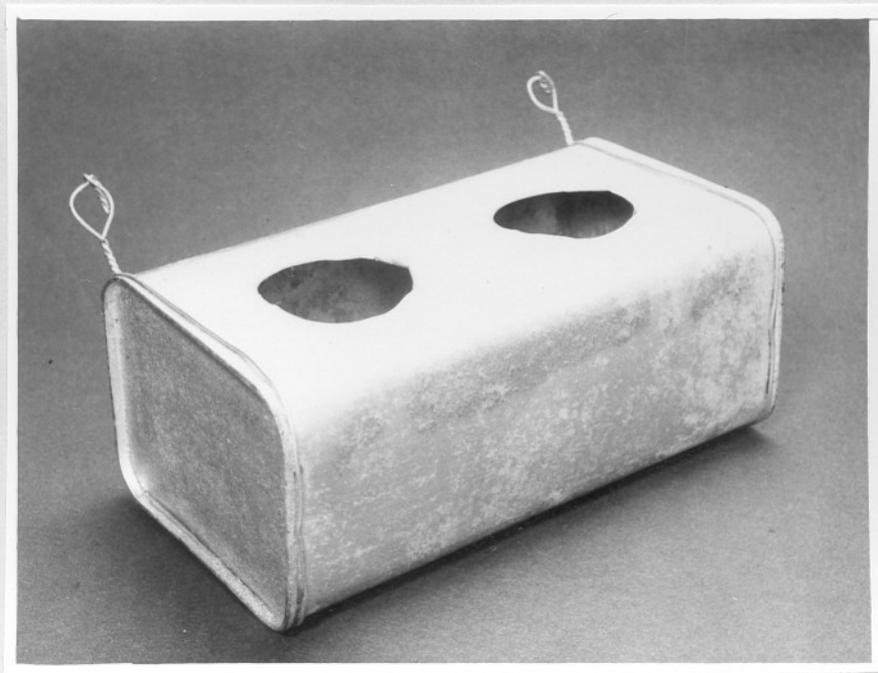
Para todas as partidas de ração, foi realizado o doseamento de fluoreto, que se apresentou por volta de 0,34 ppm. com mínima variação.

3- COCHOS

Os cochos foram feitos com latas de óleo co mestível comum, possuindo duas aberturas, conforme se apresenta na fotografia 1.

Esse tipo de cocho, além de garantir um maior aproveitamento da ração, impediu que os animais utilizasem grânulos contaminados, que normalmente se acumulam no fundo das gaiolas.

O reabastecimento dos cochos foi feito a cada 48 (quarenta e oito) horas, sendo a ração remanescente desprezada. A cada reabastecimento foi realizada pesagem para determinar o consumo médio de ração por animal.



Fotografia 1 - Cocho

4- DROGAS UTILIZADAS

4.1- NaF - preparado nas concentrações de 10, 25, 50 e 75 ppm.

4.2- NaCl - a 0,8%

4.3- KOH - a 20%

4.4- Solução de Krebs-Ringer-fosfato a um pH de 7,4.

4.5- Solução de glicose a 20 uM/ml.

5- PREPARO DAS SOLUÇÕES FLUORETADAS

5.1- GRUPO CONTROLE

Os animais do grupo controle receberam água proveniente de uma nascente pública, da Avenida Beira-Rio, da cidade de Piracicaba, que apresentou uma concentração por volta de 0,17 ppm de fluoreto, com pequena variação.

5.2- SOLUÇÃO A 10 PPM DE FLUORETO DE SÓDIO

Para se preparar essa solução, foram dissolvidos 108,8 mg de fluoreto de sódio e completado o volume para 5000 ml, com água da nascente.

5.3- SOLUÇÃO A 25 PPM DE FLUORETO DE SÓDIO

Para se preparar essa solução, foram dissolvidos 217,7 mg de fluoreto de sódio e completado o volume para 5000 ml, com água da nascente.

5.4- SOLUÇÃO A 50 PPM DE FLUORETO DE SÓDIO

Para se preparar essa solução, foram dissolvidos 543,4 mg de fluoreto de sódio e completado o volume para 5000 ml, com água da nascente.

5.5- SOLUÇÃO A 75 PPM DE FLUORETO DE SÓDIO

Para se preparar essa solução, foram dissolvidos 815,1 mg de fluoreto de sódio e completado o volume para 5000 ml, com água da nascente.

NOTA - Para o preparo de todas as soluções fluoretadas, fo

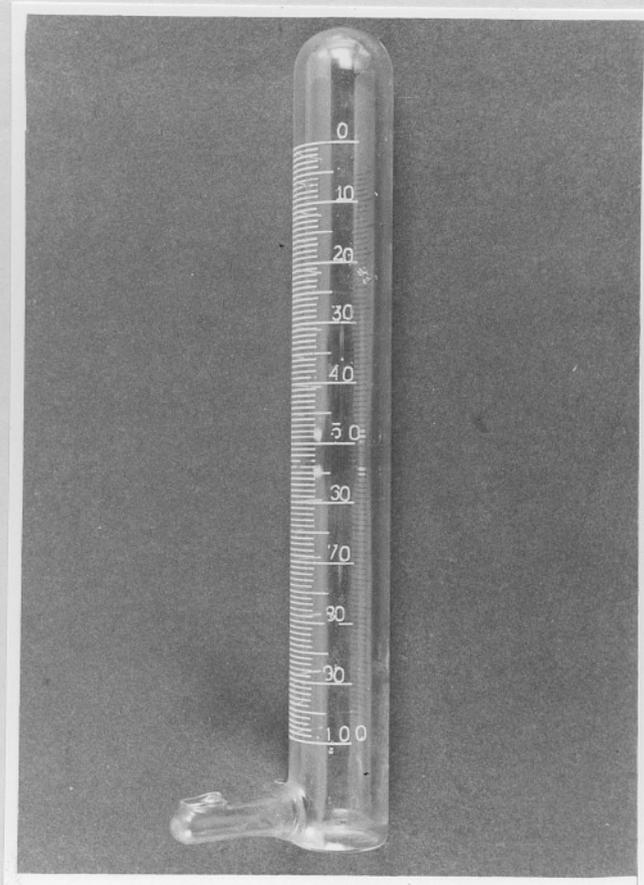
ram levados em consideração os 0,17 ppm de fluoreto da água da nascente utilizada.

6- BEBEDOUROS

Os bebedouros, utilizados durante os experimentos, foram construídos especialmente para permitir um melhor controle do consumo de água fluoretada, conforme se apresenta na fotografia 2.

Em cada bebedouro foi colocado 100 ml da solução fluoretada correspondente e a cada 48 (quarenta e oito) horas anotava-se o consumo e colocava-se solução nova. Para garantir o suprimento de água pelas 48 (quarenta e oito) horas, foram colocados 3 (três) bebedouros em cada gaiola, o que foi bastante suficiente mesmo nos dias de temperatura mais elevada.

O consumo médio de água, por animal, nos diferentes grupos e sub-grupos experimentais, foi anotado a cada 48 (quarenta e oito) horas.



Fotografia 2 - Bebedouro

7- DOSEAMENTO DE FLUORETO

As partidas de ração, a água da nascente e as soluções fluoretadas, foram submetidas a doseamento de fluoreto. Para tanto, utilizou-se potenciômetro digital 701, da Orion, munido de eletrodo 94-09A, da mesma marca.

Todas as soluções fluoretadas foram analisadas previamente ao uso.

8- RESPIROMETRIA

De acordo com o método tradicional, o consumo de oxigênio foi expresso em termos do número de microlitros, consumidos em 1 (uma) hora, por miligrama de peso seco de tecido. Esta variável é indicada pelo símbolo QO_2 (OSER, 1965).

A medida do QO_2 pelos tecidos hepático e renal, foi feita através da utilização do aparelho de Warburg. Para todas as amostras, o aparelho funcionou a 80 (oitenta) ciclos por minuto, a uma temperatura de $37^{\circ}C$ em presença de ar atmosférico.

8.1- OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Imediatamente após os animais serem sacrificados, procedeu-se a laparotomia e foram extraídos os rins e o fígado dos mesmos, colocando-se esses órgãos em placa de Petri, contendo solução de cloreto de sódio a 0,8%, a baixa temperatura, para realização da lavagem.

8.2- PREPARO DAS AMOSTRAS

Após a lavagem, utilizando-se de tesoura, bisturi e pinça anatômica, cortou-se os órgãos em pequenas fatias até a obtenção de uma massa homogênea de tecido, conforme o método usado por PAUL (1961), AYRES (1965), SAHADE (1970) e AZEVEDO (1980). Feita a homogenização, a massa foi lavada por três vezes, com solução de cloreto de sódio a 0,8%, a baixa temperatura, e transferida para uma colher medida, de plástico perfurado, obtendo-se, aproximadamente, 500 mg de tecido, quantidade essa recomendada por FISHER (1973).

8.3- CONSTITUINTES DOS FRASCOS DE WARBURG

Nos frascos de Warburg foram colocados a massa de tecido; 2,5 ml de solução de Krebs-Ringer-fosfato a

um pH de 7,4 e 0,2 ml de KOH a 20%, no poço central do frasco.

Para cada animal, foram preparados 6 (seis) frascos, 3 (três) com o homogenato de fígado e 3 (três) com o homogenato de rim, sendo que em um deles foi adicionado 0,2 ml de solução de glicose a 20 uM/ml.

8.4- CALIBRAÇÃO DOS MANÔMETROS E PADRONIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS

Os frascos foram acoplados aos manômetros previamente untados com vaselina sólida. Após a adaptação dos manômetros, o aparelho foi colocado em funcionamento por um período de 10 (dez) minutos. A seguir, os manômetros foram calibrados com o sistema fechado e deu-se início às leituras.

8.5- LEITURAS

Inicialmente, foi anotado o número de linhas do manômetro no tempo zero. Posteriormente, foram feitas leituras a cada 10 (dez) minutos, durante 120 (cento e vinte) minutos.

8.6- OBTENÇÃO DAS MASSAS SECAS

As massas secas foram obtidas, levando-se os conteúdos dos cadinhos de porcelana, em vidros de relógio previamente tarados, à estufa a 100°C, por um período de 48 (quarenta e oito) horas.

SISTEMATIZAÇÃO DA PESQUISA

1- ANIMAIS CONTROLE

Esses animais formaram o grupo I dos nossos experimentos, o qual constituiu-se de 5 (cinco) fêmeas, obtidas de terceira geração de animais, que receberam água e ração "ad libitum".

Acompanhou-se o crescimento das ratas até as mesmas atingirem a plenitude de crescimento somático, quando foram colocadas em convívio com machos, para o acasalamento.

No dia em que criaram, foram sacrificadas e delas se extraiu o fígado e os rins, para se medir o consu

mo de O_2 pelos tecidos hepático e renal, no aparelho de Warburg.

2- ANIMAIS TRATADOS COM SOLUÇÃO FLUORETADA

Esses animais formaram os grupos II e III dos experimentos.

Em ambos os grupos, as ratas foram acompanhadas desde o nascimento até atingirem a plenitude de crescimento somático, quando, então, foram colocadas em convívio com os machos, para o acasalamento. Imediatamente após darem cria, foram sacrificadas para se obter das mesmas o fígado e os rins, para se medir o consumo de O_2 por esses órgãos, no aparelho de Warburg. Receberam água e ração "ad libitum".

O grupo II constituiu-se de 20 (vinte) fêmeas, que receberam água fluoretada durante todo o experimento, a partir do desmame.

O grupo III constituiu-se de 20 (vinte) fêmeas, que receberam água fluoretada somente durante o pe

ríodo de prenhez.

Para os dois grupos foram oferecidas soluções com quatro concentrações diferentes de fluoreto, ficando os mesmos subdivididos nos seguintes sub-grupos:

Sub-Grupo II-A - constituído de 5 (cinco) ratas, que receberam água fluoretada na concentração de 10 ppm, a partir do desmame até o final do experimento.

Sub-Grupo II-B - constituído de 5 (cinco) ratas, que receberam água fluoretada na concentração de 25 ppm, a partir do desmame até o final do experimento.

Sub-Grupo II-C - constituído de 5 (cinco) ratas, que receberam água fluoretada na concentração de 50 ppm, a partir do desmame até o final do experimento.

Sub-Grupo II-D - constituído de 5 (cinco) ratas, que receberam água fluoretada na concentração de 75 ppm, a partir do desmame até o final do experimento.

Sub-Grupo III-A - constituído de 5 (cinco) ratas, que receberam água fluoretada na concentração de 10

ppm, somente durante o período de prenhez.

Sub-Grupo III-B - constituído de 5 (cinco) ra
tas, que receberam água fluoretada na concentração de 25
ppm, somente durante o período de prenhez.

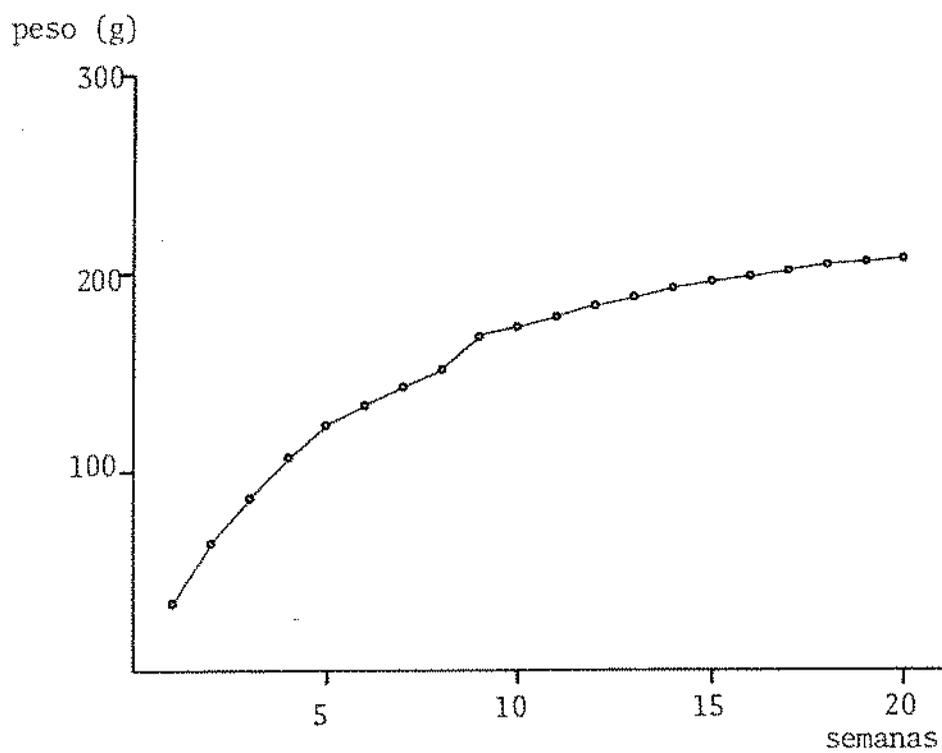
Sub-Grupo III-C - constituído de 5 (cinco) ra
tas, que receberam água fluoretada na concentração de 50
ppm, somente durante o período de prenhez.

Sub-Grupo III-D - constituído de 5 (cinco) ra
tas, que receberam água fluoretada na concentração de 75
ppm, somente durante o período de prenhez.

RESULTADOS

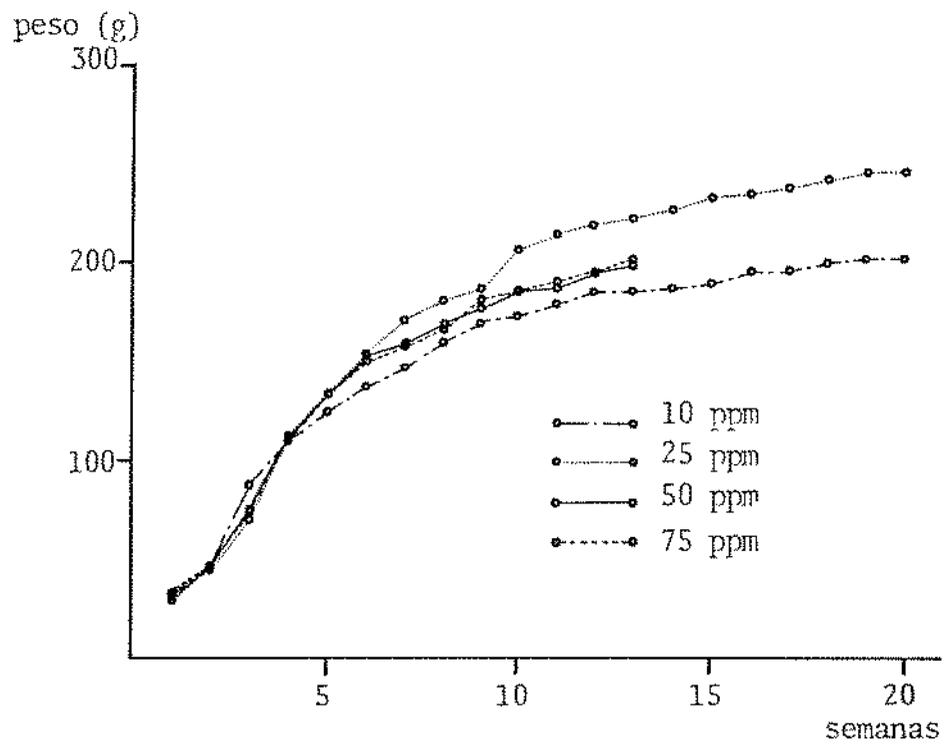
Nos gráficos 1, 2 e 3, estão expressos os da dos referentes às curvas de crescimento das ratas dos dife rentes grupos experimentais e na tabela 1, encontramos os consumos médios de ração, água e fluoreto, por animal.

Gráfico 1



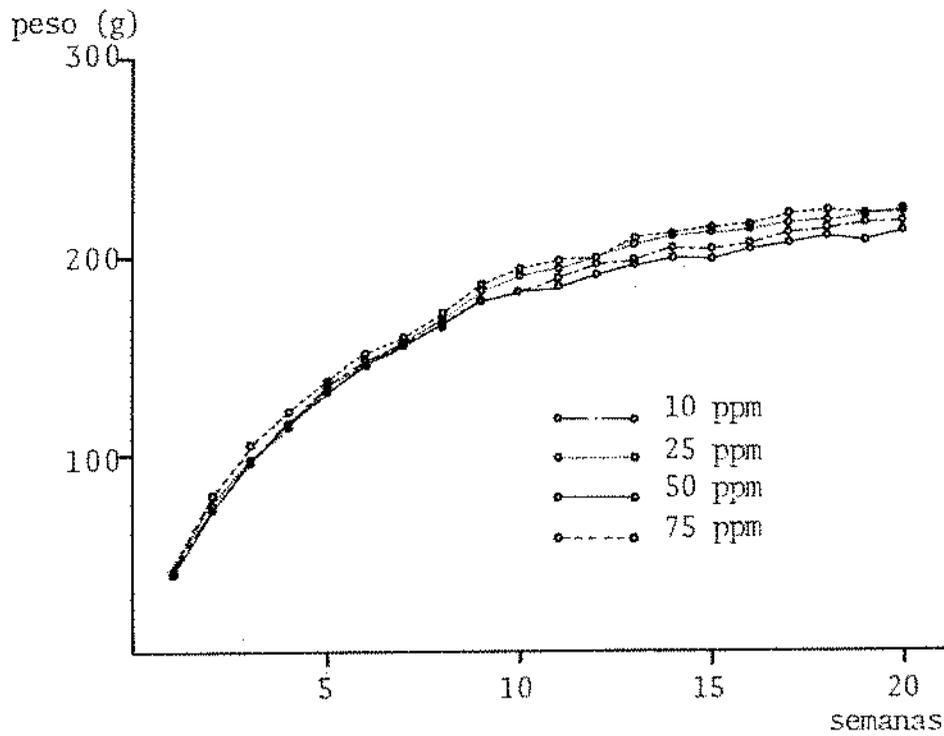
Ganho médio de peso das ratas do Grupo I, desde o início da experiência até a época do acasalamento.

Gráfico 2



Ganho médio de peso das ratas do Grupo II e respectivos sub-grupos, desde o início da experiência até a época do acasalamento.

Gráfico 3



Ganho médio de peso das ratas do Grupo III e respectivos sub-grupos, desde o início da experiência até a época do acasalamento.

Tabela 1 - Consumo médio de ração, água e fluoreto, por animal, durante toda a experiência e durante o período de prenhez, de acordo com os diferentes grupos experimentais e respectivos sub-grupos.

GRUPO	SUB-GRUPO	Total médio ingerido por rata durante toda a experiência		Total médio ingerido por rata durante a prenhez			
		Ração (g)	Água (ml)	Fluoreto(mg)	Ração (g)	Água (ml)	Fluoreto(mg)
I*	---	3.839,3	2.605,48	1,74	539,8	550,56	0,27
	II-A 10 ppm F	3.927,0	3.112,77	32,45	622,0	562,91	5,83
II*	II-B 25 ppm F	3.657,2	3.619,71	91,73	560,5	604,08	15,29
	II-C 50 ppm F	2.621,0	2.260,59	113,91	574,0	580,71	29,22
	II-D 75 ppm F	2.908,2	2.423,13	182,71	608,3	581,63	43,82
	III-A 10 ppm F	3.663,2	2.959,3	5,94	559,9	561,17	5,80
III*	III-B 25 ppm F	3.380,7	2.618,8	13,59	497,1	532,67	13,47
	III-C 50 ppm F	3.762,0	2.567,5	24,83	525,8	490,50	24,69
	III-D 75 ppm F	3.877,6	2.937,83	41,96	516,0	555,33	41,81

* Animais controle

** Animais que tomaram fluoreto durante toda a experiência

*** Animais que tomaram fluoreto apenas durante a prenhez

Os valores de QO_2 , obtidos para os tecidos hepático e renal, das ratas submetidas às condições experimentais descritas no capítulo de Material e Método, estão apresentados nas tabelas 2 e 3, respectivamente.

Tabela 2 - Valores de QO_2 , segundo a concentração de fluoreto, a presença ou ausência de substato exógeno (glicose) e o grupo, para tecido hepático.

CONCENTRAÇÃO	ENDÓGENO		PERÍODOS DE ADMINISTRAÇÃO			
	FLUORETO DURANTE A PRENHEZ	FLUORETO APÓS O DESMAME	FLUORETO DURANTE A PRENHEZ	FLUORETO APÓS O DESMAME	FLUORETO APÓS O DESMAME	GLICOSE
0	1,83	1,48	4,33	1,54	1,46	
	0,91	1,40	1,38	1,66	1,45	
	1,16	1,40	1,70	1,42	1,21	
	1,70	----	1,40	----	1,88	
	1,43	----	1,63	----	1,98	
10 ppm	3,04	1,69	1,12	1,72	1,46	
	1,40	1,91	1,28	1,87	1,45	
	1,39	1,24	1,76	1,43	1,21	
	1,52	----	1,58	1,99	1,88	
	----	----	1,99	1,75	1,98	
25 ppm	0,22	1,85	3,75	1,75	1,46	
	0,94	1,68	1,92	1,67	1,45	
	1,62	1,78	1,70	1,73	1,21	
	1,57	1,54	1,56	0,84	1,88	
	0,23	1,67	----	1,75	1,98	
50 ppm	1,73	1,42	1,31	1,80	1,46	
	1,66	2,40	1,15	1,62	1,45	
	1,54	1,98	2,16	1,87	1,21	
	----	----	1,61	----	1,88	
	----	----	1,78	----	1,98	
75 ppm	1,28	1,42	1,31	1,80	1,46	
	1,43	2,40	1,15	1,62	1,45	
	1,80	1,98	2,16	1,87	1,21	
	1,57	----	1,61	----	1,88	
	1,65	----	1,78	----	1,98	

Tabela 3 - Valores de CO_2 , segundo a concentração de fluoreto, a presença ou ausência de substato exógeno (glicose) e o grupo, para o tecido renal.

CONCENTRAÇÃO		ENDÓGENO		GLICOSE	
		1,40		4,94	
		3,82		2,53	
0		2,30		5,91	
		3,83		3,40	
		3,61		----	
PERÍODOS DE ADMINISTRAÇÃO					
	FLUORETO DURANTE A PREENHEZ	FLUORETO APÓS O DESMAME	FLUORETO DURANTE A PREENHEZ	FLUORETO APÓS O DESMAME	FLUORETO APÓS O DESMAME
10 ppm	1,24	3,62	1,96		3,35
	3,90	3,00	3,91		3,73
	3,99	4,32	4,43		1,95
	3,80	----	3,50		----
	----	----	----		----
25 ppm	3,13	1,52	1,86		3,36
	1,88	3,22	2,62		3,10
	2,00	4,02	3,63		4,20
	3,82	2,20	3,68		2,03
	----	----	----		----
50 ppm	4,62	3,22	4,94		3,94
	4,13	3,10	4,43		3,73
	4,31	2,98	3,40		3,92
	----	3,96	----		2,84
	----	----	----		3,84
75 ppm	3,00	3,70	2,88		3,85
	5,94	3,63	3,33		3,57
	4,12	3,52	3,89		3,92
	----	----	4,15		----
	----	----	5,40		----

Para analisar os dados obtidos de QO_2 , usou-se o seguinte modelo matemático:

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_1X_2 + b_3X_3 + b_4X_1X_3$$

onde Y indica QO_2 , X_1 indica a concentração de fluoreto, X_2 e X_3 são variáveis binárias (dummy), que indicam o grupo e a situação em que se mediu a respiração, oferecendo-se ou não glicose como substrato. Então, $X_2=0$ indica o grupo de ratas para as quais se administrou fluoreto durante a gestação e $X_2=1$ indica o grupo de ratas para as quais se administrou fluoreto durante todo o experimento, a partir do desmame das mesmas. Da mesma forma, $X_3=0$ indica a situação de endógeno (sem substrato) e $X_3=1$ indica a situação de glicose (com substrato).

Com esse modelo matemático, pretende-se verificar se o QO_2 é função linear da concentração de fluoreto, ou seja, se a respiração é afetada pela concentração desse ion, nas diferentes condições experimentais estabelecidas. Então, de acordo com o modelo, para as ratas que não receberam fluoreto e o consumo de O_2 foi medido na situação de endógeno, o valor de QO_2 (Y) é dado por:

$$Y = b_0$$

porque nesse caso $X_1=0$, $X_2=0$ e $X_3=0$.

Para as ratas que não receberam fluoreto e o consumo de O_2 foi medido na situação de glicose, o valor de QO_2 é dado por:

$$Y = b_0 + b_3$$

desde que $X_1=0$, $X_2=0$ e $X_3=1$. Portanto, b_3 é o acréscimo no coeficiente linear, quando se passa da situação de endógeno para a situação de glicose.

Para as ratas que receberam fluoreto somente durante a gestação e o consumo de O_2 foi medido na situação de endógeno, tem-se:

$$Y = b_0 + b_1X_1$$

pois, $X_1 \neq 0$, $X_2=0$ e $X_3=0$. Portanto, b_1 dá o efeito da concentração de fluoreto sobre o consumo de oxigênio pelo tecido em análise.

Para as ratas que receberam fluoreto durante a gestação e o consumo de O_2 foi medido na situação de glicose, tem-se:

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_3 + b_4X_1$$

ou, o que é o mesmo:

$$Y = (b_0 + b_3) + (b_1 + b_4) X_1$$

porque, $X_1 \neq 0$, $X_2 = 0$ e $X_3 = 1$. Portanto, b_4 é o acréscimo no coeficiente angular, quando se passa da situação de endógeno para a situação de glicose.

Para as ratas que receberam fluoreto durante todo o decorrer do experimento e o consumo de O_2 foi medido na situação de endógeno, tem-se:

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_1$$

ou, o que é o mesmo:

$$Y = b_0 + (b_1 + b_2) X_1$$

Uma vez que $X_1 \neq 0$, $X_2 = 1$ e $X_3 = 0$. Logo, b_2 é o acréscimo no coeficiente angular, quando se passa do grupo de ratas que receberam fluoreto somente durante a prenhez, para o grupo que recebeu fluoreto durante todo o experimento.

Para as ratas que receberam fluoreto durante todo o decorrer do experimento e o consumo de O_2 foi medido em situação de glicose, tem-se:

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_1 + b_3 + b_4 X_1$$

ou, o que é o mesmo:

$$Y = (b_0 + b_3) + (b_1 + b_2 + b_4) X_1$$

porque, $X_1 \neq 0$, $X_2 = 1$ e $X_3 = 1$.

Com base nos dados obtidos, ajustou-se o modelo. As estimativas dos coeficientes de regressão (b) e os respectivos valores para o teste t estão apresentados nas tabelas 4 e 5, para os tecidos hepático e renal, respectivamente. Também são apresentadas, nas tabelas 6 e 7, as equações das retas.

Tabela 4 - Estimativa dos coeficientes de regressão e respectivos testes t, para tecido hepático.

COEFICIENTE	ESTIMATIVA	VALOR DE t
b_0	2,993	11,16*
b_1	0,010	1,47
b_2	0,007	1,36
b_3	0,490	1,30
b_4	-0,008	-0,97

Tabela 5 - Estimativa dos coeficientes de regressão e respectivos testes t, para tecido renal.

COEFICIENTE	ESTIMATIVA	VALOR DE t
b_0	1,396	9,07*
b_1	0,0046	1,18
b_2	-0,0015	-0,49
b_3	0,3439	1,62
b_4	-0,0038	-0,79

Tabela 6 - Equação da reta de regressão, para QO_2 (Y) em função da concentração de fluoreto (X), segundo a situação (endógeno-glicose) e o grupo (controle, gestação, todo o experimento), para tecido hepático.

SITUAÇÃO	GRUPO	EQUAÇÃO DA RETA
ENDÓGENO	Controle	$Y = 2,995$
	Gestação	$Y = 2,995 + 0,010 X$
	Todo	$Y = 2,995 + 0,017 X$
GLICOSE	Controle	$Y = 3,485$
	Gestação	$Y = 3,485 + 0,002 X$
	Todo	$Y = 3,485 + 0,009 X$

Tabela 7 - Equação da reta de regressão, para QO_2 (Y) em função da concentração de fluoreto (X), segundo a situação (endógeno-glicose) e o grupo (controle, gestação, todo o experimento), para tecido renal.

SITUAÇÃO	GRUPO	EQUAÇÃO DA RETA
ENDÓGENO	Controle	$Y = 1,396$
	Gestação	$Y = 1,396 + 0,0046 X$
	Todo	$Y = 1,396 + 0,0031 X$
GLICOSE	Controle	$Y = 1,7399$
	Gestação	$Y = 1,7399 + 0,0008 X$
	Todo	$Y = 1,7399 - 0,0007 X$

A simples observação dos valores, que constam nas tabelas 2 e 3, permite afirmar que:

1. O valor do teste para b_1 é não significativo. Portanto, na situação de endógeno, não se registrou aumento significativo no consumo de O_2 para os tecidos hepático e renal, com o aumento da concentração de fluoreto, no grupo de ratas que receberam o referido ion somente durante a prenhez.

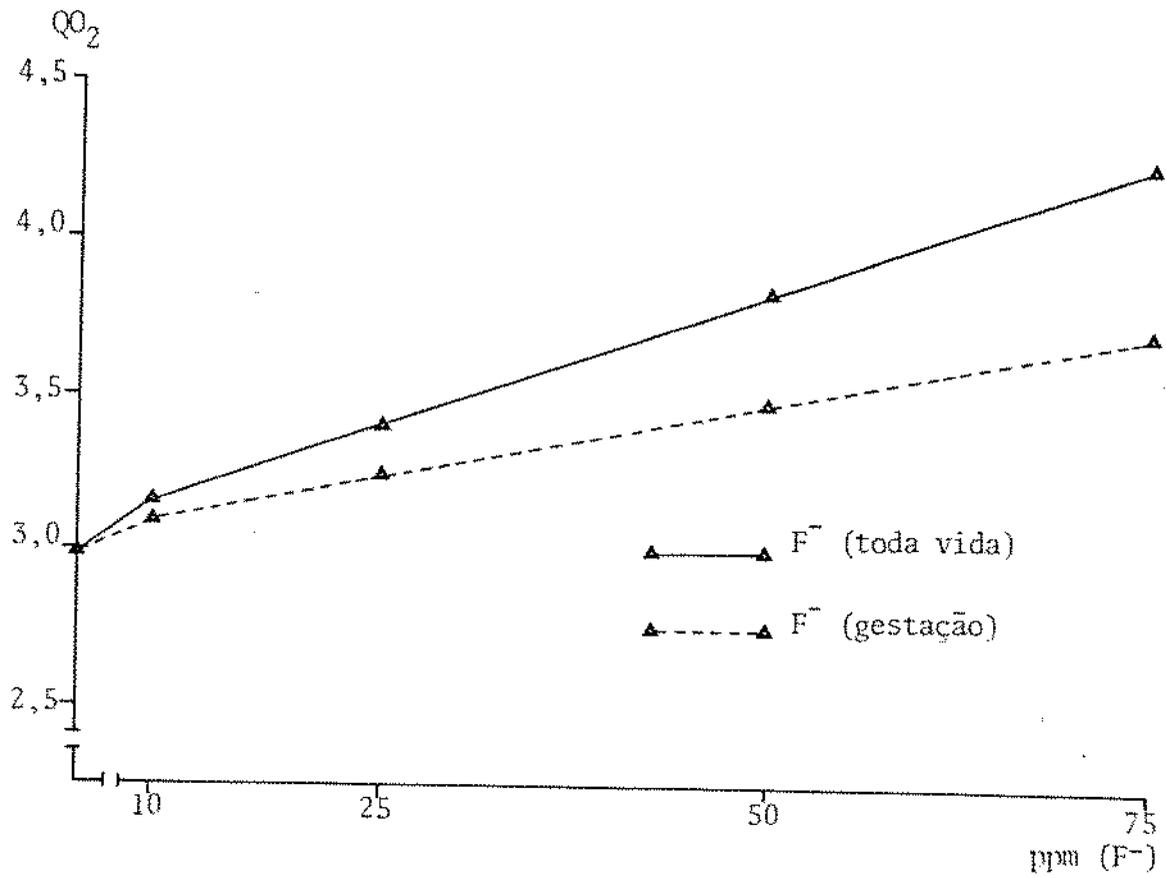
2. O valor do teste para b_2 é não significativo, o que permite afirmar que a influência da concentração de fluoreto sobre o consumo de O_2 , pelos tecidos hepático e renal, não se mostrou estatisticamente diferente, quer se administre o fluoreto somente durante o período de prenhez ou durante toda a vida do animal a partir do desmame. Entretanto, deve-se ressaltar que para o tecido hepático, apesar de não significativo, houve um acréscimo no consumo, enquanto que para o tecido renal houve decréscimo.

3. O valor do teste para b_3 é não significativo para os tecidos hepático e renal, do grupo que não

recebeu fluoreto. Portanto, não se registrou aumento estatístico no consumo de O_2 , quando se estimou o parâmetro nas situações de endógeno e de glicose.

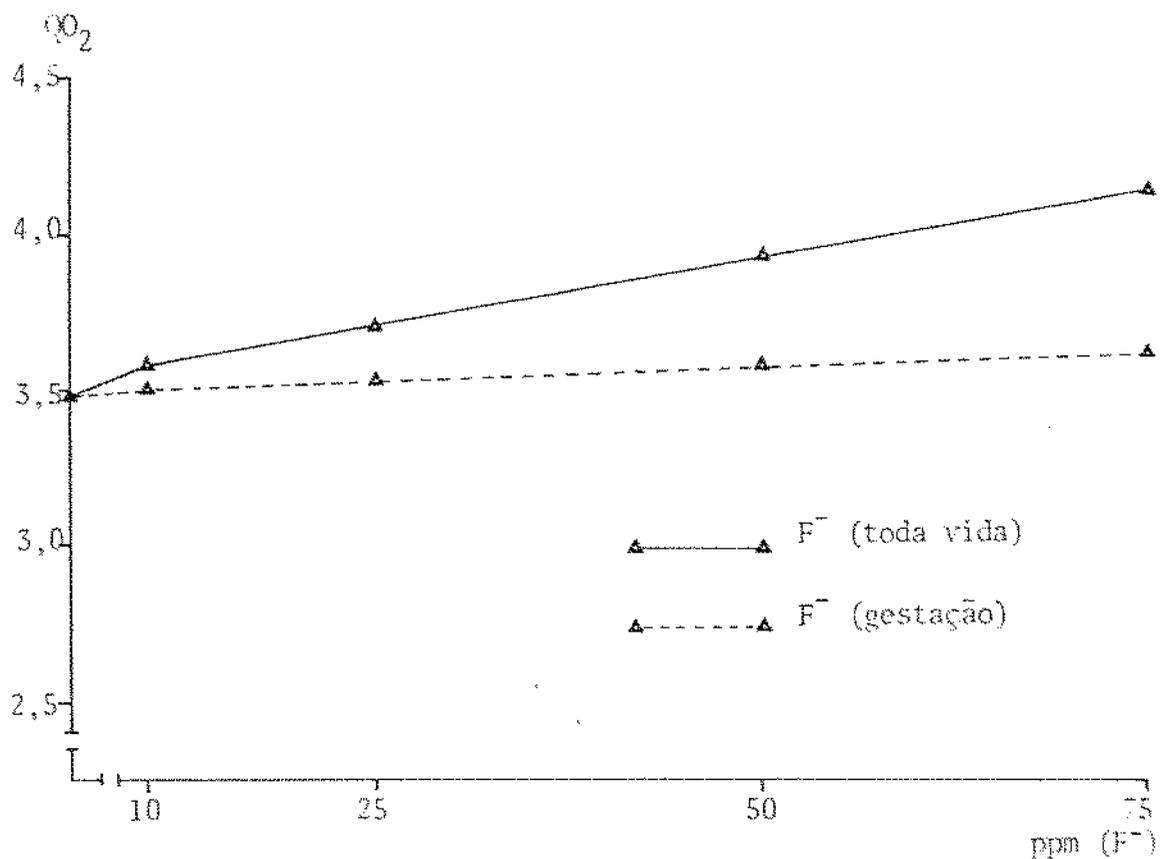
4. O valor do teste para b_4 é não significativo. Portanto, a variação nesse coeficiente, que indica o efeito da glicose sobre o consumo de O_2 , quando se administra fluoreto em diferentes concentrações, não é significativa. Para melhor visualização destes resultados, foram construídos os gráficos 4, 5, 6 e 7. Os gráficos 4 e 5 foram feitos com base nos resultados apresentados na tabela 6 e os gráficos 6 e 7, com base nos resultados apresentados na tabela 7.

Gráfico 4



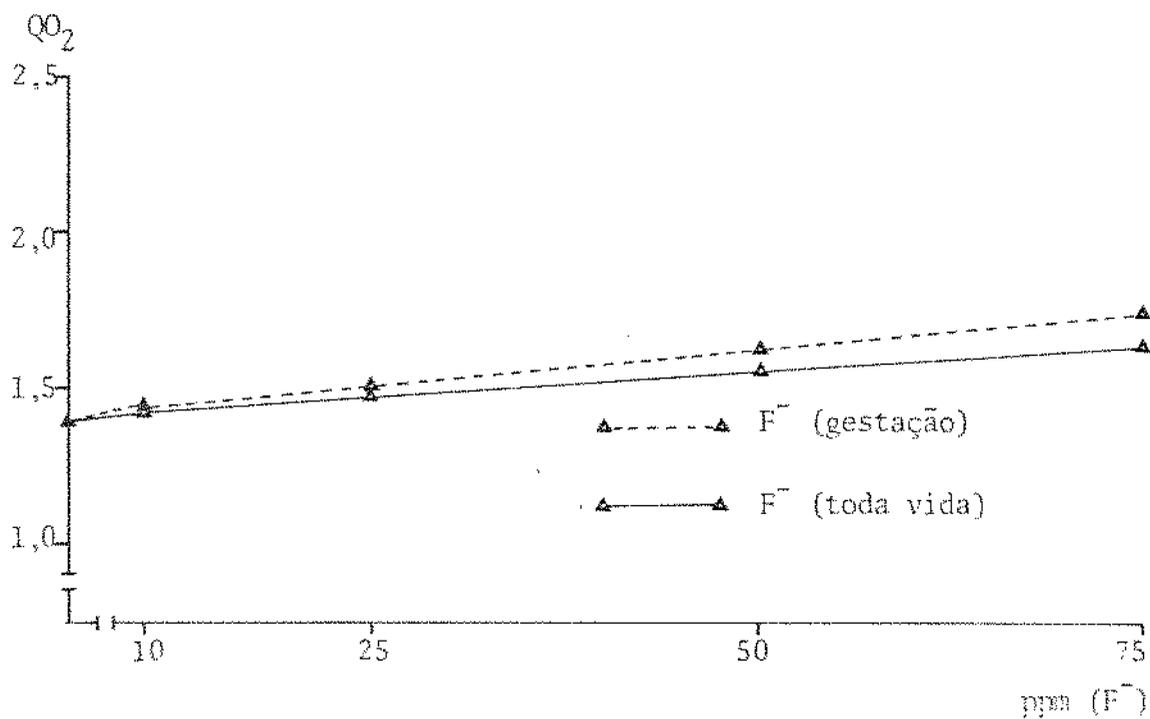
Apresentação gráfica das retas de regressão, relativas ao tecido hepático (endógeno).

Gráfico 5



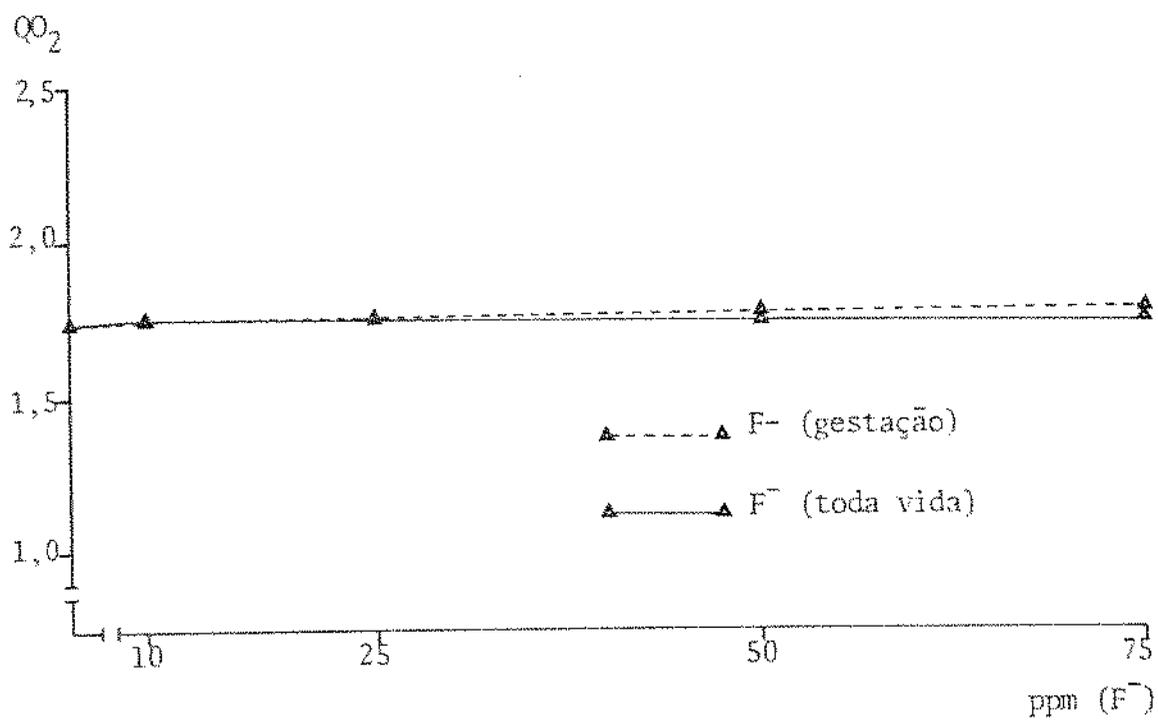
Apresentação gráfica das retas de regressão, relativas ao tecido hepático (com glicose no meio).

Gráfico 6



Apresentação gráfica das retas de regressão, relativas ao tecido renal (endógeno).

Gráfico 7



Apresentação gráfica das retas de regressão, relativas ao tecido renal (com glicose no meio).

Feita esta análise, podemos resumir os resultados nos seguintes itens:

a. Registrou-se uma tendência de aumento do QO_2 , em função do aumento da concentração de fluoreto, pois b_1 é positivo para os tecidos hepático e renal.

b. Na situação de glicose, os valores de QO_2 são, em média, maiores (b_3); porém, existe uma tendência de diminuir a diferença quando aumenta a concentração (b_4).

c. O consumo de O_2 , dos tecidos hepático e renal, mostra uma tendência de variar conforme o grupo. Entretanto, o consumo de O_2 para o tecido hepático foi maior para o grupo que recebeu fluoreto durante todo o experimento. Porém, para o tecido renal, o consumo de O_2 foi menor nesse grupo.

DISCUSSÃO

Ao fazermos a curva de crescimento dos animais, tivemos, como objetivo, mostrar se o fluoreto, administrado por períodos e em concentrações diferentes, poderia causar influência quanto ao desenvolvimento somático dos mesmos. Essa dúvida nos ocorreu, porque, como relatamos na Revista da Bibliografia, tem sido muito difícil comprovar a importância desse ion como oligoelemento orgânico essencial, como é o caso do Na^+ , Cl^- , K^+ , I^- , mesmo tendo-se em conta que é muito difícil estabelecer dietas totalmente isentas de fluor. Assim procedendo, pudemos mostrar que, em termos de crescimento somático, o fluoreto não provocou alterações importantes, como pode-se ver nos gráficos 1, 2 e 3. Isso nos proporcionou trabalhar com lotes de animais bastante homogêneos, nesse sentido.

Pela revista da literatura, podemos perceber que as alterações histopatológicas dos tecidos hepático e renal, atribuídas ao fluoreto, são muitas e conflitantes em alguns casos. Fazendo uma retrospectiva, lembramos que os autores, PINDBORG (1957), OGILVIE (1953), MOUCICY (1968),

MELLO, BARBÉRIO & CAMPOS (1963) e CAMARGO & MERZEL (1980), apesar de terem trabalhado em condições experimentais diferentes, relatam alterações histopatológicas nos referidos tecidos. Contudo, os autores, CALL & colab. (1965), GEEVER & colab. (1958) e TAYLOR & colab. (1961), não conseguiram mostrar semelhantes alterações, que pudessem ser atribuídas ao fluoreto.

Por outro lado, sabemos que a produção de energia pelas células é de essencial importância para que os tecidos exerçam suas funções fisiológicas, como o metabolismo e a síntese de substâncias, e assim façam parte do organismo como um todo, contribuindo, dessa forma, com a homeostase. Portanto, se alguns autores mostraram alterações histopatológicas, ocorreu-nos a possibilidade de que as mesmas estariam relacionadas com o aproveitamento biolôgico do oxigênio, o qual, como é de nosso conhecimento, é elemento fundamental no funcionamento da bioquímica e fisiologia celulares.

Examinando os trabalhos realizados por KNOUFF & colab. (1935), MURRAY (1936), LEHMAN & MUHLER (1954), BAWDEN, WOLKOFF & FLOWERS (1964), GEDALIA & colab. (1964), E-

RICSSON & HAMMARSTROM (1964), ISSÃO (1968, 1972) e GAMA (1980), verificamos que o fluoreto atravessa a placenta e se distribui pelo organismo do feto em desenvolvimento. Contudo, esse fato parece tornar-se mais concreto quando a concentração plasmática do mesmo, permanece alta por tempo prolongado.

De acordo com ISSÃO (1972), durante a prenhez o organismo materno tem maior capacidade de fixação de fluoreto em seus ossos e tecidos mineralizados. Assim, infere-se que a continuidade de exposição do organismo materno ao fluoreto, poderá fazer com que a fixação alcance níveis elevados. Nesse momento, o mesmo transporá a barreira placentária com mais facilidade e, desta forma, a placenta terá dificuldades em exercer uma possível função protetora ao feto, contra a passagem do fluoreto (a esse fenômeno, denominaremos, a partir de agora, saturação do organismo materno). Uma vez saturado o organismo da mãe, o mesmo ocorrerá com o organismo do feto, pois ISSÃO (1968) concluiu em seu trabalho, que a fixação percentual do fluoreto pelo feto, diminui com o aumento da ingestão do mesmo pela mãe, até um certo limite, após o que este nível se mantém. Então, se a fixação do fluoreto no esqueleto da

mãe está muito reduzida pela saturação, o recurso que seu organismo tem para evitar a intoxicação é aumentar a eliminação pela sua principal via, que é a renal, pois, Mc CLURE & KINSER (1944) já mostraram que a eliminação por essa via guarda certo grau de proporcionalidade direta com a ingestão. Portanto, esses fatos permitiram-nos admitir que após a saturação dos organismos materno e fetal, se o organismo da mãe continuar absorvendo fluoreto, esse, pela sua própria cinética e tendo livre acesso aos tecidos do organismo, irá se distribuir livremente. Como os locais de depósito (fixação) estão praticamente saturados, o seu contato com os tecidos moles continuará constante, porém permanecerá em concentrações mais altas. Assim sendo, esses tecidos, particularmente o hepático e o renal, estarão frente a uma maior e mais intensa exposição ao fluoreto e nosso intuito, ao fazermos esse trabalho, foi exatamente o de avaliar, através de respirometria, as possíveis consequências dessa suposta maior exposição para os referidos tecidos. Os resultados obtidos apresentam-se nas tabelas 2 e 3 para os tecidos hepático e renal, respectivamente.

A análise dos nossos resultados nos permite

dizer que nas concentrações utilizadas no experimento, o fluoreto não exerceu alterações estatisticamente significantes no consumo de oxigênio pelos tecidos hepático e renal. Mostrou, porém, que quando se faz uso de fluoreto em concentrações mais elevadas, aumenta a possibilidade de interferência do mesmo sobre o processo de respiração celular. Esse aspecto merece maior atenção, pois vem ao encontro dos trabalhos realizados por NAYLOR & WILSON (1967), que detectaram significativa inibição no consumo de O_2 pelo tecido renal, em ratos que ingeriram água fluoretada em concentrações entre 100 e 250 ppm, por um período compreendido entre 22 (vinte e duas) e 31 (trinta e uma) semanas. Nesse trabalho, os autores propõem que o referido processo talvez ocorra por uma inibição nas enzimas da cadeia respiratória pelo constante contato do fluoreto com as células dos túbulos renais. Nossa suposição era a de que ocorresse realmente uma inibição do consumo de O_2 , mas pelos nossos resultados houve uma tendência em aumentar o consumo de O_2 , de acordo com o aumento da concentração de fluoreto (10, 25, 50 e 75 ppm), não obstante os resultados terem se mostrado estatisticamente não significantes; esse nosso resultado ficou mais evidente com o tecido hepático do que com o renal, o que se pode observar nos gráficos 4 e 5 (tecido

hepático) e 6 e 7 (tecido renal).

Devemos ressaltar que, quando ainda testávamos as soluções fluoretadas, chegamos a preparar soluções com 100 ppm de fluoreto, a qual foi recusada por um lote de 5 (cinco) animais, os quais morreram após 96 (noventa e seis) horas.

Com relação à atuação do fluoreto como inibidor da cadeia respiratória, o que existe de mais importante é a sua incontestável ação como inibidor da enolase na degradação da glicose (WARBURG & CHRISTIAN, 1941). Essa enzima catalisa a passagem do ácido 2-fosfoglicérico a ácido fosfoenolpirúvico, em presença do Mg^{2+} . Em presença de Mg^{2+} e fosfato, o fluoreto inibe fortemente a enzima pela formação de um complexo fluorfosfato de magnésio, que é pouco dissociado e, portanto, remove Mg^{2+} , impedindo a consolidação da reação (CONN & STUMPF, 1975). Esse fato, como sabemos, acontece "in vitro", porém os trabalhos realizados "in vivo" têm mostrado algumas controvérsias. SHEARER & SUTTIE (1970) conseguiram demonstrar diminuição no nível da maioria dos intermediários glicolíticos e da quinase pirúvica, mas não encontraram alteração da enolase hepática, quando trataram os animais com ração contendo 450 a 600

ppm de fluoreto. Porém, quando administraram 2 mg de fluoreto e sacrificaram os animais, 15 (quinze) minutos após, detectaram aumento da concentração do mesmo no fígado, que causou mudanças metabólicas, que os autores compararam a uma inibição da enolase. Entretanto, pelo trabalho de PORTELA & SANAHUJA (1972), depreende-se que os autores detectaram um aumento da atividade da enzima hepática, quando trataram os animais (ratos) com dieta contendo 100 ppm de fluoreto, por 7 (sete) meses, fato esse que não ocorreu com outro grupo tratado pelo mesmo período, com dieta contendo 25 ppm de fluoreto.

Analisando os resultados desse nosso trabalho e fazendo-se uma comparação com os resultados obtidos pelos autores citados, percebemos que parece haver uma influência marcante nos efeitos do fluoreto para os tecidos hepático e renal, com respeito à respiração celular. Se detectamos tendência a aumentar o consumo de O_2 por esses tecidos, é porque houve realmente influência do mesmo nos mecanismos da respiração celular. Mesmo tendo em conta que a via glicolítica se processa em anaerobiose, se houver qualquer alteração em suas passagens, isso vai, inevitavelmente, repercutir no ciclo do ácido tricarbóxico, que se processa em presença de O_2 , pois o seu início depende do su

primeto de ácido pirúvico proveniente da glicólise. Entretanto, não podemos deixar de ressaltar que na ausência de O_2 , a glicose é consumida mais rapidamente e na sua presença, muito mais energia é utilizável como ATP, sendo necessário menor consumo de glicose para a mesma quantidade de trabalho celular.

Devemos observar que o presente trabalho constituiu-se de dois aspectos bem distintos. Em um deles, mostrou-se que o fluoreto, administrado às ratas, fez com que os tecidos hepático e renal mostrassem uma tendência em aumentar o consumo de O_2 , o que ficou estabelecido pelos experimentos endógenos (gráficos 4 e 6 para os tecidos hepático e renal, respectivamente). No outro aspecto, as mesmas ratas tiveram seus fígados e rins submetidos à respirometria, onde observou-se que a introdução de glicose ao meio, conquanto não ter se mostrado estatisticamente significativa, apresentou um ligeiro aumento no consumo de oxigênio pelos referidos tecidos, o que se observa, comparando-se os gráficos 4 com 5, para o tecido hepático, e 6 com 7, para o tecido renal. Isso mostrou que além do fato desses dois tecidos serem altamente energéticos, não sofreram inibição enzimática pelo fluoreto, pois a introdução de glicose ao

meio mostrou tendência ao aumento do consumo de O_2 , quando comparado com os experimentos endógenos.

CONCLUSÕES

Baseando-se na análise dos resultados obtidos, podemos concluir que:

1. Neste trabalho não observamos alteração de crescimento ponderal dos animais, quando se administrou fluoreto nas concentrações de 10, 25, 50 e 75 ppm.

2. O fluoreto mostrou-se capaz de provocar alterações discretas no consumo de O_2 pelos tecidos hepático e renal, notadamente quando as concentrações utilizadas foram mais elevadas.

3. O tecido hepático mostrou-se mais suscetível do que o renal à ação do fluoreto, no que diz respeito à tendência em aumentar o consumo de O_2 .

4. Nas concentrações utilizadas, o fluoreto não produziu inibição enzimática na cadeia respiratória das células dos tecidos hepático e renal, por ter os mesmos apresentado tendência ao aumento do consumo de O_2 , quando lhes foi oferecido glicose.

5. O fluoreto mostrou-se mais eficiente em aumentar o consumo de O_2 do tecido hepático das ratas tratadas desde o desmame até o final da prenhez, do que naquelas tratadas somente durante a prenhez.

6. Para o tecido renal, praticamente não houve diferença no aumento do consumo de O_2 , entre as ratas que receberam fluoreto desde o desmame até o final da prenhez, e aquelas tratadas somente durante o período de prenhez.

S I N O P S E

Estudou-se, no aparelho de Warburg, o consumo de oxigênio (QO_2) pelos tecidos hepático e renal, de ratas prenhas, que receberam água fluoretada (NaF) nas concentrações de 10, 25, 50 e 75 ppm. As experiências foram realizadas em três grupos de animais. O grupo I constituiu-se de ratas que não receberam fluoreto; o grupo II constituiu-se de ratas que receberam fluoreto por todo o período de vida, desde o desmame até darem cria; e o grupo III constituiu-se de ratas que receberam fluoreto somente durante o período de prenhez.

Os resultados mostraram que o fluoreto causou uma tendência em aumentar o consumo de oxigênio pelos referidos tecidos, notadamente pelo hepático. Nas concentrações utilizadas no experimento, o fluoreto não produziu inibição enzimática, pois quando se acrescentou glicose ao meio houve uma tendência em aumentar ainda mais o consumo de oxigênio.

Quanto ao período de exposição ao fluoreto, ocorreu maior tendência em aumentar o consumo de O_2 , com o

tecido hepático das ratas que receberam fluoreto por todo o período de vida, o que não ocorreu com o tecido renal. Em quaisquer das concentrações utilizadas, o fluoreto não alterou a curva de crescimento dos animais.

SUMMARY

It was studied in this paper, the oxygen consumption (QO_2) of the liver and kidney tissues from pregnant rats which have received 10, 25, 50 and 75 ppm fluoride-containing water (NaF solution). The study was performed through Warburg apparatus. The experiences were made by means of 3 groups of animals, as follows: group I: animals which have not received fluoride; group II: animals which have received fluoride since the weaning till the delivery; group III: animals which have received fluoride only during the pregnancy.

The results showed that fluoride has caused a tendency to increase the oxygen consumption by the hepatic and renal tissues, mainly that concerns to hepatic tissue. In the used concentrations, the fluoride has not produced enzymatic inhibition, because when glucose was added to the solutions, the tendency to increase the oxygen consumption was greater.

Concerning the fluoride-exposition period, it had a greater tendency to increase the O_2 consumption

in the hepatic tissue from group II animals. The renal tissue from group II animals have not showed this phenomenon. In all the utilized concentrations, the fluoride did not modify the growth curve of the animals.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AYRES, G.C.M. Determinação do consumo de oxigênio QO_2 e $QO_2^{(N)}$ em masseter, cérebro e polpa dental de suíno - "Sus scrofa domesticus, Gray" - Influência do meio de suspensão, do teor de oxigênio da atmosfera e de tetraciclina, sobre a respiração "in vitro". Piracicaba, 1965. [Tese (Livre Docência) - F.O.P.]
2. AZEVEDO, A.L. Influência da variação do pH de anestésicos parciais, em função da oxigenação tecidual, tecido hepático de cobaias (Cavia porcellus). Piracicaba, 1980. 69 p. [Tese (Livre Docência) - F.O.P.]
3. BAWDEN, J.W.; WOLKOFF, A.S. & FLOWERS, C.E. Placental transfer of F^{18} in sheep. J. dent. Res., 43(5): 678-83, Sept./Oct. 1964.
4. CALL, R.A.; GREENWOOD, D.A.; LeCHEMINANT, W.P.; SHUPE, J.L.; NIELSEN, H.M.; OLSON, L.E.; LAMBORN, R.E.; MANGELSON, F.L.; DAVIS, R.V. Histological and chemical studies in man on effects of fluoride. Publ. Hlth

Rep., Wash., 80: 529-38, 1965.

5. CAMARGO, A.M. & MERZEL, J. Histological and histochemical aspects of livers and kidneys of rats after long-term treatment with different concentrations of sodium fluoride in drinking water. Acta anat., 108 : 288-94, 1980.
6. CHAVES, M.M. Manual de odontologia sanitária. São Paulo, Fac. Higiene e Saude Pública da U.S.P., 1960. v. 1, p. 45-173.
7. CONN, E.E. & STUMPF, P.K. Metabolismo anaeróbico dos carboidratos. In: CONN, E.E. & STUMPF, P.K. Introdução à Bioquímica. 3.ed., São Paulo, Edgard Blucher, 1975. cap. 10, p. 198-9.
8. DEAN, H.T. & ARNOLD JUNIOR, F.A. Endemic dental fluorosis or mottled enamel. J. Am. dent. Ass., 30 (16) : 1278-83, Aug. 15, 1943.
9. DeEDS, F. & THOMAS, J.O. Comparative chronic toxicities of fluorine compounds. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.,

31: 824-5, 1934.

10. DOUGLAS, B.L. & COPPERSMITH, S.B. The impact of water fluoridation on the practice of dentistry for children. J. Dent. Child., 33(2): 128-34, Mar. 1966.
11. ELSAIR, J.; MERAD, R.; DENINE, R.; REGABBI, M.; ALAMIR, B.; BENALI, M.; KHELFI, K.; ALI RACHEDI, M. Effect of fluorine and an antidote (BORON) on respiration of liver tissue in rabbits. Fluoride, 12(4): 172-6, 1979.
12. ERICSSON, Y. & HAMMARSTROM, L. Mouse placental transfer of F^{18} in comparison with Ca^{45} . Acta odont. scand., 22(5): 523-38, Nov. 1964.
13. FISHER, A.K. Relation of body mass to respiration in rodent incisor pulp. J. dent. Res., 52(1): 127-30, Jan./Feb., 1973.
14. GAMA, M.L.G. Teores de fluoreto em carcaças de ratos recém-nascidos, cujas mães receberam água fluoretada em diversas condições. Piracicaba, 1980. 41p. [Te

se (Livre Docência) - F.O.P.]

15. GEDALIA, I.; BRZEZINSKI, A.; PORTUGUESE, N.; BERCOVICI, B. The fluoride content of teeth and bones of human foetuses. Archs oral Biol., 9(3): 331-40, May/ June 1964.
16. GEEVER, E.F.; LEONE, N.C.; GEISER, P.; LIEBERMAN, J.E. Pathologic studies in man after prolonged ingestion of fluoride in drinking water. Publ. Hlth Rep., 73: 721-31, Aug. 1958.
17. ISSÃO, M. Passagem transplacentária do fluor e sua quantificação nas estruturas mineralizadas de ratos recém-nascidos (Rattus norvegicus, var. albinus, Rodentia, Mammalia). São Paulo, 1968. 47 p. [Tese (Doutoramento) - Fac. Odontologia U.S.P.]
18. _____ . Influência do organismo materno na cessão de fluor ao feto, durante o seu desenvolvimento intra-uterino. São Paulo, 1972. 48 p. [Tese (Livre Docência) - Fac. Odontologia U.S.P.]

19. KNOUFF, R.A.; EDWARDS, L.F.; PRESTON, D.W.; KITCHIN, P.
C. Permeability of placenta to fluoride. J. dent. Res., 15(5): 291-4, Sept. 1935.

20. LEHMAN, D. & MUHLER, J.C. Storage of fluorine in the developing rat embryo. J. dent. Res., 33(5): 669-70, Oct. 1954. /Abstract/

21. Mc CLURE, F.J. & KINSER, C.A. Fluoride domestic waters and systemics effects. Publ. Hlth Rep., Wash., 59: 1575-91, Dec. 1944. II. Fluorine content of urine in relation to fluorine in drinking water.

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

23. MELLO, C.F.; BARBÉRIO, J.C.; CAMPOS, M.A.P. Influência do íon cálcio sobre a ação íon fluoreto no fígado e no rim do rato albino - Uma análise histológica. Revta Ass. paul. Cirurg. dent., 17: 35-9, 1963.

24. MOUCDCY, A. Estudo bioquímico (do glicogênio, RNA e li

- pídeos) e cariométrico de hepatócitos de Rattus norvegicus, var. albinus (Rodentia, Mammalia), submetidos a tratamento com água potável contendo fluoreto de sódio em várias concentrações. Revta Fac. Odont. S.Paulo, 6(3): 197-215, 1968.
25. MURRAY, M.M. Maternal transference of fluorine. J.Physiol., Lond., 87(4): 388-93, Sept. 1936.
26. NAYLOR, M.N. & WILSON, R.F. The effect of fluoridate drinking water on tissue respiration of rat kidney. J. oral Ther. Pharmac., 3(4): 316-20, 1967.
27. OGILVIE, A.L. Histologic findings in the kidney, liver, pancreas, adrenal and thyroid glands of the rat following sodium fluoride administration. J. dent. Res., 32: 386-97, 1953.
28. OSER, L.B. Hawk's physiological chemistry. 14.ed. Bombay-New Delhi, Mc Graw-Hill, 1965. p. 454.
29. OSTROM, C.A. Fluorides in dentistry. In: MENAKER, L. The biologic basis of dental caries. 1.ed. Maryland,

Harper e Row Pub, 1980. cap. 20, p. 445-60.

30. PAUL, J. Cell and tissue culture. 2.ed. Edinburgh, 1961, 312 p.
31. PHILLIPS, HART & BOHSTEDT. J. biol. Chem., 105: 123, 1934. Apud McCOY, R.H. Dietary requirements of the rat. In: FARRIS, E.J. & GRIFFITH JR., J.Q., eds. The rat in laboratory investigation. 2.ed., New York, Hafner Publ., 1949. cap. 5, p. 83.
32. PINDBORG, J.J. The effect of 0,05 per cent Dietary Sodium Fluoride on the rat kidney. Acta pharmac. tox., 13: 36-45, 1957.
33. PORTELA, M.L.P.M. & SANAHUJA, J.C. Efectos bioquímicos en la ingestion prolongada de fluor en la rata. Archos lat.-am. Nutr., 22: 291-308, 1972.
34. RUSSEL, A.L. & WHITE, C.L. Dental caries in Maryland children after seven years fluoridation. Publ. Hlth Rep., Wash., 76: 1087-93, Dec. 1961.

35. SAHADE, W. Atividade respiratória de tecido nervoso em suspensão em soro sanguíneo de "sus scrofa domesticus, Gray": - Investigação sobre fator controlador. Piracicaba, 1970. [Tese (Doutoramento) - F.O.P.]
36. SHARPLESS & Mc COLLUM. J. Nutr., 6: 163, 1933. Apud: McCOY, R.H. Dietary requirements of the rat. In : FARRIS, E.J. & GRIFFITH JR., J.Q., eds. The rat in laboratory investigation. 2.ed., New York, Hafner Publ., 1949. cap. 5, p. 83.
37. SHEARER, T.R. & SUTTIE, J.W. Effect of fluoride on glycolytic and citric acid cycle metabolites in rat liver. J. Nutr., 100: 749-56, 1970.
38. STOOKEY, G.K.; CRANE, D.B.; MUHLER, J.C. Further studies on fluoride absorption. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 115: 295-8, 1964.
39. TAYLOR, J.M.; SCOTT, J.K.; MAYNARD, E.A.; SMITH, F.A.; HODGE, H.C. Toxic effects of fluoride on the rat kidney. 1. Acute injury from single large doses. Toxic. appl. Pharmac., 3: 278-89, 1961.

40. WARBURG, O. & CHRISTIAN, W. Chemical mechanism of fluoride inhibition of yeast. Naturwissenschaften, 29 : 590, 1941. Apud: SHEARER, T.R. & SUTTIE, J.W., op. cit. ref. 37.