



1150016009



FOP

T/UNICAMP Ar16e

SAMIR TUFIC ARBEX

"EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE FLUOR
RETO NA INCORPORAÇÃO EM OSSOS LONGOS E CHAT
TOS DE RATAS PRENHAS".

Tese apresentada ao Concurs
so de Docência-Livre para
a Área de Farmacologia, Ter
rapêutica Clínica e Anestes
siologia, do Departamento
de Medicina Oral da Faculd
dade de Odontologia de Pir
acicaba da Universidade
Estadual de Campinas,

PIRACICABA

1980

fl. 375

Aos meus queridos pais, Tufic e Amélia,
pelo ensinamento das primeiras le-
tras e dos bons princípios, incon
testáveis exemplos de dedicação e
amor à família, em reconhecimento
pelo muito que me fizeram;

58

Ao meu irmão Michel e cunhada
Irene, pelo carinho e in-
centivo.

A minha querida esposa Tereza,
pelo amor e carinho, durante
toda nossa vida em co-
mum.

Aos meus filhos:

Rogério,

Alexandre e

Marcelo,

razão de ser de toda minha
vida

AO PROF. DR. ANTONIO CARLOS NEDER

D.D. Diretor da Faculdade de Odontologia de
Piracicaba.

Titular e Responsável pela Área de Farmaco-
logia, Terapêutica Clínica e Anestesiologia.

Meu amigo.

Meu irmão.

Como agradecer a você?

Diríamos apenas,

"Tentamos seguir seus passos, sua
orientação, sua honestidade, seu
carater e sua moral, para que ho
je pudesse^smos estar aqui com este
trabalho e retribuir um pouco da
quilo que você me deu".

AO PROF. DR. MYAKI ISSÃO

Se grande foi a satisfação de tê-lo
como colega de Faculdade, maior foi
a honra de poder, como amigo, ter
convivido com um dos maiores mes-
tres da Odontologia brasileira, do
qual recebi sábios ensinamentos.

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

Ao Prof. Dr. PLÍNIO ALVES DE MORAES, Magnífico Reitor da UNICAMP, que com trabalho incansável tem estimulado todos aqueles que se dedicam ao ensino e a pesquisa. e também pela confiança em nos depositada, quando da sua passagem pela Diretoria desta Casa;

Ao Prof. Dr. LUIZ VALDRIGHI, Diretor Associado da F.O.P. UNICAMP, pesquisador emérito e acima de tudo amigo daqueles que desenvolvem esforços em prol da grandeza de nossa Faculdade;

Ao Prof. Dr. NIVALDO GONÇALVES, Chefe do Departamento de Medicina Oral, que sempre foi amigo e estimulador da nossa carreira;

Aos Colegas Profs. THALES ROCHA DE MATTOS FILHO, MARIA DE LOURDES GARBOGGINI DA GAMA e RENÉ GUERRINI, pela presença sempre constante ao nosso lado, durante a elaboração deste trabalho;

Aos Colegas da Área de Farmacologia, Terapêutica Clínica e Anestesiologia, JONAS VAZ DE ARRUDA, JOÃO LEONEL JOSÉ, AMADO LEONÍSIO DE AZEVEDO, JOSÉ RANALI e EDUARDO DIAS DE ANDRADE, pelo estímulo e troca de informa-

ções preciosas;

A Organização Pan-Americana de Saúde, na pessoa do Prof.Dr.
LUIZ OCTÁVIO GUIMARÃES, pelo empréstimo do potenciômetro;

Ao Colega JAIME APARECIDO CURY, da Área de Bioquímica da
nossa Faculdade, pela colaboração diuturna na fase de
dosagens deste trabalho, e pelas sugestões apresentadas;

A Bióloga NEIDE YOSHIKO SAKATA, pelas dosagens realizadas
neste trabalho;

Ao meu filho ALEXANDRE, pela ajuda valiosa nos cálculos das
tabelas;

Ao C.D. CARLOS ROBERTO ROLDI, pela sua colaboração;

Ao Sr. JOSÉ VITTI, pela realização dos gráficos do presente
trabalho;

A Bibliotecária Sra. IVANY DO CARMO GUIDOLIN GEROLA, pela
correção das referências bibliográficas;

Ao Sr. MOISÉS JOSÉ MARIA DA SILVA, pelo auxílio na parte experimental deste trabalho;

Ao Sr. ULYSSES DE OLIVEIRA MARTINS e PAULO AMARAL, pela co
laboração;

A Sra. SONIA MARIA APARECIDA SIMIONATO VICTÓRIA, pela sua
colaboração, desde o período em que foi secretária de
nossa Área, até hoje, que é secretária da Diretoria;

A Srta. MARIA APARECIDA NALIN, pelos seus méritos datilográ
ficos, neste trabalho;

Ao Sr. SEBASTIÃO RODRIGUES DE BARROS, pela impressão.

I N D I C E

1 - INTRODUÇÃO	1
2 - MATERIAL E MÉTODOS	9
2.1 - Material	9
2.2 - Métodos	14
3 - RESULTADOS	16
4 - DISCUSSÃO	30
5 - CONCLUSÕES	37
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

1 - INTRODUÇÃO

A cárie dentária tem-se constituído ao longo dos anos o maior desafio da Odontologia, tanto que CHAVES⁷ em 1960, afirma que ela constitui, "quase sempre o problema número um da Odontologia Sanitária".

Face à esta situação, diversos métodos e meios de prevenção da cárie têm sido desenvolvidas, e entres estes, o fluor tem merecido um lugar de destaque.

Tanto se tem estudado sobre este halogênio, que hoje não existem mais dúvidas que a administração de fluoreto numa concentração próxima de 1 ppm, durante o período de mineralização dos dentes, reduz a incidência de cárie em cerca de 60% (DEAN & ARNOLD⁹ (1943); McCLURE & LIKINS³⁵ (1951); CHAVES⁷ (1960); RUSSEL & WHITE⁴¹ (1961) e DOUGLAS & COPPERSMITH¹⁰ (1966)).

No entanto, apesar destes métodos e meios terem sido pesquisados e divulgados, a literatura e a clínica continuam a evidenciar que a prevalência de cárie, tanto na dentição decídua e permanente continua alta. Especificamente quanto à dentição decídua, os trabalhos de SAVARA & SUHER⁴² (1951); LILLI³² (1967); GULZOW²² (1968); HENNON e cols.²⁵ (1969); PUGLIESI & ISSÃO⁴⁰ (1973); GOLLA & ISSÃO²¹ (1977) e HIRATA e cols.²⁴ (1977) também evidenciaram este fato.

Assim sendo e cientes de que a ação protetora do fluoreto na prevenção da cárie dentária, ocorre principalmente na época de mineralização dos dentes, uma das preo

cupações iniciais é saber quando ocorre este fenômeno nos dentes decíduos.

Os trabalhos de SCHOUR & MASSLER⁴³(1940); KRAUS³¹(1959); BIBBY³(1961) e SMITH⁴⁴(1966), demonstraram que grande parte da coroa dos dentes decíduos sofrem seu processo de mineralização ainda durante a vida intra-uterina.

Com base nestes achados, fica evidente que o conhecimento da transferência do fluoreto da mãe para o feto é importante no campo da prevenção da cárie, na dentição decídua. Neste particular há evidências substanciais na literatura confirmando este fato, amplamente comprovado através dos trabalhos de KNOUFF e cols.³⁰(1936); LEHMAN e MULLER³³(1954); ERICSSON e HAMMARSTROM¹¹(1964); GEDALIA e cols.²⁰(1965) e ISSÃO²⁷(1968).

Um dos primeiros pesquisadores a estudar a possibilidade de cessão do fluoreto pela mãe ao feto, foi KNOUFF e cols.³⁰(1936). Estes pesquisadores, trabalhando com cães, concluíram que quando a mãe ingere pequenas quantidades de fluoreto, este não se transfere para o feto, ao contrário da ingestão de quantidades maiores, em que ele atravessa a barreira placentária, fixando-se no ser em fase de crescimento e desenvolvimento.

Esses autores justificam os resultados obtidos, afirmando que quando a fêmea ingere pequenas quantidades do halogênio este se fixa na estrutura esquelética materna, e que, quando a capacidade de fixação materna se esgotava, o excedente passava para o feto.

GARDNER e cols.¹⁶(1952), pesquisando a presen

ça do fluoreto na placenta e no sangue fetal de mulheres grávidas, residentes em regiões com água fluoretada (0,06 a 1,2 ppm de fluoreto) afirmaram que o fluoreto atravessava a placenta e se transferia ao feto, porém em pequenas quantidades. Demonstraram, também, que a placenta age como uma barreira contra doses elevadas de fluoreto, opinião esta também comprovada por MAPLESDEN e cols.³⁶(1960); GEDALIA e cols.¹⁷(1961); GEDALIA e cols.¹⁸(1964) e em trabalhos de revisão por DALE⁸ (1964); BURT⁵ (1966) e SMITH⁴⁴(1966).

ERICSSON e ULBERG¹³(1958) e ERICSSON e HAMMARS TROM¹¹(1964) trabalhando com fluor marcado (F^{18}), comprovaram que o isótopo injetado em ratas prenhas, fixava-se em grandes quantidades nos tecidos mineralizados materno e na placenta, e que apenas uma pequena porcentagem passava para o feto, fixando-se nos tecidos em mineralização, concluindo que a placenta e as estruturas esqueléticas da mãe atuam como uma barreira parcial à passagem do fluoreto da mãe para o feto.

Injetando o F^{18} em ovelhas prenhas BAWDEN e cols.², em 1964, demonstraram que o fluoreto atravessava a placenta em pequenas quantidades, fixando-se preferencialmente no esqueleto e dentes do feto. Afirmaram também, que pode ocorrer uma transferência de fluoreto do feto para a mãe.

MAPLESDEN e cols.³⁶(1960), trabalhando com animais de laboratório, concluíram que gestações sucessivas não influem na quantidade de transferência do fluoreto da mãe para o feto, no que é contrariado por HUDSON²⁶(1967) que

encontrou um teor de halogênio superior nos filhotes da se
gunda gestação.

Em 1959, GEDALIA e cols.¹⁹, analisando o con
centração de fluoreto na urina de mulheres grávidas, residen
tes em áreas com 0,5 a 0,6 ppm de fluoreto, afirmaram que o
teor de fluoreto decrescia com a evolução da gestação e que
na urina de mulheres não grávidas, residentes na mesma re
gião, a concentração de fluoreto eliminado pela urina era
próxima ao ingerido, fato que demonstra a cessão do fluore
to para o feto.

ERICSSON e MALMANAS¹² (1962), utilizando F¹⁸,
chegaram à conclusão de que no sangue fetal, o teor de fluore
reto nunca excedia a 1/4 da concentração do fluoreto no san
gue materno, e que em animais, a concentração do fluoreto e
ra sempre inferior no sangue fetal (sempre menor que 1/3)
que no sangue materno.

No entanto, ARMSTRONG e cols.¹ (1970), pesqui
sando o fluoreto no sangue materno e sangue fetal, de huma
nos, encontram teor de fluoreto idêntico para ambos. Com ba
se nos seus achados, afirmaram que a hipótese de que a pla
centa é uma barreira parcial à passagem do fluoreto da mãe
ao feto não é totalmente válida.

Então, uma vez estabelecido que o fluoreto a-
travessa a placenta, tornou-se evidente a preocupação dos
pesquisadores em verificar se este fluoreto que se transfe
re da mãe ao feto traria benefícios aos dentes decíduos.

É administrando fluoreto sob a forma de com
primidos ou na água de beber, ou em condições experimentais

antes, durante e após a gravidez, em seres humanos e animais, FELTMAN¹⁴(1956); FELTMAN E KOSEL¹⁵(1961) e PRICHARD³⁹(1969), concluíram que a ingestão do halogênio, nestas condições, diminui significativamente a incidência de cárie em dentes que sofrem o processo da mineralização durante a vida intra-uterina.

OSBORNE³⁷(1961) e STOOKEY e cols.⁴⁵(1962), no entanto, afirmam que ministração de fluoreto durante o período de gestação, não acarretava redução significativa na incidência de cáries nos referidos dentes.

Outros autores também se preocuparam com os benefícios produzidos pelo fluoreto ingerido pelas mães, residentes em áreas fluoretadas, sobre os dentes decíduos. Assim YUDKIN⁴⁷(1954); BLAYNEY e HILL⁴(1964); TANK e STORVICK⁴⁶(1964), encontraram uma redução significativa da incidência de cárie dentária em dentes decíduos de crianças nascidas de mães residentes nestas áreas.

CARLOS⁶(1964) e HOROWITZ e HEIFETZ²⁶(1967), afirmaram que os benefícios do fluoreto durante o período de gestação, não eram evidentes, no mesmo sentido, KATZ e MUHLER²⁹(1968), afirmaram que o efeito do fluoreto nos dentes decíduos, diminuindo a incidência da cárie dentária, era determinada fundamentalmente pelo fluoreto ingerido pela criança após o seu nascimento.

Em 1965, ZIPKIN e BABEAUX⁴⁸, procuraram ordenar os dados obtidos pelos diversos investigadores que estudaram a passagem transplacentária do fluoreto. "Nos últimos anos, afirmam eles, apesar do aparecimento de um número ra

zoável de trabalhos sobre o metabolismo do fluor, somente referências esporádicas foram feitas a respeito da transferência materna desse íon". Os autores insistem em que a placenta humana acumula fluoreto somente até um certo limite, aumentando a deposição do fluoreto com o evoluir da idade ; o fluoreto que atravessa a placenta é depositado nos tecidos mineralizados dos fetos, em todas as espécies estudadas, ou seja, tanto no ser humano como em animais de laboratório.

A partir daí, e até nossos dias, fazendo um levantamento bibliográfico sobre o metabolismo do fluoreto no esqueleto materno de ratas, fixamo-nos nos trabalhos de ISSÃO²⁷⁻²⁸ (1968, 1973), que foi o autor que até a presente data nos deu maiores informações sobre o trabalho em pauta.

ISSÃO²⁷ (1968) demonstrou que as fêmeas, cujo organismo foi pré-saturado com fluoreto, manifestam capacidade de ceder esse elemento químico para os fetos, superior a daqueles que receberam o halogênio apenas no período de prenhez.

Como verificamos até aqui, a estrutura materna retém parte do fluoreto ingerido, incluindo, consequentemente, na quantidade de fluoreto cedido ao feto.

Em função desta afirmativa ISSÃO²⁸ (1973) verificou o comportamento da fêmea, fecundada ou não, no mecanismo da transferência do fluoreto para o feto, recebendo água fluoretada nas seguintes condições: a) durante toda a experiência; b) apenas durante o período de prenhez; c) apenas até a época do acasalamento. Chegou o autor às seguin-

tes conclusões:

1) A fixação porcental do fluoreto ingerido é menor nas ratas fecundadas e que receberam água fluoretada (50 ppm F) durante toda a experiência.

2) As fêmeas fecundadas e que receberam água fluoretada (50 ppm Fluoreto) até o acasalamento, retém maior quantidade de fluoreto do que as não fecundadas.

3) A prenhez não altera a fixação do fluoreto na fêmea, quando o fluoreto é fornecido através da água de beber (50 ppm Fluoreto) apenas durante o período de gestação.

4) Parece que a excreção e a fixação pela mãe são os principais mecanismos de proteção do feto contra uma sobretaxa de fluoreto.

Após este trabalho, a literatura ao nosso alcance não trata mais do assunto, se é a placenta o fator primordial no fenômeno de regulação da passagem do fluoreto da mãe para o feto ou é a excreção urinária e a fixação óssea pela mãe.

Baseados na revisão bibliográfica, principalmente a que se refere à fixação do fluoreto na mãe, propusemo-nos, no presente trabalho, verificar em que níveis esta fixação ocorre.

Trabalhamos, então, com dois grupos, recebedo água fluoretada em diferentes concentrações, nas seguintes condições:

a) durante toda a experiência;

b) apenas durante a prenhez.

Neste trabalho, especificamente deveremos e
xaminar o teor de fluoreto fixado no fêmur e calota craneaa
na de ratas prenhas.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Material

2.1.1 - Animais

A experiência foi iniciada com ²⁷(41) ani-
mais, ^{após o desmame,} ratos brancos, Rattus norvegicus, var. albinus, Roden
tia Mammalia, da linhagem Wistar, (cada qual) pesando em mé
dia, de 30 a 40 gramas, divididos em 27 fêmeas (e 14 machos.)
Levando-se em consideração que a água de abastecimento pú
blico de Piracicaba é fluoretada com um teor de 0,8 ppm, to
mamos o cuidado de utilizarmos estes animais que são prove
nientes de duas gerações anteriores, que somente receberam
água de um nascente natural de uso público, que continha um
teor de 0,17 ppm de fluoreto, quantidade esta bem abaixo da
água de abastecimento da cidade. Nestas condições, procura
mos obter animais que consideramos ~~ideais~~, para o desenvol
vimento da nossa pesquisa.
os melhores

Grupo I - Controle - 3(tres) animais, que
praticamente não receberam
fluoreto.

Grupo II - 12 (doze) animais, que recebe
ram água fluoretada durante to
da a experiência. ^{desde o} *início da*
experiência) * *Tempo!*

Grupo III- 12 (doze) animais, que receberam água fluoretada apenas durante o período de prenhez. Destes 10 foram utilizados para a determinação do fluoreto.

Os grupos II e III foram subdivididos em sub-grupos, assim distribuídos:-

Sub-grupo II-A - 3 (tres) animais, que receberam água (fluoretada) com 10 ppm de fluoreto durante toda a experiência.

Sub-grupo II-B - 3 (tres) animais, que receberam água (fluoretada) com 25 ppm de fluoreto durante toda a experiência.

Sub-grupo II-C - 3 (tres) animais, que receberam água fluoretada com 50 ppm de fluoreto durante toda a experiência.

Sub-grupo II-D - 3 (tres) animais, que receberam água fluoretada com 75 ppm de fluoreto durante toda a experiência.

Sub-grupo III-A- 3 (tres) animais, que recebe-

ram água fluoretada com 10ppm de fluoreto somente durante a prenhez.

Sub-grupo III-B - 3 (tres) animais, que receberam água fluoretada com 25ppm de fluoreto somente durante a prenhez. Destes somente 2 (dois) foram utilizados

Sub-grupo III-C - 3 (tres) animais, que receberam água fluoretada com 50ppm de fluoreto somente durante a prenhez. Destes somente 2 (dois) foram utilizados

Sub-grupo III-D - 3 (tres) animais, que receberam água fluoretada com 75ppm de fluoreto somente durante a prenhez.

As fêmeas foram distribuidas, em gaiolas numeradas, que permitiram o controle do consumo de ração e de água.

A identificação dos animais de cada gaiola foi feita através de perfuração nas orelhas, conduta esta que permitiu a individualização dos animais durante toda a experiência.

O controle do peso dos animais foi feito sema-

nalmente, num dia pré-determinado, sempre no período da manhã.

Os machos e as fêmeas foram mantidos separados até estas alcançarem a plenitude do crescimento somático.

Quando as fêmeas atingiram este crescimento, os machos foram colocados nas gaiolas, sendo que se colocou 2 (dois) machos em cada gaiola e ^{com as 4 fêmeas} aí mantidos durante 12 (doze) dias, sendo que a cada 2 (dois) dias eles eram remanejados entre si.

Estes machos até aqui, nunca haviam ingerido fluoreto e só o fizeram durante o período de acasalamento nos grupos II e III.

2.1.2 - Ração

Em nossa experiência utilizamos uma ração comercial composta de:-

Proteína Bruta	14 a 20%
Estrato Estéreo	3 a 5%
Fibras	14 a 18%
Minerais (máximo)	7,5%
Cálcio (máximo)	1,8%
Fosforo (mínimo)	0,7%
Umidade (máxima)	12%

Enriquecimento por quilo:-

Sais Minerais	150 mg
---------------------	--------

(Mn, 80 mg; Zn, 33 mg; Fe, 40 mg; Cu, 10 mg; I; Na; O; Se, 0,09 mg).

Vitamina A	5000 UI
Vitamina C	1 g
Vitamina D ₃	1000 UI
Etoxiguim	0,8 g

Tendo em vista o tipo de experimento desenvolvido, a cada nova partida de ração, foi determinado o teor de fluoreto, que demonstrou ser constante a nível de 0,34 ppm de fluoreto.

2.1.3 - Água fluoretada

Em nossa experiência, utilizamos cinco concentrações diferentes de fluoreto na água a saber:

2.1.3.1- Água de uma nascente natural de uso público, com um teor de fluoreto de cerca de 0,17 ppm (controle).

2.1.3.2- Água fluoretada contendo 10ppm de fluoreto. Dissolvemos 108,8 mg de fluoreto de sódio em 5 litros de água da nascente.

2.1.3.3- Água fluoretada contendo 25ppm de fluoreto. Dissolvemos 274,4 mg de fluoreto de sódio em 5 litros de água da nascente.

2.1.3.4- Água fluoretada contendo 50ppm

de fluoreto. Dissolvemos 550,7 mg de fluoreto de sódio em 5 litros de água da nascente.

2.1.3.5- Água fluoretada contendo 75 ppm de fluoreto. Dissolvemos 827 mg de fluoreto de sódio em 5 litros de água da nascente.

As concentrações de 10, 25, 50 e 75 ppm foram preparadas, levando-se em conta a quantidade de 0,17 ppm já existente na água utilizada.

Para todos os grupos a água foi oferecida "ad libitum". O controle do volume de água ingerida pelos animais foi feito em dias alternados.

2.2 - Métodos

2.2.1 - Preparo das amostras para análises

Após o nascimento, ^{as filhotes} as ratas foram sacrificadas com traumatismo craneano, quando então foram retirados de cada uma delas, um dos fêmur e a calota craneana.

Este material foi colocado em estufas a 100°C, durante 48 horas, para que tivéssemos uma desidratação completa. (OSER,³⁸1965).

Após este período, o material foi triturado e colocado em dessecadores a vácuo para análises posteriores.

2.2.2 - Determinação de Fluoreto

Utilizou-se basicamente o procedimento de McCANN³⁴ (1968).

Assim, amostras em duplicatas de 40,0 mg de pó de fêmur e calota foram desmineralizados em ácido perclórico 0,5 M, durante 1 (uma) hora em tubos plásticos, após o que neutralizou-se com citrato de sódio 0,5 M e fez-se a leitura potenciométrica. As leituras obtidas foram interpoladas em uma curva de calibração elaborada a partir de soluções de fluoreto de sódio em ácido perclórico 0,1 M e citrato 0,4 M, contendo de 0,1 a 20,0 ppm de fluoreto.

Para tais determinações empregou-se um potenciometro digital 701 da Orion, munido de um eletrodo 94-09A da mesma firma.

3 - RESULTADOS

Na tabela 1 estão expressos os dados relativos ao consumo médio, por animal, de ração, água e fluoreto, durante todo o experimento e apenas durante o período de prenhez nos diferentes grupos experimentais e respectivos sub-grupos.

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 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*	II-A 10 ppm F	3.927,0	3.112,77	32,45	622,0	562,91	5,83
	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*	III-A 10 ppm F	3.663,2	2.959,3 <i>12.358,13</i>	5,94 <i>7,25</i>	559,9	561,17	5,80
	III-B 25 ppm F	3.380,7	2.618,8	13,59 <i>14,80</i>	497,1	532,67	13,47
	III-C 50 ppm F	3.762,0	2.567,5	24,83 <i>26,15</i>	525,8	490,50	24,69
	III-D 75 ppm F	3.877,6	2.937,83	41,96 <i>43,35</i>	516,0	555,33	41,81

* Animais controle

** Animais que tomaram fluoreto durante toda experiência

*** Animais que tomaram fluoreto apenas durante a prenhez

$$3.663,2 \times 0,34 =$$

$$2.959,3 \times 0,17 =$$

Na tabela 2, estão expressas as relações de proporcionalidade da quantidade média de fluoreto ingerida por rata, durante toda a experiência e durante o período de prenhez em função dos diferentes grupos experimentais e respectivos sub-grupos.

TABELA 2 - Relação de proporcionalidade da quantidade média de fluoreto ingerida por rata, durante toda experiência e durante o período de prenhez em função dos diferentes grupos experimentais e respectivos sub-grupos.

Grupos	Sub-grupos	Durante toda experiência	Durante o período de prenhez
I X II	I X II-A	1:18,60	1:21,59
	I X II-B	1:52,72	1:56,63
	I X II-C	1:65,47	1:108,22
	I X II-D	1:105,00	1:162,30
I X III	I X III-A	1:3,41	1:21,48
	I X III-B	1:7,81	1:49,89
	I X III-C	1:14,27	1:91,44
	I X III-D	1:24,11	1:154,85
III X II	III-A X II-A	1:5,46	1:1,01
	III-B X II-B	1:6,75	1:1,14
	III-C X II-C	1:4,59	1:1,18
	III-D X II-D	1:4,35	1:1,05

Grupo I - Animais controle

Grupo II - Animais que tomaram fluoreto durante toda experiência

Grupo III - Animais que tomaram fluoreto apenas durante a prenhez

375
A

Nos gráficos de números 1 a 3 apresentamos a curva de crescimento dos animais desde o início do experimento até a época do acasalamento.

No gráfico nº 1 está expressa a curva de crescimento médio dos animais do grupo I.

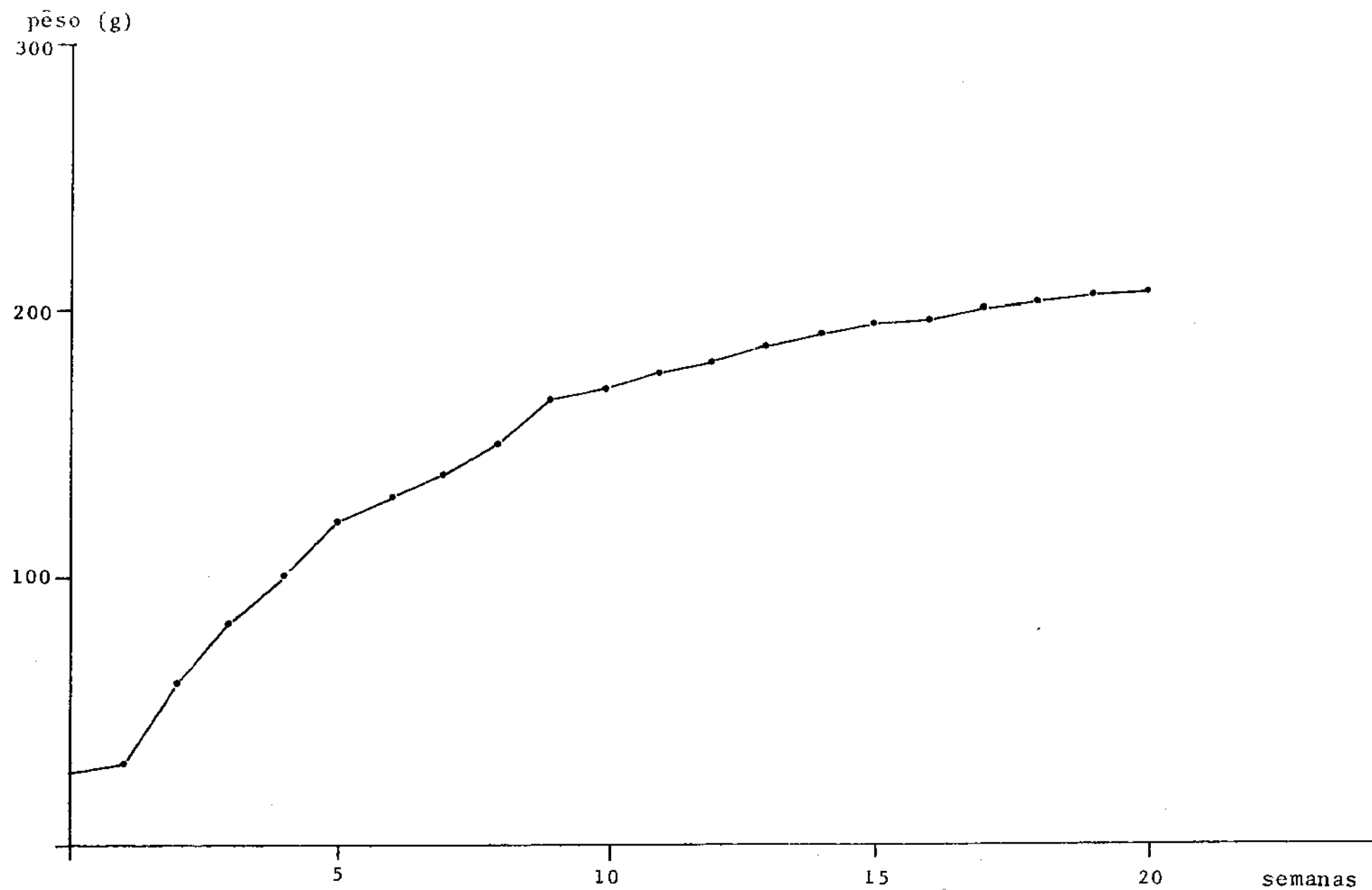


GRÁFICO 1 - Ganho médio de peso das ratas do Grupo I, desde o início da experiência até a época do acasalamento.

curva de crescimento -

No gráfico 2, apresentamos a curva de crescimento médio dos animais do Grupo II, com seus respectivos sub-grupos, e que receberam água fluoretada durante todo o experimento.

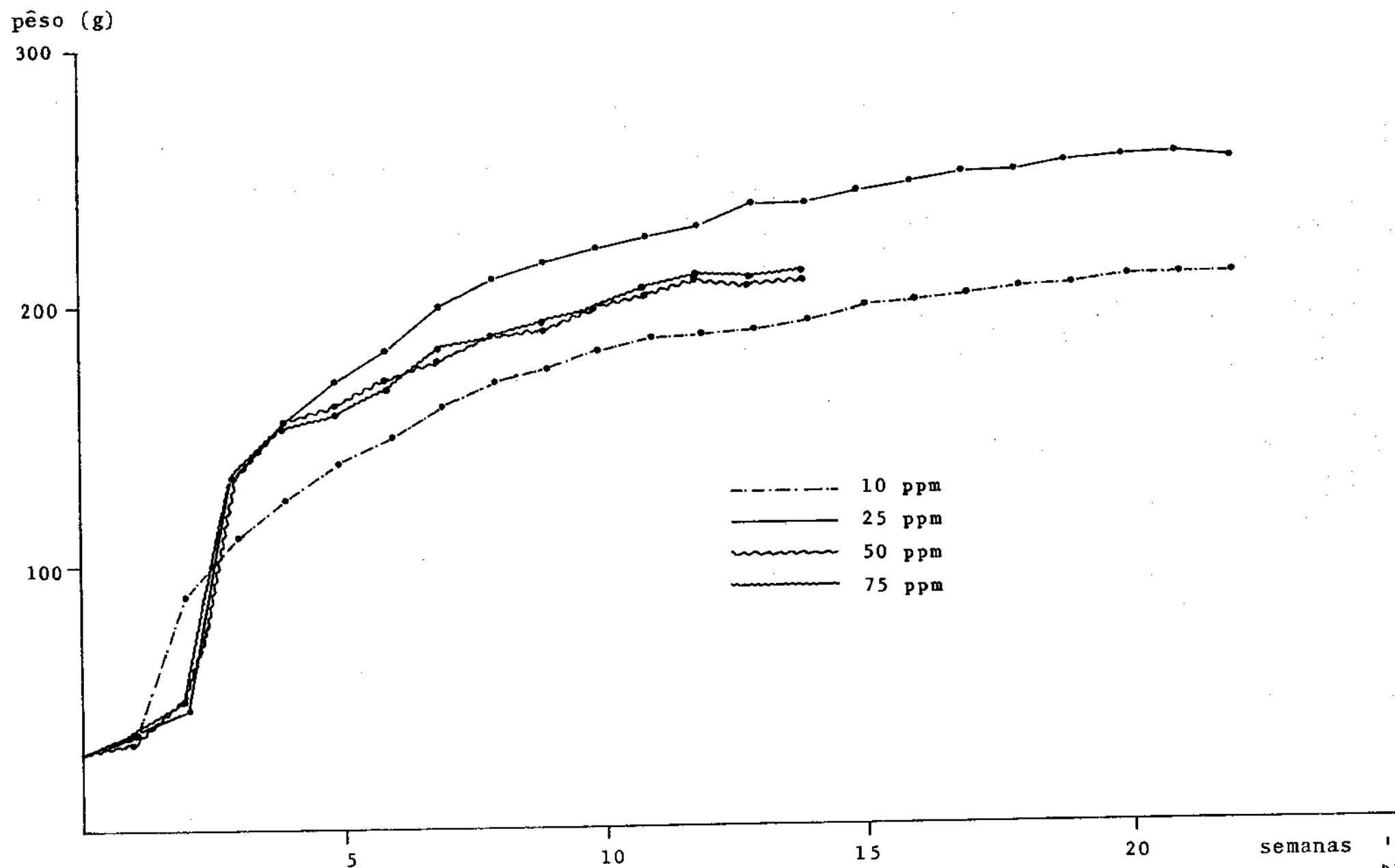
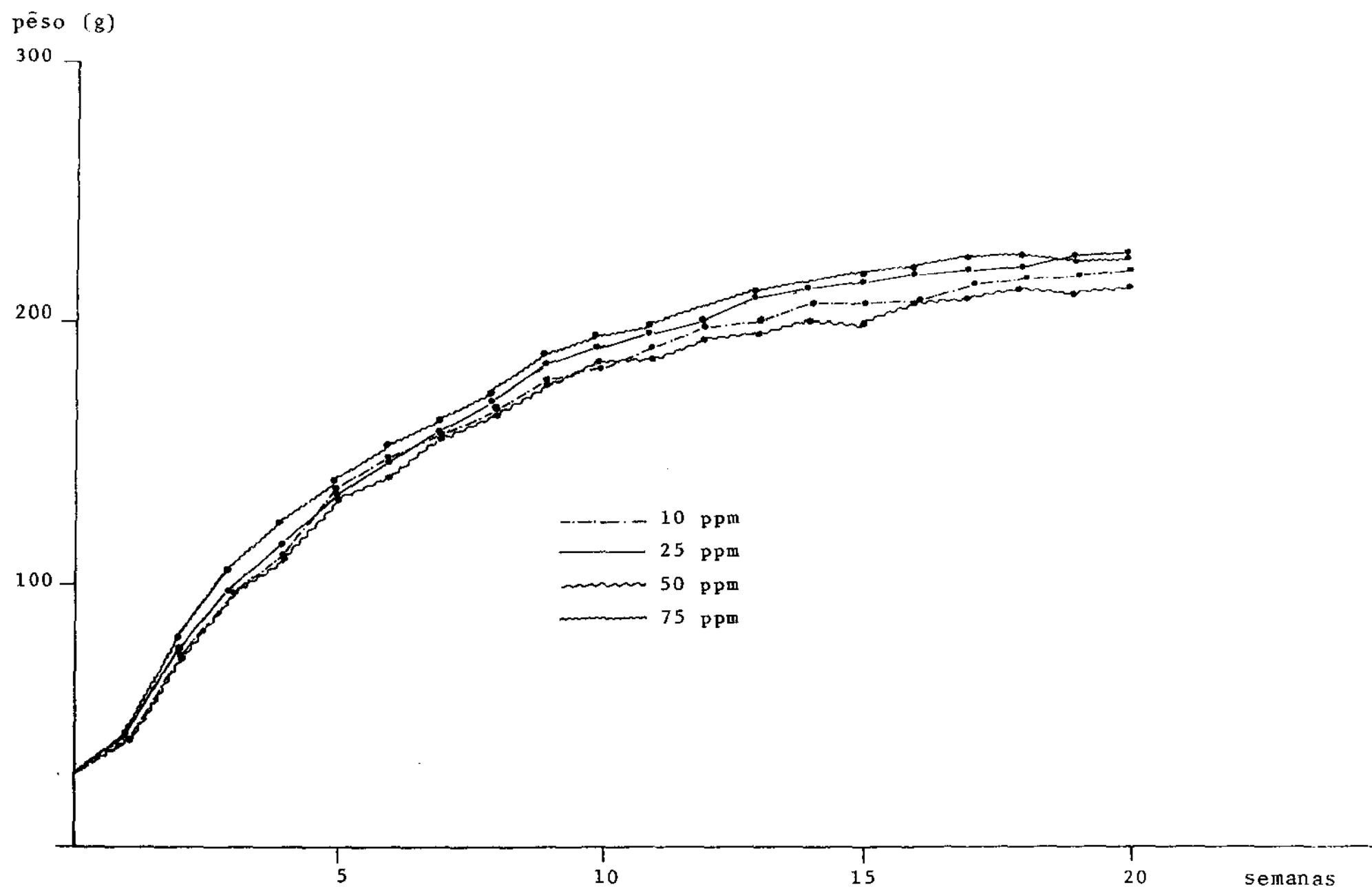


GRÁFICO 2 - Ganho médio de pêso das ratas do Grupo II e respectivos sub-grupos, desde o início da experiência até a época do acasalamento.

No gráfico 3, apresentamos a curva de crescimento médio dos animais do grupo III, com seus respectivos sub-grupos, que receberam água fluoretada somente durante o período de prenhez.



Na tabela 3 apresentamos os dados relativos à concentração de fluoreto expressa em ppm, nos femures e calotas, assim como a sua média, nos diferentes grupos experimentais e respectivos sub-grupos.

TABELA 3 - Concentração média de fluoreto em ppm, em femures e calotas, assim como sua média em função dos grupos experimentais e respectivos sub-grupos.

GRUPO	OSSOS	Femures (ppm)	Calotas (ppm)	Média Ambos (ppm)
	SUB GRUPO			
I	-	341,2	359,9	350,5
II	II-A	787,5	732,5	760,0
	II-B	1.287,5	1.404,1	1.345,8
	II-C	1.758,3	1.687,5	1.722,9
	II-D	2.595,0	2.256,2	2.425,6
III	III-A	349,5	478,3	413,9
	III-B	454,3	519,3	486,8
	III-C	668,7	806,2	737,4
	III-D	979,1	1.050,0	1.014,5

Grupo I - Animais controle

Grupo II - Animais que tomaram fluoreto durante toda experiência

Grupo III - Animais que tomaram fluoreto apenas durante a prenhez

Na tabela 4, estão expressas as relações de proporcionalidade, da quantidade média de fluoreto fixado em fêmur, calota e em ambos, em função dos diferentes grupos experimentais e respectivos sub-grupos.

TABELA 4 - Relação de proporcionalidade da quantidade média de fluoreto fixado em fêmur, calota e em ambos, em função dos diferentes grupos experimentais e respectivos sub-grupos.

GRUPOS	SUB-GRUPOS	Fêmur	Calota	Ambos
I X II	I X II-A	1:2,34	1:2,03	1:2,17
	I X II-B	1:3,78	1:3,90	1:3,84
	I X II-C	1:5,15	1:4,69	1:4,92
	I X II-D	1:7,60	1:6,30	1:6,92
I X III	I X III-A	1:1,03	1:1,33	1:1,18
	I X III-B	1:1,33	1:1,44	1:1,39
	I X III-C	1:1,96	1:2,24	1:2,10
	I X III-D	1:2,87	1:2,92	1:2,89
III X II	III-A X II-A	1:2,25	1:1,53	1:1,84
	III-B X II-B	1:2,83	1:2,70	1:2,77
	III-C X II-C	1:2,63	1:2,09	1:2,34
	III-D X II-D	1:2,65	1:2,15	1:2,39

Grupo I - Animais controle

Grupo II - Animais que tomaram fluoreto durante toda experiência

Grupo III - Animais que tomaram fluoreto apenas durante a prenhez

4 - DISCUSSÃO

Através da revista da *literatura* bibliografia, conclui-
mos ser o fluoreto um elemento amplamente utilizado como
meio de prevenção da cárie dentária. Assim sendo e cientes
de que este halogênio se fixa nas estruturas duras durante
seu período de mineralização, fica patente a preocupação
dos pesquisadores em estudar a possibilidade do fluoreto se
transferir da mãe para o feto, e se fixarem nos dentes decí-
duos, que sofrem seu processo de mineralização, em grande
parte ainda durante o período prenatal. Desta forma, há evi-
dências substanciais na literatura de que, o fluoreto, pas-
sa da mãe para o feto e se fixa nas suas estruturas duras.

Uma vez estabelecida a possibilidade de
transferência do fluoreto da mãe para o feto, entre outras
preocupações, nos chamou a atenção de qual seria o fator
que regula este fenomeno, pois autores como GARDNER e Cols.¹⁶
(1952); GEDALIA e Cols.¹⁸ (1964); ZIPKIN & BABEAUX⁴⁸ (1965) e
ISSÃO²⁷ (1968), afirmaram que a placenta é uma barreira par-
cial à sua transferência. No entanto, já em 1958, ERICSSON
e ULBERG¹³, demonstraram num interessante trabalho feito
com camundongos prenhas que além da placenta, outras estru-
turas interferem neste fenomeno. Estes autores, injetando i-
sotopo marcado (¹⁸F), evidenciaram que o isotopo se fixava
em maior quantidade nas estruturas esqueléticas maternas, de

pois na placenta e finalmente no feto em crescimento e de senvolvimento.

Em 1973 ISSÃO e ZUCAS²⁸, demonstram que, a administração de fluoreto a ratas prenhas e não prenhas, em diferentes condições experimentais, ocorre uma maior fixação do fluoreto, nas prenhas, quando comparadas com as não prenhas. Com base em seus achados, este autor levanta a hipótese de que a fixação materna é um mecanismo importante a ser considerado, no fenomeno da passagem do fluoreto da mãe para o feto.

Tendo em vista os trabalhos citados, planeja mos o nosso no sentido de estudar o comportamento de fêmu res e calotas de ratas prenhas submetidos a diferentes concentrações de fluoreto.

Face ao tipo de trabalho desenvolvido, houve uma preocupação no sentido de se estabelecer a curva de crescimento médio dos animais dos diferentes grupos experimentais. Esta preocupação foi dirigida no sentido de que sômente após o "platô" nos gráficos de crescimento os animais foram acasalados e para o Grupo III começou-se a administrar o fluoreto. Se tal não fosse efetuado, estando os animais do Grupo III em fase de crescimento, o mesmo poderia determinar alteração, quando das comparações entre os três grupos experimentais. Assim os gráficos de números 1, 2 e 3, nos mostra uma similaridade de crescimento de todos os animais nos grupos experimentais e respectivos sub-grupos, assim como o platô indicativo da estabilização de crescimen to.

Na tabela 1 apresentamos os dados relativos ao consumo médio, por ratas dos diferentes grupos experimentais de ração, água e fluoreto. O exame desta tabela nos mostra que o consumo médio ração e água, em todos os grupos não são discrepantes. O controle do consumo de ração e água tornou-se importante ao trabalho, pois baseado nele é que, em parte, foi estabelecido o consumo de fluoreto. Em síntese, para o cálculo da quantidade média de fluoreto ingerido pelos animais dos grupos II e III, tivemos que acrescentar, quando necessário, a quantidade de fluoreto ingerido pelos animais, provenientes da água e da ração. Já o fluoreto ingerido pelos animais do Grupo I (controle) foi proveniente da água e da ração.

Pela tabela 2 podemos verificar que a quantidade de fluoreto ingerido pelos três grupos experimentais, durante o período de prenhez apresenta dados interessantes, que cremos, merecem algumas considerações. O confronto entre o Grupo I e Grupo II, pelos seus respectivos sub-grupos, nos mostra uma relação de proporcionalidade de ingestão de fluoreto, durante o período de prenhez de 1 para o Grupo I contra 21,59 do sub-grupo II-A; contra 56,63 do sub-grupo II-B; contra 108,22 do sub-grupo II-C e contra 162,30 do sub-grupo II-D. Já o confronto entre o Grupo I contra os sub-grupos III, nos mostra uma proporcionalidade semelhante ao do Grupo II contra o Grupo I, ocorrendo no entanto uma ligeira predominância dos sub-grupos III, o que pode ser comprovado quando testamos a relação de proporcionalidade entre os sub-grupos II e III. Neste particular podemos veri

ficar que o confronto entre o sub-grupo III-A X sub-grupo II-A as relações de proporcionalidade de consumo do fluoreto durante o período de prenhez é de 1:1,01; para o sub-grupo III-B X II-B uma relação de 1:1,14; para o sub-grupo III-C X II-C de 1:1,18 e para os sub-grupos III-D X II-D de 1:1,05. Estes dados evidenciaram que a diferença de consumo é mínima entre estes dois sub-grupos.

Assim se acreditarmos que o consumo de fluoreto durante o período de prenhez entre os animais do Grupo II e III são praticamente iguais, devemos entender também que as diferenças encontradas nos ossos desses animais estão vinculados a quantidades diferentes de fluoreto ingerido antes deste período.

Desta forma a quantidade de fluoreto ingerido pelos diferentes grupos experimentais durante todo experimento dos animais passa a ser importante para tentar entender uma maior fixação do fluoreto em fêmures e calotas dos animais dos diferentes grupos experimentais. A tabela 2 nos mostra que o confronto entre o grupo controle e os sub-grupos do Grupo II apresentam uma relação de proporcionalidade de ingestão de fluoreto, durante todo experimento de 1:18,6; 1:52,72; 1:65,47 e 1:105,00 respectivamente para o Grupo I contra os sub-grupos II-A, II-B, II-C e II-D e de 1:3,41; 1:7,81; 1:14,27 e 1:24,11, para o grupo controle contra os sub-grupos III-A, III-B, III-C e III-D, respectivamente.

Já o confronto entre os sub-grupos III X subgrupos II nos mostra que os animais do sub-grupo II (animais que tomaram o fluoreto durante todo o experimento) ingeri-

riram em média cerca de 5,3 vezes mais, ou seja, uma relação de proporcionalidade de 1:5,46; 1:6,75; 1:4,59 e 1:4,35 respectivamente para os sub-grupos III-A, III-B, III-C e III-D contra II-A, II-B, II-C e II-D.

Cientes de que a quantidade de fluoreto ingerido pelos animais dos sub-grupos II e sub-grupos III apresentam uma relação de proporcionalidade média de 1,09X 1,00 e que a ingestão do fluoreto durante todo o experimento, apresenta uma relação de proporcionalidade média de 5,3:1,00 para os sub-grupos II e III respectivamente podemos agora passar para a análise das tabelas seguintes.

Nas tabelas 3 e 4, são apresentados os dados relativos à quantidade (em ppm) de fluoretos fixados nos fêmures e calotas dos animais dos diferentes grupos experimentais, assim como sua relação de proporcionalidade. Estas tabelas nos mostram que aquela relação de proporcionalidade de ingestão de fluoreto, durante o período de prenhez entre os Grupos I X Grupo II, Grupo I X Grupo III e Grupo III X Grupo II não são mantidas quando se verifica o teor de fluoreto fixado nos ossos maternos.

Assim, pela tabela 3 podemos verificar que os animais do Grupo II, pelos seus respectivos sub-grupos, apresentam um teor de fluoreto muito superior aos dos sub-grupos III e grupo I tanto nos fêmures como nas calotas. Se formos agora à tabela 4, podemos verificar que o confronto do teor de fluoreto fixado nos fêmures dos animais do Grupo I contra os dos sub-grupos II-A, II-B, II-C e II-D a relação de proporcionalidade é de 1:2,34; 1:3,78; 1:5,15 e

1:7,60, e para as calotas de 1:2,03; 1:3,90; 1:4,69 e 1:6,30.

Quando confrontamos os animais do Grupo I contra os dos sub-grupos III podemos verificar que a relação de proporcionalidade nos fêmures é de 1:1,03; 1:1,33; 1:1,96 e 1:2,87 e nas calotas de 1:1,33; 1:1,44; 1:2,24 e 1:2,9, respectivamente para o Grupo I contra os sub-grupos-III-A, III-B, III-C e III-D.

Já o confronto entre os sub-grupos III contra os sub-grupos II podemos verificar que esta relação nos fêmures é de 1:2,25; 1:2,83; 1:2,63 e 1:2,65 e nas calotas de 1:1,53; 1:2,70; 1:2,09 e 1:2,15 respectivamente para os sub-grupos III-A X II-A, III-B X II-B, III-C X II-C e III-D X II-D.

Pelo descrito podemos verificar que as calotas dos Grupos I e III tendem a fixar, ligeiramente mais fluoreto que os fêmures pois no grupo controle o teor de fluoreto fixado nos fêmures é de 341,2 ppm contra 359,9 ppm de fluoreto da calota e a relação de proporcionalidade média entre o Grupo I e sub-grupos II é de 1,98 para a calota contra 1,79 dos fêmures.

No entanto, pela tabela 3 e 4 podemos verificar que nos animais que tomaram fluoreto durante todo o experimento os fêmures apresentam uma maior capacidade de fixar o fluoreto, tanto que a concentração em ppm é maior em 3 dos sub-grupos estudados nos fêmures quando comparados com as calotas e a relação de proporcionalidade média entre o Grupo I e sub-grupos II é de 4,71 para os fêmures de 4,23

para as calotas.

Este fato nos leva a aduzir que naqueles ca
sos de ratas prenhas, cujo organismo já está pré saturado
com o fluoreto os fêmures apresentam uma capacidade de fixa
ção de fluoreto aumentado, maior que o da calota. Assim sen
do, os ossos longos seriam fatores ponderáveis a influir no
fenomeno da passagem de sobre taxa do fluoreto da mãe para
o feto mais que a calota, tanto que se confrontarmos as re
lações de proporcionalidades entre os sub-grupos III X II
podemos verificar que a média de proporcionalidade para os
fêmures é de 1:2,59 e das calotas é 1:2,11.

Agora, se relacionarmos a quantidade de fluore
to ingerido pelos animais dos diferentes grupos experimenta
is, antes da prenhez e durante ela, com os teores de fluore
tos encontrados dos fêmures e calotas destas ratas pre-
nhas, podemos estabelecer algumas considerações.

Assim, podemos verificar pelo descrito que a
quantidade de fluoreto ingerido pelos animais dos sub-grupo
s II e sub-grupo III, durante o período de prenhez é i-
dentico ou seja uma relação de 1,09 para os sub-grupos II e
1:00 dos sub-grupos III. No entanto ao analisarmos o teor
de fluoreto fixado nos fêmures e calotas dos sub-grupos II
e III, podemos verificar que o teor de fluoreto encontrado
nos ossos dos animais do sub-grupo II são bem maiores que
os dos respectivos sub-grupos do Grupo III, fato este que,
uma vez mais confirma, a acertiva de que os ossos tem um pode
er cumulativo em fixarem os fluoretos.

5 - CONCLUSÕES

Com base na metodologia empregada e nos resultados obtidos podemos concluir que:-

- 1 - Não houve diferença no crescimento dos animaís, tanto do Grupo I, como dos Gru-pos II e III, em que foram administrados fluoretos em concentrações que variaram de 10 a 75 ppm;
- 2 - Nos animais dos Grupos I e III a calota apresenta uma maior tendência de fixação de fluoreto que os fêmures;
- 3 - Os fêmures naqueles animais que recebe-ram fluoreto desde o início do experimento (Grupo II), apresentam uma capacidade maior de fixação de fluoreto, nos dando um indicativo que os mesmos tem um papel importante na regulação da passagem de sobre taxa de fluoreto da mãe para o feto; e
- 4 - A quantidade de fluoreto fixado nos fêmures e calotas dos animais do Grupo I são menores que as do Grupo III e estas menores que as do Grupo II, ou seja, quando

administramos fluoreto antes da prenhez, a quantidade de fluoreto fixado nos ós sos é maior que quando se administra o mesmo apenas durante o período de prenhez.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) ARMSTRONG, W.D. & SINGER, I. Placental transfer of fluoride and calcium. Am. J. Obstet. Gynec., 107: 432-4, June 1970.
- 2) 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.
- 3) BIBBY, B.G. Prenatal exposure to fluorine. J. Am. med. Ass., 176:831, June 1961.
- 4) BLAYNEY, J.R. & HILL, I.N. Evanston dental caries study. XXIV. Prenatal fluorides-value of waterborne fluorides during pregnancy. J. Am. dent. Ass., 69(3):291-4, Sept. 1964.
- 5) BURT, B.A. Dietary fluoride, the effect of maternal ingestion on offspring. J. publ. Hlth Dent., 26 (2):234-5, Spring 1966.
- 6) CARLOS, J.P. Prenatal fluorides - are they valuable? J. Am. dent. Res., 69(6):808-9, Dec, 1964.
- 7) CHAVES, M.M. Manual de odontologia sanitária. São Paulo, Fac. Higiene e Saúde Pública da U.S.P.,

1960. v. 1, p. 45, 173.

- 8) DALE, P.P. Prenatal fluorides: the value of fluoride during pregnancy. J. Am. dent. Ass., 68(4): 530-4, Apr. 1964.
- 9) DEAN, H.T. & ARNOLD JUNIOR, F.A. Endemic dental fluorosis or mottled enamel. J. Am. dent. Ass., 30(16):1278-83, Aug. 15, 1943.
- 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) ERICSSON, Y. & HAMMARSTRÖM, L. Mouse placental transfer of F^{18} in comparison with Ca^{45} . Acta odont. scand., 22(5):523-38, Nov. 1964.
- 12) _____ & MALMANÄS, C.L. Placental transfer of fluorine investigated with F^{18} in man and rabbit. Acta obstet. gynec. scand., 41:144-58, 1962.
- 13) _____ & ULLBERG, S. Autoradiographic investigations of the distribution of F^{18} in mice and rats. Acta odont. scand., 16(4):363-74, Dec. 1958.

- 14) FELTMAN, R. Prenatal and postnatal ingestion of fluorides: A progress report. Dent. Dig., 62(8): 353-7, Aug. 1956.
- 15) _____ & KOSEL, G. Prenatal and postnatal ingestion of fluorides: fourteen years of investigation - Final report. J. dent. Med., 16(4):190-9 Oct. 1961.
- 16) GARDNER, D.E.; SMITH, F.A.; HODGE, H.C.; OVERTON, D. E.; FELTMAN, R. The fluoride content of placental tissue as related to the fluoride content of drinking water. Science, 115:208-9, Feb. 1952.
- 17) GEDALIA, I.; BRZEZINSKI, A.; BERCOVICI, B.; LAZAROV Z. Placental transfer of fluorine in the human fetus. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 106:147-9, Jan. 1961.
- 18) _____; _____; ZUKERMAN, H.; MAYERSDORF, A. Placental transfer of fluoride in the human fetus at low and high F - intake. J. dent. Res., 43(5):669-71, Sep./Oct. 1964.
- 19) _____; _____; BERCOVICI, B. Urinary fluorine levels in women during pregnancy and after delivery. J. dent. Res., 38(3):548-51, May/June 1959.

- 20) GEDALIA, I.; ZUKERMAN, H.; LEVENTHAL, H. Fluoride content of teeth and bones of human fetuses: in areas with about 1 ppm of fluorides in drinking water. J. Am. dent. Ass., 71(5):1121-3, Nov. 1965.
- 21) GOLLA, R.S. & ISSÃO, M. Prevalência de cárie dentária em arcos dos tipos I e II (Estudo comparativo). Revta Fac. Odont. Univ. S. Paulo, 15(1) : 101-10, jan./jun. 1977.
- 22) GULZOW, H.J. Die karies in Milchgebib. Dt. zahnärztl. Z., 23(12):1203-7, Dec. 1968. (Resumo).
- 23) HENNON, D.K.; STOOKEY, G.K.; MUHLER, J.C. Prevalence and distribution of dental caries in preschool children. J. Am. dent. Ass., 79(6): 1405-14, Dec. 1969.
- 24) HIRATA, J.M.; BERGAMASCHI, O.; OLIVEIRA FILHO, A.; DAMICO, L.A.; MARTINS, C.A.; OLIVEIRA, L.B.; ANDO, T. Estudo de prevalência de cárie em crianças indígenas do Parque Nacional do Xingu. Revta Fac. Odont. Univ. S. Paulo, 15(2):189-98, jul./dez. 1977.
- 25) HOROWITZ, H.S. & HEIFETZ, S.B. Effects of prenatal exposure to fluoridation on dental caries. Publ.

Hlth Rep. Wash., 82:297-304, Apr. 1967.

- 26) HUDSON, J.T. The pacental transfer of fluoride in the guinea pig. Archs oral Biol., 12(2):237-46, Feb. 1967.
- 27) ISSÃO, M. Passagem transplacentaria do fluor e sua quantificação nas estruturas mineralizadas de ratos recém-nascidos (Rattus norvegicus var. albinus, Rodentia, Mammalia); São Paulo, 1968 47 p. [Tese Doutorado - Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo] .
- 28) _____ & ZUCAS, S.M. Influência do período e tempo de ingestão de fluor pela rata na cessão ao rato recém-nascido. Revta Fac. Odont. Univ. S. Paulo, 11(2):299-308, jul./dez. 1973.
- 29) KÄTZ, S. & MUHLER, J.C. Prenatal and postnatal-fluoride and dental caries experience in deciduous teeth. J. Am. dent. Ass., 76(2):305-11, Feb. 1968.
- 30) 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. 1936.
- 31) KRAUS, B.S. Calcification of the human deciduous

teeth. J. Am. dent. Ass., 59(6):1128-36, Dec. 1959.

32) LALLI, P. Incidenza della carie dentale sulla dentatura decidua in bambini dai 3 ai 6 anni di età. Annali Stomat., 16(11):949-54, nov. 1967.

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

34) McCANN, H.G. Determination of fluoride in mineralized tissues using the fluoride ion electrode. Archs oral Biol., 13(4):475-7, Apr. 1968.

35) McCLURE, F.J. & 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.

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

37) OSBORNE, J. The effect of the placental transfer of fluoride on dental caries in the rat. J. dent. Res., 40(4):725, July/Aug. 1961. [Resumo]

- 38) OSER, B.L. Howk's physiological chemistry. 14. ed.
Bombay - New Delhi, McGraw - Hill, 1965. p. 454.
- 39) PRICHARD, J.P. The pre-natal and post-natal effects of fluoride supplements on West Australian school-children, aged 6, 7 and 8, Perth, 1967 .
Aust. dent. J., 14(5):335-8, Oct. 1969.
- 40) PUGLIESI, N.S. & ISSÃO, M. Estudo da prevalência de cárie dentária em molares deciduos em escolas de São Paulo. Revta Fac. Odont. Univ. S.Paulo, 11(2):321-32, jul./dez. 1973.
- 41) RUSSEL, A.L. & WHITE, C.L. Dental cáries in Maryland children after seven years of fluoridation. Publ. Hlth Rep., Wash., 76:1087-93, Dec. 1961.
- 42) SAVARA, B.S. & SUHER, T. Incidence of dental caries in primary teeth in children 2 - 6 years of age. J. dent. Res., 30(4):464, Aug. 1951 (Resumo) .
- 43) SCHOUR, I. & MASSLER, B.S. Studies in tooth development: the growth pattern of human teeth. Part II. J. Am. dent. Ass., 27:1918-31, Dec. 1940.
- 44) SMITH, F.A. Pharmacology of fluorides. Berlin, Springer, 1966. pt¹, p. 93-102.

- 45) STOOKEY, G.K.; OSBORNE, J.; MUHLER, J.C. Effects of pre and post natal fluorides on caries (young animals receive more-carries-preventing fluoride during suckling than during gestation). Dent. Prog., 2(2):137-40, Jan. 1962.
- 46) TANK, G. & STORVICK, C.A. Caries experience of children one to six years old in two Oregon communities (Corvallis and Albany). I. Effect of fluoride on caries experience and eruption of teeth. J. Am. dent. Ass., 69(6):749-57, Dec.1964.
- 47) YUDKIN, E.P.; CZERNIEJEWSKI, J.; BLAYNEY, J.R. Evanston dental caries study. XIII. Preliminary report on comparative fluorine retention in human tissue. J. dent. Res., 33(5):691, Oct.1954. [Resumo] .
- 48) ZIPKIN, I. & BABEAUX, W.L. Maternal transfer of fluoride. J. oral Ther. Pharmacol., 1(6):652-65 May 1965.