

# Efeitos da toxicidade sistêmica produzida pelo flúor: estudo em modelo animal

Alessandra Dutra da Silva  
Andreza Lapis Schinelli  
Carolina Coradini Abascal  
Márcia Kijner  
Sabrina Moure  
Paulo Oliva de Borba

## RESUMO

Este estudo buscou verificar possíveis alterações sistêmicas causadas pelo flúor administrado em diferentes concentrações. Foi utilizado um modelo de estudo animal, no qual foram selecionados 60 *rattus norvegicus*, aleatoriamente divididos em 4 grupos, sendo três grupos testes (receberam água fluoretada nas concentrações de 0,7 ppm F; 1,2 ppm F e 2,0 ppm F), e um grupo controle que recebeu água destilada. Para análise histomorfológica por microscopia óptica, os ratos foram submetidos a dissecação dos seguintes órgãos: intestino alto (duodeno), rim e fígado. Os resultados obtidos após a avaliação descritiva comparativa dos grupos de estudo evidenciaram alterações morfológicas em todos os grupos testes, concluindo, desta forma, que o flúor administrado, nestas concentrações, pode ser tóxico.

**Palavras-chave:** flúor; duodeno; rim; fígado; intoxicação por flúor.

## Effects of systemic toxicity produced by fluoride: *in vivo* study

### ABSTRACT

This study sought to verify possible systemic changes caused by fluoride administered at different concentrations. An animal model was used in which 60 *rattus norvegicus* were randomly divided into 4 groups, with three test groups receiving fluoridated water at the different concentrations (0.7 ppm F, 1.2 ppm F and 2, 0 ppm F), and a control group receiving distilled water. A histomorphological analysis was performed by light microscopy after the dissection of the following rat organs: the large intestine (duodenum), the kidney and the liver. The results obtained after the comparative descriptive evaluation of the study groups showed morphological

---

**Alessandra Dutra da Silva** – Doutora em Patologia Bucal pela UFRGS. Professora da disciplina de Patologia da Universidade Luterana do Brasil – Canoas.

**Andreza Lapis Schinelli** – Especialista em Estomatologia pela ULBRA Canoas.

**Carolina Coradini Abascal** – Mestre em Periodontia pela ULBRA Canoas.

**Márcia Kijner** – Mestre em Patologia Bucal pela UFRGS. Professora da disciplina de Patologia da Universidade Luterana do Brasil – Canoas.

**Sabrina Moure** – Doutora em Estomatologia pela PUCRS. Professora da disciplina de Patologia da Universidade Luterana do Brasil – Canoas.

**Paulo Oliva de Borba** – Doutor em Fisiologia, Farmacologia e Toxicologia. Professor das disciplinas de Odontogeriatría e Fisiologia Bucal da Universidade Luterana do Brasil – Canoas.

**Autor correspondente:** Alessandra Dutra da Silva. Curso de Odontologia. Rua Dona Ondina, Número 242, Complemento 502. CEP: 90850-020. Porto Alegre/RS. Telefone: (55) 9988.6962.

E-mail: dra.alessandradutra@gmail.com

Stomatós	Canoas	Vol. 24	Nº 47	p.6-21	Jul./Dez. 2018
----------	--------	---------	-------	--------	----------------

changes in all the test groups, concluding that the fluoride administered at these concentrations could be toxic.

**Keywords:** fluoride; duodenum; kidney; liver; fluoride poisoning.

## INTRODUÇÃO

O flúor é encontrado em diferentes concentrações na água de abastecimento, nos alimentos, no solo e outros locais. Ele age nos tecidos mineralizados do corpo e o seu uso, quando realizado de forma adequada, traz benefícios para a integridade óssea e dentária (1).

Entretanto, tanto a ingestão excessiva do flúor como a sua ausência são consideradas problemas de saúde pública. O consumo contínuo desta substância pode levar à fluorose dentária, e sua ausência, à cárie dentária. Dessa forma, muitas pesquisas têm sido realizadas com o intuito de avaliar a adequada concentração de flúor na água para consumo humano.

Para prevenção da cárie dentária, a fluoretação das águas de abastecimento é o método sistêmico mais utilizado, tendo sido adotada no Brasil há quatro décadas. Sua dosagem é baseada nas condições climáticas próprias para cada região (2,3,4). Contudo, este é um processo que requer medidas rigorosas de controle para assegurar que a concentração de flúor seja correta e sejam minimizados os efeitos tóxicos desta substância (1, 5, 6).

O comitê especializado em Índices de Saúde Bucal da Organização Mundial da Saúde (OMS), desde 1994, recomendou uma concentração para o flúor na água de abastecimento, em torno de 0.5 a 1.0 ppm F. Contudo, autores reforçam que a América tem uma variação de níveis de flúor mais ampla, entre 0.7 e 1.2 ppm F, podendo chegar ao limite de até 4 ppm F, o que pode induzir a um alto índice de fluorose dentária. (7,8).

A maior absorção de flúor ocorre via trato gastrointestinal. No estômago e no intestino delgado, a passagem se dá de forma passiva, principalmente na forma de HF (Ácido Fluorídrico), sendo que a forma iônica do flúor (F<sup>-</sup>) não consegue atravessar a membrana (9) Segundo William (1991)(10), os compostos muito solúveis são absorvidos rapidamente, já os menos solúveis provocam dificuldades no seu aproveitamento.

Atualmente, todos os dentifrícios são fluoretados, dessa forma, o impacto da fluoretação da água pode não ser o mesmo de há 20 anos atrás. Assim, enquanto para alguns países a fluoretação da água é considerada uma medida dispensável, para outros, onde as condições de higiene bucal são muito ruins, onde o estilo de vida resulta em alta incidência de lesões cáries e onde o acesso a sistemas de tratamento de saúde com bom funcionamento é limitado, a fluoretação da água é, ainda, uma importante medida (2,3,11).

Sabe-se que os métodos tópicos de aplicação de flúor, os quais disponibilizam a presença constante deste na cavidade bucal, são os que atuam de forma eficaz na prevenção e tratamento da doença cárie. Mesmo nos mecanismos de administração sistêmica de

flúor, a ação preventiva somente se dá de forma tópica, pela rápida passagem de flúor na boca (2, 3 12,).

Neste momento, também é importante salientar que, como qualquer substância utilizada fora de suas indicações ou doses, o flúor também pode ser tóxico. O conhecimento sobre os riscos da toxicidade do flúor é que nos permite utilizá-lo de forma segura (4,6).

Acredita-se que durante muito tempo, por uma visão unilateral da Odontologia, focou-se somente em dentes, sendo os efeitos do flúor sistêmico no organismo humano não exaustivamente estudados (13-15). Frente a esta questão, esta pesquisa buscou verificar os efeitos que as concentrações de flúor utilizadas nas águas fluoretadas, causam nos tecidos moles do duodeno, fígado e rim, orientando assim, a escolha de uma concentração ideal em prol da população e do meio odontológico.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo apresenta delineamento experimental em modelo animal e foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais.

Inicialmente, foi realizada a seleção dos ratos, que obedeceram aos seguintes critérios: menos de 5 meses de idade, mesma linhagem genética e com controle de peso corporal. Foram avaliados também os aspectos anatômicos e a qualidade do pelo. A partir de então, foram selecionados 60 *rattus norvegicus*. A seguir, eles foram aleatoriamente divididos em 4 grupos e alojados em jaulas apropriadas para pesquisa no biotério da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA). Os grupos seguiram a seguinte orientação: um grupo controle, que recebeu água sem flúor, e 3 grupos testes, submetidos à ingestão de flúor nas diferentes concentrações de 0,7; 1,2; 2,0 ppm F. Em cada grupo selecionado, havia 4 fêmeas e 1 macho.

As soluções com flúor na água de abastecimento foram administradas durante um período de 8 meses, abrangendo 2 gerações de ratos e obedecendo aos critérios metodológicos já descritos. Três vezes por semana, foram avaliadas a quantidade e qualidade da água a ser repostada, a limpeza das jaulas e dos bebedouros, e a quantidade de ração.

No dia zero, foi feito o preparo das concentrações de flúor mencionadas, e das soluções para os grupos testes. Tais soluções foram administradas às ratas durante sua gestação, por aproximadamente trinta dias e, após o nascimento dos filhotes até o terceiro mês de vida, quando os mesmos foram sacrificados.

No nonagésimo dia, realizou-se a dissecação do intestino delgado alto (duodeno), fígado e rim, para posterior fixação dos mesmos, os quais foram mantidos em formol a 10%, por 15 dias. Após este período, as peças foram tratadas para a confecção de lâminas histológicas, sendo confeccionadas 40 lâminas, coradas por hematoxilina e eosina (HE) no Laboratório de Histologia da ULBRA Canoas/RS.

Foi realizada a análise histomorfológica do duodeno, fígado e rim por meio de uma avaliação descritiva comparativa da morfologia de cada um destes órgãos nos grupos testes comparados ao grupo controle. Os pesquisadores realizaram a observação durante um período de 2 meses. Todos os cortes foram transversais, sendo observados na resolução de 100x e 400x.

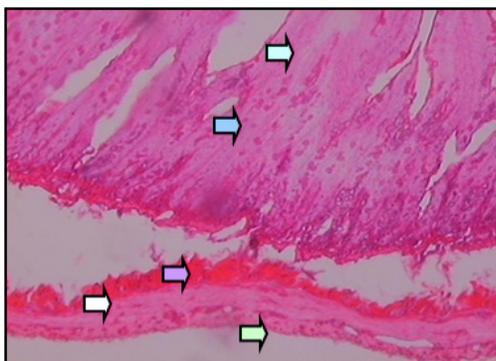
Para a obtenção das 25 fotomicrografias de estudo, foi utilizado um microscópio óptico – Olympus BX – 50, com sistema de captura e análise em *Image Pro Plus*, do Laboratório de Patologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS).

## RESULTADOS

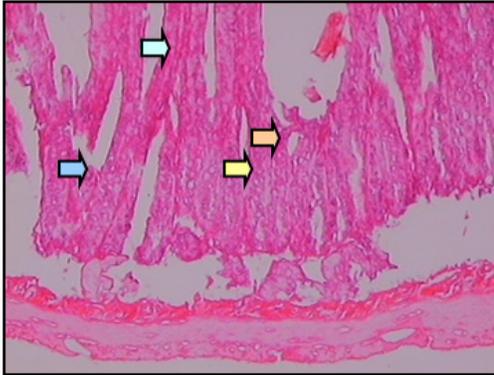
Serão descritos nas figuras abaixo os principais efeitos sistêmicos produzidos pelo flúor nos tecidos moles do duodeno, rim e fígado. No grupo controle do duodeno, é possível visualizar as cinco camadas que o compõem: a serosa, as musculares longitudinal e circular, a submucosa e a mucosa no seu aspecto de normalidade. Nota-se que, na submucosa, os núcleos das células presentes neste tecido conjuntivo são abundantes, bem como que as células caliciformes são pouco visíveis e que não é possível identificar glândulas de Brunner (Figura 1).

Os grupos testes de duodeno que utilizaram concentração de 0,7 e 2,0 ppm F, mostram alterações na submucosa e na mucosa (Figura 2 e 3 respectivamente), quando comparadas com o grupo controle. A Figura 2 evidencia um maior número de células caliciformes e de glândulas de Brunner, que são responsáveis pela produção de muco, na submucosa. Já na Figura 3, nota-se uma certa semelhança com o grupo controle, tendo em vista a ausência de células caliciformes e glândulas de Brunner. As criptas intestinais estão visíveis e com poucos núcleos corados na submucosa.

Na Figura 4, do grupo controle, observa-se que há poucas células caliciformes e glândulas de Brunner na submucosa e, na Figura 5, também do grupo controle, notam-se algumas células caliciformes, que são mais comuns nestas vilosidades.



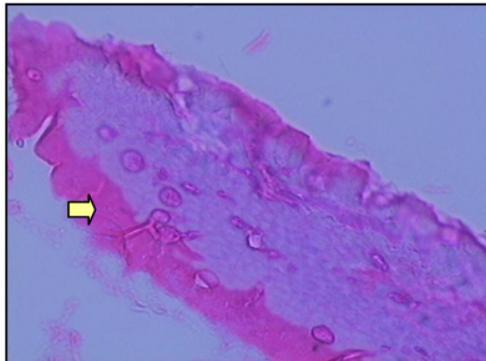
**Figura 1** – Duodeno; grupo controle. Aumento de 100x.



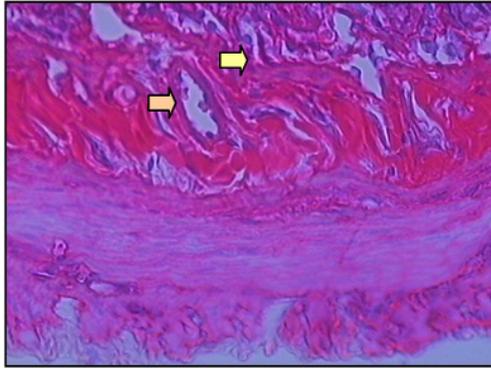
**Figura 2** – Duodeno; grupo 0,7 ppm F. Aumento de 100x.



**Figura 3** – Duodeno; grupo 2,0 ppm F. Aumento de 100x.



**Figura 4** – Duodeno; grupo controle. Aumento de 400x.

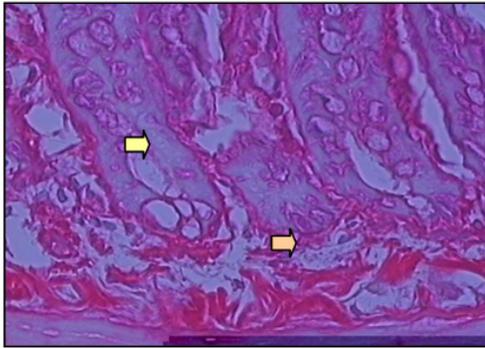


**Figura 5** – Duodeno; grupo controle. Aumento de 400x.

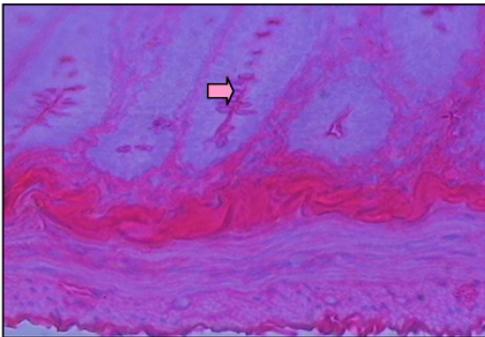
A Figura 6 (grupo teste – 0,7 ppm F) mostra a presença de maior número de células caliciformes e de glândulas de Brunner na submucosa, quando comparadas com o grupo controle. Na Figura 7, é perceptível uma imagem dos enterócitos e da lâmina própria em aspecto normal. Já na Figura 8, observa-se ausência de células caliciformes e de glândulas de Brunner, bem como maior visibilidade das criptas intestinais, com poucos núcleos corados na submucosa. Por fim, na Figura 9 (mesmo grupo), observam-se algumas células caliciformes na vilosidade focada.



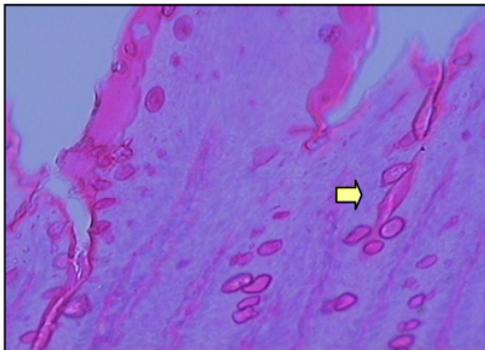
**Figura 6** – Duodeno; grupo 0,7 ppm F. Aumento de 100x.



**Figura 7** – Duodeno; grupo 0,7 ppm F. Aumento de 400x.



**Figura 8** – Duodeno; grupo 2,0 ppm F. Aumento de 100x

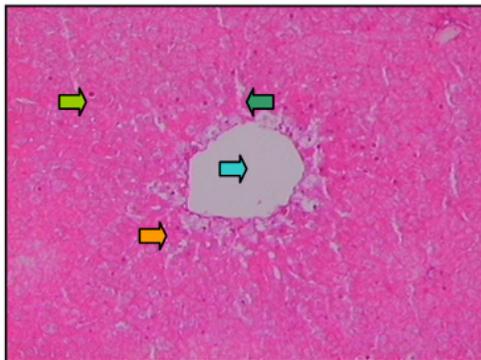


**Figura 9** – Duodeno; grupo 2,0 ppm F. Aumento 400x.

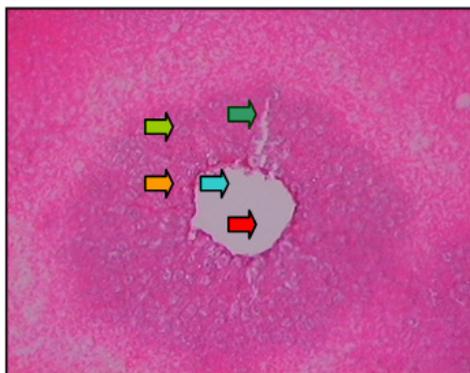
Na Figura 10, é possível observar a normalidade da morfologia do fígado, há um grande número de hepatócitos dispostos uniformemente, concêntricos a veia centrolobular, formando um lóbulo hepático. Os sinusoides aparecem como áreas claras entre os cordões

celulares, que deságuam na parede da veia centrolobular. Esta deve ter, via de regra, um aspecto circular e uma escassez de tecido conjuntivo circundante.

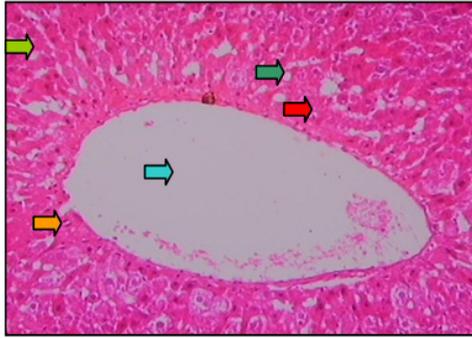
Nas figuras 11, 12, e 13, que são, respectivamente, os grupos testes de 0,7; 1,2 e 2,0 ppm F, nota-se que o aspecto organizacional do lóbulo hepático não é o mesmo, quando comparado frente ao grupo controle, pois existe uma irregularidade nos sinusoides, uma vez que seu espaço está diminuído. O formato da veia centrolobular está irregular, exceto no grupo de 0,7 ppm F e, é possível visualizar uma maior quantidade de tecido conjuntivo ao redor da veia, podendo dificultar o deságuem dos sinusoides. Todos esses aspectos ficam mais acentuados, quanto maior é a concentração do flúor administrado, como mostra a Figura 13.



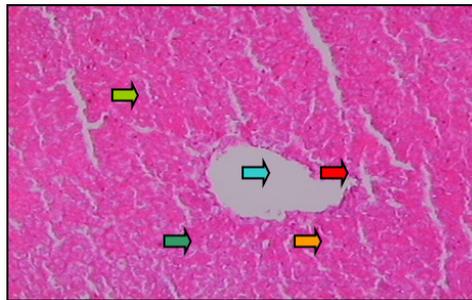
**Figura 10** – Fígado; grupo controle. Aumento de 100x.



**Figura 11** – Fígado; grupo 0,7 ppm F. Aumento de 100x

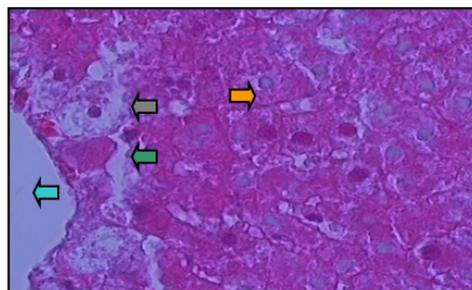


**Figura 12** – Fígado; grupo 1,2 ppm F. Aumento de 100x.

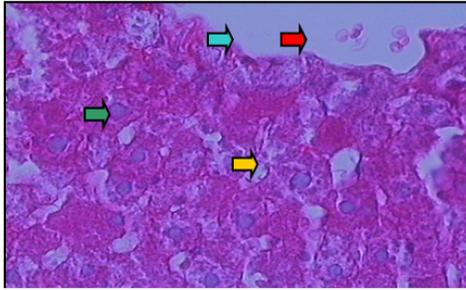


**Figura 13** – Fígado; grupo 2,0 ppm F. Aumento de 100x.

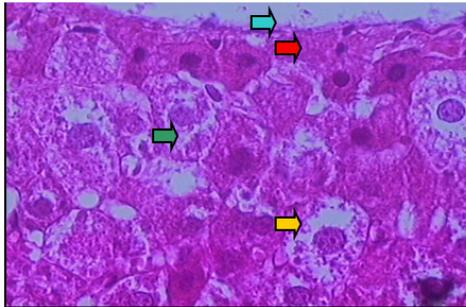
Na sequência, a Figura 14, que focaliza uma parte ao redor da veia centrolobular do grupo controle, demonstra a definição de membrana celular hepatocitária, um espaço normal para os sinusoides, células de K<sub>u</sub>pfer, e aspecto normal ao redor da veia, onde se evidencia o deságue de sinusoides diretamente em sua luz, sem obstrução de tecido conjuntivo. As figuras 15, 16 e 17, que pertencem aos grupos testes, mostram irregularidades dos sinusoides (diminuição de seu espaço), quando comparado ao grupo controle, provocando um enfartamento dos hepatócitos, evidenciado pela ausência de limites entre as células. É possível observar, também, a presença de tecido conjuntivo ao redor da veia centrolobular.



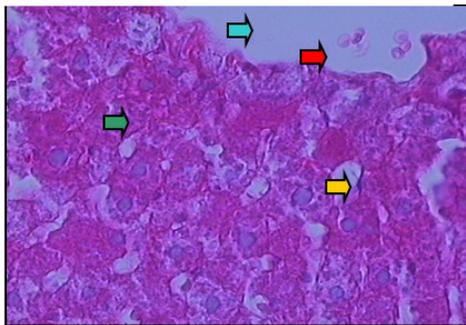
**Figura 14** – Fígado; grupo controle. Aumento de 400x.



**Figura 15** – Fígado; grupo 0,7ppmF. Aumento de 400x.



**Figura 16** – Fígado; grupo 1,2 ppm F. Aumento de 400x.

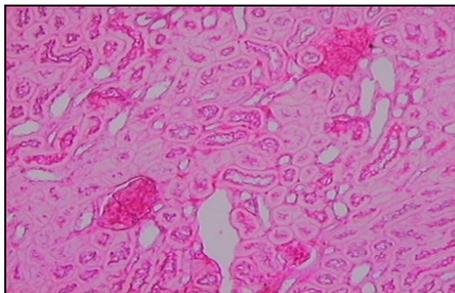


**Figura 17** – Fígado; grupo 2,0 ppm F. Aumento de 400x.

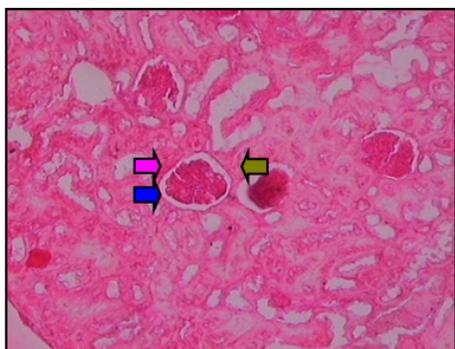
Na Figura 18, que mostra o grupo controle do rim, nota-se o corpúsculo renal em normalidade, a cápsula de Bowman presente e delgada e o glomérulo como uma grande massa celular.

Já nas figuras 19, 20 e 21, dos grupos testes, as estruturas citadas mostram-se alteradas, comparadas com o grupo controle, pois o corpúsculo renal não está regular, há um espessamento da cápsula de Bowman nos grupos de 0,7 e 1,2 ppm F e ausência desta no grupo 2,0 ppm F. A Figura 22, mostra o grupo controle de rim em um aumento

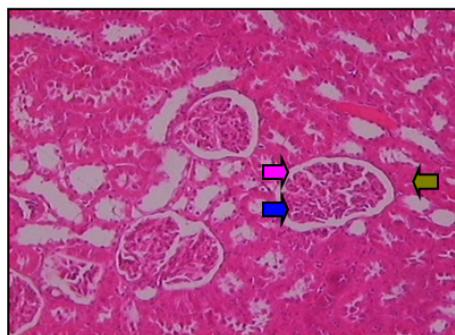
de 400x com aspecto de normalidade, e as figuras 23, 24 e 25, dos grupos testes, mostram as mesmas alterações observadas nos grupos testes em aumento de 100x.



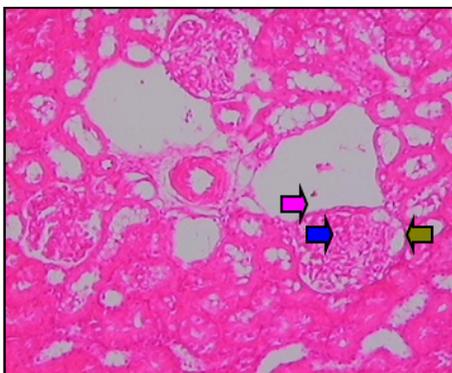
**Figura 18** – Rim; grupo controle. Aumento de 100x.



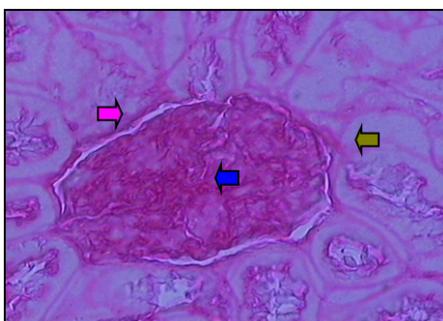
**Figura 19** – Rim; grupo 0,7 ppm F. Aumento de 100x.



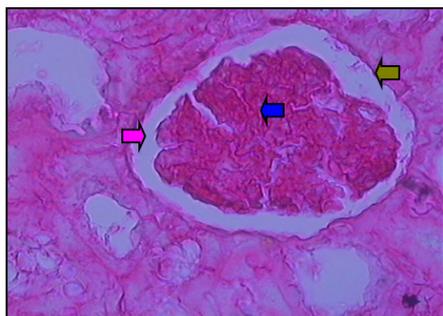
**Figura 20** – Rim; grupo 1,2 ppm F. Aumento de 100x.



**Figura 21** – Rim; 2,0 ppm F. Aumento de 100x.



**Figura 22** – Rim; grupo controle. Aumento de 400x.



**Figura 23** – Rim; 0,7 ppm F. Aumento de 400x.

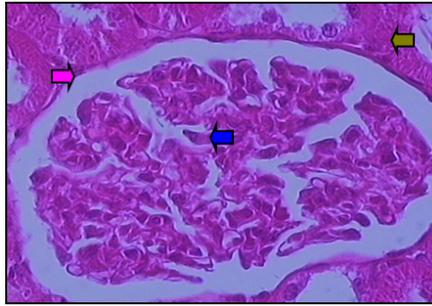


Figura 24 – Rim; grupo 1,2 ppm F. Aumento de 400x.

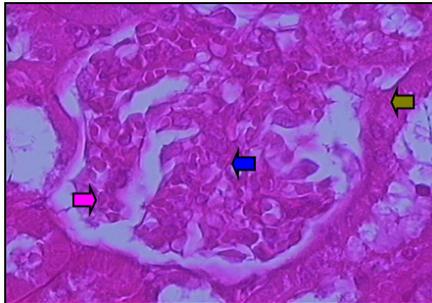


Figura 25 – Rim; grupo 2,0 ppm F. Aumento de 400x.

## LEGENDA

	Camada Muscular Longitudinal
	Camada Muscular Circular
	Submucosa
	Mucosa
	Serosa
	Célula Caliciforme
	Glândulas de Brunner
	Criptas Intestinais
	Vilosidades
	Lâmina Própria
	Enterócito
	Veia Centrolobular
	Sinusoides
	Lóbulo Hepático
	Hepatócito
	Tecido Conjuntivo
	Células de Kupfer
	Glomérulo
	Cápsula de Bowman
	Corpúsculo Renal

## DISCUSSÃO

O objetivo desta pesquisa foi demonstrar, especificamente para a área odontológica, a atividade do flúor, além da cavidade bucal, e seus riscos para outros órgãos. Alguns estudos existentes na literatura já corroboram com os achados encontrados neste trabalho, demonstrando que a atividade do íon flúor provoca efeitos tóxicos a diferentes órgãos (14,16)

Segundo Rigalli, Beinlich, Puche (2001) (17), o fluoreto tem um efeito danoso na mucosa gastroduodenal, levando a sintomas dispépticos, anormalidades na endoscopia e na aparência da microscopia ótica, demonstrando que o uso desta substância deve ser criterioso.

Neste trabalho, os resultados mostraram efeitos de toxicidade provocados pelo flúor nas diferentes concentrações estudadas, em órgãos como o rim, em concordância com os achados de Zhan et al. (2006) (18), o qual mostrou em um modelo *in vivo*, que o fluoreto em variadas doses, pode causar alterações histológicas significativas no rins, como a morte das células renais, resultando na perda de função deste órgão.

Outros autores também demonstraram que a exposição aguda ou crônica da ingestão do flúor pode produzir efeitos nefrotóxicos em processos dependentes de cálcio no tecido renal, incluindo alterações morfológicas no corpúsculo renal e prejuízo de função deste órgão, (14,19), estando de acordo com o observado na análise morfológica do tecido renal neste estudo.

Estudos recentes em modelo animal também têm mostrado efeitos tóxicos, tanto nos tecido renal como hepático, produzidos por baixas e altas doses de fluoreto de sódio na água, num período de 90 dias. Todos os grupos experimentais mostraram alterações arquiteturais severas no fígado e rim, como degeneração vacuolar, hipertrofia hepatocelular e alterações renais como desintegração do epitélio tubular e atrofia dos glomérulos (14, 20, 21), similares aos achados histológicos observados nesta pesquisa, demonstrando uma resposta toxicológica específica destes órgãos decorrente da exposição ao flúor.

Entretanto, faz-se importante salientar que esta pesquisa apresenta algumas limitações em virtude das diferenças fisiológicas observadas nos ratos, quando comparadas aos humanos, o que dificulta a extrapolação clínica dos resultados encontrados. Assim, torna-se necessário a realização de novos estudos clínicos em humanos, com intuito de avaliar a toxicidade do flúor, a fim de estabelecer níveis de segurança para o uso de fluoreto nas águas de abastecimento como uma medida de proteção à saúde humana.

## CONCLUSÕES

Com base nos fundamentos da literatura, e nos resultados mostrados neste estudo, pode-se concluir que o flúor sistêmico, quando usado nas concentrações propostas, pode ser tóxico, pois provoca alterações morfológicas significativas nos diferentes órgãos selecionados.

## REFERÊNCIAS

1. Brito CS, Garbin RR, Mussi A, Rigo L. Monitoring of Fluorine concentration of the public water supply in Passo Fundo City – RS. *Cad. Saúde Colet.*, 2016, **24** (4): 452-459.
2. Fejerskov. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care, *Caries Res* 2004; **38**(3):182–191.
3. Clark MB, Slayton RL. Section on Oral Health. Fluoride use in caries prevention in the primary care setting. Fluoride use in caries prevention in the primary care setting. *Pediatrics*. 2014;**134**(3):626-33
4. Peckham S, Awofeso N. Water fluoridation: a critical review of the physiological effects of ingested fluoride as a public health intervention. *Scientif. World J.* 2014; **26**:20-33.
5. Kramer, PF, Feldens, CA, Romano, AR. Tratamento Não Invasivo. In: *Promoção de Saúde Bucal em Odontopediatria – Diagnóstico, Prevenção e Tratamento da Cárie Oclusal*, São Paulo: Artes Médicas, 1997.
6. Whitford GM. Acute toxicity of ingested fluoride. *Monogr Oral Sci.* 2011;**22**:66-80
7. Sampaio FC, Levy SM. Systemic Fluoride. *Monogr Oral Sci.* Basel, Karger, 2011; **22**:133–145.
8. Martins CC, Pinheiro NR, Paiva SM. Perfil de Crianças Portadoras de Fluorose Dentária Quanto às Diversas Formas de Acesso ao Flúor. *J Bras. Pediat e Odontol do Bebê* 2002; **5**(27):396-402, 2002.
9. Angelillo IF. Caries and Fluorosis Prevalence in Communities with Different Concentrations of Fluoride in the Water. *Caries Res* 1999; **33**:114-122.
10. Guyton AC, Hall JE. *Tratado de Fisiologia Médica*, 9ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997.
11. William, R. *Toxicology: The Basic Science of Poisons*, 4º ed. New York: Pergamon Press; 1991.
12. Cury JA. Uso do Flúor e Controle da Cárie como Doença. In: *Odontologia Restauradora – Fundamentos e Possibilidades*. 1ªed São Paulo: Santos; 2001.
13. Pereira HA, Leite Ade L, Charone S, Lobo JG, Cestari TM, Peres-Buzalaf C, Buzalaf MA. Proteomic analysis of liver in rats chronically exposed to fluoride. *PLoS One.* 2013 Sep 17;**8**(9):e75343
14. Hellwig E, Lennon AM. Systemic versus topical Fluoride. *Caries Res* 2004; **38**(3): 258–262.
15. Chandrajith R, Dissanayake CB, Ariyaratna T, Herath, Padmasiri JP. Dose-dependent Na and Ca in fluoride-rich drinking water —Another major cause of chronic renal failure in tropical arid regions. *Sc. Total Envir.* 2011; **409**: 671–675.
16. Rolla, GR, Verzeletti, GN. Fluorose óssea – estudo em microscopia eletrônica de varredura. 2002. 19f. trabalho de conclusão de curso – Faculdade de odontologia, Universidade Luterana do Brasil, Canoas.
17. Chattopadhyay A, Podder S, Agarwal S, Bhattacharya S. Fluoride-induced histopathology and synthesis of stress protein in liver and kidney of mice. *Arch Toxicol* 2011; **85**:327–335.
18. Rigalli A, Beinlich A, Puche RC. Intestinal Absorption of Fluoride at High Luminal Concentration of Fluoride. *ECV. Edition Cantor Verlag* 2001; Aulendorf (Germany) *Arzneim – Forsch/ Drug Res.* 2001; **51** (I), 151 – 155.

19. Zhan X-A, Wang M, Xu Z-R, Li J-X. Toxic effects of fluoride on kidney function and histological structure in young pigs. *Fluoride* 2006;**39**:22–6.
20. Borke JL, Whiteford GM. Chronic fluoride ingestion decreases <sup>45</sup>Ca uptake by rat kidney membranes. *J Nutr* 1999;**129**:1209–13.
21. Shashi A, Thapar SP. Histopathology of fluoride-induced hepatotoxicity in rabbits. *Fluoride* 2000; **34**:34–42
22. Shashi A, Singh JP, Thapar SP. Toxic effects of fluoride on rabbit kidney. *Fluoride* 2002; **35**:38–50.