

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**INTER-RELAÇÃO DO IODO E DO FLÚOR NO  
METABOLISMO DE OVINOS JOVENS**

**TESE DE DOUTORADO**

**Danívia Santos Prestes**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2007**

# **INTER-RELAÇÃO DO IODO E DO FLÚOR NO METABOLISMO DE OVINOS JOVENS**

**por**

**Danívia Santos Prestes**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Fisiopatologia da Reprodução, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de  
**Doutor em Medicina Veterinária**

**Orientador: Prof. Marcelo da Silva Cecim**

Santa Maria, RS, Brasil  
2007

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Tese de  
Doutorado

**INTER-RELAÇÃO DO IODO E DO FLÚOR NO METABOLISMO DE  
OVINOS JOVENS**

elaborada por  
**Danívia Santos Prestes**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Doutor em Medicina Veterinária**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

**Marcelo da Silva Cecim, PhD.**  
(Presidente/Orientador)

**Marcelo Soares, Dr. (UFSM)**

**Ilmo Wentz, Dr. (UFSM)**

**Denise Bhorer do Nascimento, Dra. (UFSM)**

**Marta Lizandra do Rego Leal, Dra. (UFSM)**

Santa Maria, 20 de julho de 2007

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, José Antônio e Maria Luiza, designo minha plena gratidão, por sempre motivarem minha perseverança, incentivando-me a seguir em busca do aperfeiçoamento. Não há palavras para retribuir toda a dedicação, empenho e amor a mim dispensados. Serei eternamente grata por tudo que por eles me foi ensinado, pelo exemplo de vida, integridade e respeito...Obrigada!

Ao meu amor, Luis, agradeço pelo carinho, compreensão e incentivo nesta jornada.

Aos grandes amigos Andreane e Fabrício, agradeço pelo companheirismo e apoio. Drica, meu respeito e gratidão pela sua lealdade, dedicação e auxílio, com certeza os méritos deste trabalho também são teus.

Ao Prof. Marcelo Cecim, orientador, agradeço pela confiança, amizade, paciência e por ensinar que devemos questionar e buscar as verdadeiras respostas para as nossas dúvidas, independente da resposta que obteremos.

À colega e amiga Deila, agradeço pela sua disponibilidade incondicional, não medindo esforços para a realização de parte deste trabalho.

À equipe do Laboratório de Química Ambiental, agradeço pela cordialidade, participação e pela disponibilidade de suas dependências.

Ao *peçoal da sala*, obrigada pela acolhida e pela disposição em auxiliar.

Ao CNPq, pelo fornecimento da bolsa de estudos.

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, pela oportunidade de realizar este trabalho.

## RESUMO

Tese de Doutorado  
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária  
Universidade Federal de Santa Maria

### INTER-RELAÇÃO DO IODO E DO FLÚOR NO METABOLISMO DE OVINOS JOVENS

AUTORA: DANÍVIA SANTOS PRESTES

ORIENTADOR: MARCELO DA SILVA CECIM

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 20 de julho de 2007.

A suplementação mineral dos rebanhos é um fator que influi de forma relevante no índice de produtividade, porém, há carência de novos estudos relacionados à situação e interação dos elementos minerais nos rebanhos e nisso está alicerçado o objetivo do presente trabalho: avaliar a inter-relação do iodo (I) e do flúor (F) no metabolismo de ovinos jovens, através da avaliação do efeito do F sobre a glândula tireóide. Para tanto, foram realizados dois experimentos. O primeiro teve o objetivo de analisar a dinâmica da excreção urinária de I em ovinos. Assim, utilizaram-se cinco animais. Antes de iniciar o tratamento com I, coletou-se amostras de urina (grupo controle), posteriormente, os animais passaram a receber três diferentes tratamentos (0,05; 0,42 e 0,8 mg de iodo/kg de matéria seca), consecutivamente. Cada tratamento teve duração de 15 dias. Foram coletadas amostras de urina equivalente às 24 horas e amostras pontuais (intervalo de oito horas). Não houve diferença na excreção urinária de I entre tratamentos e entre horários de coleta. Os valores urinários de creatinina não diferiram entre os horários de coleta dentro de cada tratamento, exceto entre as 16:00 e às 24:00 horas, na dose média. A relação iodo/creatinina não demonstrou correlação. No segundo experimento, o objetivo foi avaliar o efeito da administração crônica de fluoreto de sódio na função e histologia da glândula tireóide de ovinos. Foram utilizados doze ovinos, os quais foram divididos em dois grupos: Controle, o qual recebeu somente sal iodado (5g NaCl/animal+0,2mg de iodo/kg MS) e o grupo Tratado, que recebeu sal iodado (5g NaCl/animal+0,2mg de iodo/kg MS) adicionado de fluoreto de sódio (4,7mg F/kg de peso corporal), durante um período de 150 dias. Amostras de sangue foram coletadas aos 60, 90, 120 e 150 dias de tratamento para análise sérica de I e F, Triiodotironina (T<sub>3</sub>) e Tetraiodotironina (T<sub>4</sub>). Ainda, nesse mesmo intervalo de tempo, coletou-se a urina, correspondente às 24 horas, para análise da excreção urinária de I e F. Após o sacrifício dos animais, a glândula tireóide foi removida para posterior exame histopatológico e morfométrico. Quanto ao I urinário, não foi observada diferença estatística entre os grupos controle e tratado e dentro de cada grupo, entre os períodos. As concentrações de T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> não diferiram estatisticamente entre ambos os grupos e dentro de cada grupo, nos diferentes tempos de tratamento. Assim como, também não houve diferença estatística nos teores de I sérico. Quanto à avaliação histopatológica da glândula tireóide, não foram observadas alterações. De um modo geral, é possível concluir que a excreção urinária de iodo, quando utilizada como estimativa do *status* nutricional deste elemento, deve ser considerada com parcimônia, principalmente se forem utilizadas doses dentro do intervalo de recomendação requerido para a espécie. Outrossim, conclui-se que dados referentes a inter-relação do iodo e flúor não podem ser aplicados de uma espécie para outra, pois o efeito do flúor sobre a glândula tireóide não ocorre na mesma forma e intensidade.

Palavras-chave: iodo; flúor; tireóide; creatinina; ovinos.

## **ABSTRACT**

Doctor Thesis  
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária  
Universidade federal de Santa Maria

### **IODINE AND FLUORIDE IN YOUNG OVINE METABOLISM**

**AUTHOR: DANÍVIA SANTOS PRESTES**  
**ADVISER: MARCELO DA SILVA CECIM**  
Date and place: Santa Maria, July 20<sup>th</sup>, 2007.

Mineral supplementation of is a well-known factor contributing to productivity in sheep or cattle herds. However, little is known about mineral interactions in these species. The objective of the present work was to evaluate the inter-relation of iodine (I) and fluoride (F) in young ovine metabolism and the thyroid gland. Two experiments were conducted; first it was analyzed the dynamics of urinary I excretion in sheep. Five lambs were used in a repeated measurement protocol. After a 15-day adaptation period urine samples were collected (control group), then animals received 3 different 15-day treatments (0,05; 0,42; and 0,8 mg of I/kg DM) consecutively. Punctual (8 hour interval) and 24 hour total urine samples were collected. No differences in I excretion among treatments or collection time. Also, there were no differences in urinary creatinine levels among treatments or collection time, except between 16:00 and 24:00 hours in the medium dose. No significant correlation was found between urinary I and creatinine. In a second experiment, it was evaluated the effect of chronic fluoride administration in thyroid function and histology in sheep. Twelve ram lambs were allocated into 2 groups: Control which received 5g NaCl + 0,2 mg of I/Kg DM and treated group which received the same treatment plus sodium fluoride (4,7 mg F/ Kg BW) daily for 150 days. Blood samples were collected at 60, 90, 120, and 150 days for determination of F, I T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub>. At the same time points, total 24-hour urine production was collected for measurement of F and I. After euthanasia, at 150 days of treatment, thyroid gland was removed for histopathological and morphometrical analyses. No differences were found between or within groups for urinary I. Also no differences were found for T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub> nor serum I between groups or among time points. No histological alterations were found in the thyroid. In conclusion, urinary I excretion is not a reliable parameter to access I status in animals with supplementation within the recommended levels. Additionally, data related to Iodine-fluoride interactions cannot be used across species, since the effect of fluoride on the thyroid appears to have specie dependant intensity.

Key words: iodine, fluoride, thyroid, creatinine, sheep.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 -	Means for punctual iodine and creatinina excretion (8, 16 and 24 hours) in lambs supplemented with low dose (LD - 0,05mg of iodine/Kg dry matter), medium dose (MD - 0,42mg of iodine/Kg dry matter) and high dose (HD – 0,8mg of iodine/Kg dry matter) of Potassium Iodate.....	29
FIGURA 1 -	Glândula tireóide de um animal do grupo controle.....	38
FIGURA 2 -	Glândula tireóide de um animal do grupo tratado com NaF...	38

## LISTA DE TABELAS

- TABELA 1 - Means and standard desviation for twenty four hours in urine total iodine (I) excretion, punctual I and creatinine excretion, and, I/creatinine ratio in lambs supplemented with low (0.05mg of I/kg dry matter), medium (0.42mg I/kg dry matter) and high (0.8mg I/kg dry matter) doses of Potassium Iodate..... 28
- TABELA 1 - Média  $\pm$  desvio padrão de iodo (I) e flúor (F) na urina de ovinos recebendo Iodato de Potássio (0,2mg de iodo/Kg de matéria seca), tratados ou não com Fluoreto de Sódio (4,7mg F/kg de peso corporal)..... 39
- TABELA 2 - Média  $\pm$  desvio padrão de triiodotironina (T<sub>3</sub>), tetraiodotironina (T<sub>4</sub>), iodo (I) e flúor (F) no soro de ovinos recebendo Iodato de Potássio (0,2mg de iodo/Kg de matéria seca), tratados ou não com Fluoreto de Sódio (4,7mg F/kg de peso corporal)..... 39



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**I** = Iodo

**F** = Flúor

**P** = Fósforo

**Na** = Sódio

**Cu** = Cobre

**Co** = Cobalto

**Zn** = Zinco

**Se** = Selênio

**NaCl** = Cloreto de Sódio

**NaF** = Fluoreto de Sódio

**STP** = Superfosfato Triplo

**TRH** = Hormônio Liberador da Tireotropina

**TSH** = Hormônio Estimulante da Tireóide

**cAMP** = Monofosfato de Adenosina Cíclico

**MIT** = Monoiodotirosina

**DIT** = Diiiodotirosina

**T<sub>3</sub>** = Triiodotironina

**T<sub>4</sub>** = Tetraiodotironina

**LD** = Low Doses

**MD** = Medium Doses

**HD** = High Doses

**DM** = Dry matter

**MS** = Matéria Seca

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	<b>5</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>6</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>7</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>8</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS</b> .....	<b>9</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>14</b>
<b>3. CAPÍTULO 1 - Iodine supplementation in sheep: daily total and punctual urinary excretion</b> .....	<b>20</b>
Introduction.....	<b>22</b>
Materials e Methods.....	<b>23</b>
Results.....	<b>24</b>
Discussion.....	<b>24</b>
Conclusion.....	<b>25</b>
References.....	<b>25</b>
<b>4. CAPÍTULO 2 - Avaliação funcional e histológica da glândula tireóide de ovinos submetidos a administração de fluoreto de sódio</b> .....	<b>30</b>
Introdução.....	<b>32</b>
Material e Métodos.....	<b>32</b>
.....	<b>33</b>
Resultados e Discussão.....	<b>34</b>
Conclusão.....	<b>37</b>
Referências.....	<b>37</b>
<b>5. DISCUSSÃO GERAL</b> .....	<b>41</b>
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	<b>44</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>45</b>

## 1. INTRODUÇÃO

As desordens relacionadas aos desequilíbrios minerais segundo Conrad et al. (1985) e Tokarnia (2000), variam desde a deficiência mineral aguda e toxicidade, caracterizadas por sinais clínicos e mudanças patológicas distintas, até condições brandas e transitórias, difíceis de serem diagnosticadas. Desequilíbrios minerais para herbívoros têm sido verificados em quase todas as regiões do mundo. No Brasil, resultados de análise de solo, plantas forrageiras e tecidos animais têm revelado uma ampla variedade de carências minerais. Dentre os macroelementos minerais, as deficiências mais freqüentes são as de fósforo (P) e as de sódio (Na), e quanto aos microelementos minerais, as deficiências mais comumente observadas são as de cobre (Cu), cobalto (Co) e zinco (Zn), seguidas de selênio (Se) e iodo (I) (González & Silva, 2001). A extensão das áreas atingidas geralmente não é avaliada com precisão e as informações sobre a condição mineral poderão ser melhoradas à medida que se empreenderem pesquisas e melhores metodologias (Conrad et al., 1985).

Dentre os fatores responsáveis pela baixa produtividade do rebanho bovino brasileiro, a carência de minerais ocupa lugar de destaque. Acredita-se que não exista um fator isolado e com potencial tão elevado, para aumentar os índices de produtividade de bovinos, criados a pasto, como a suplementação mineral adequada (Lopes & Tomich, 2001). Contudo, um dos aspectos do manejo de animais em pastejo que tem sido freqüentemente negligenciado é a adoção de uma rotina semanal de inspeção dos cochos de minerais. A importância desta prática tem respaldo no estudo de Ortolani (1999), que verificou que a forma física do suplemento mineral influencia no seu consumo pelos bovinos. O suplemento mineral ofertado na forma empedrada (por ocasião de exposição a intempéries climáticas), teve redução de 55% de ingestão quando comparado a um suplemento granulado ou em pó.

Alguns outros problemas nos programas de suplementação mineral ainda incluem: imprecisa e/ou incorreta informação sobre os minerais no rótulo das embalagens; insuficientes dados de análises químicas e biológicas para determinar

quais minerais são requeridos e em que quantidades; suplementos que contém inadequadas quantidades e/ou imbalanços minerais; procedimento inadequado na diluição das misturas nas propriedades rurais; inclusão indevida de fontes alternativas; dificuldades envolvendo transporte, estocagem e custo dos suplementos minerais e padronização de misturas minerais, as quais são inflexíveis para diversas regiões geográficas (McDowell & Tiffany, 1998).

Nesta problemática, ainda deveria ser incluída a fiscalização quanto ao real nível de elementos minerais contidos nos suplementos. Pode-se mencionar como exemplo, os objetos deste estudo, iodo e flúor. Se por um lado, o primeiro é de inclusão obrigatória no sal (Escoda, 2000); o segundo, deve estar presente respeitando um teor máximo, pois representa um contaminante no suplemento mineral (advindo juntamente com a fonte de P). Contudo, há carência de novos estudos relacionados à situação e interação destes minerais nos rebanhos. Em humanos, nas últimas décadas, há relatos associando distúrbios tireoideanos relacionados com ingestão de água fluorizada, embora o controle da iodação do sal seja relativamente eficiente (Yang et al., 1994; Jooste et al., 1999).

A obrigatoriedade de adição de I ao sal mineral utilizado para alimentação animal, determinada por uma normativa oficial, em 1993, acabou por restringir as investigações relacionadas a este elemento, como se o fato da obrigatoriedade de inclusão prescindisse o trabalho de fiscalização do produto e qualquer possibilidade de deficiência e/ou alteração metabólica relacionada nos animais. No Rio Grande do Sul, para bovinos criados em regime extensivo, o método de suplementação mineral mais utilizado é o fornecimento de sal comum iodado ou de suplementos minerais, colocados em cochos de livre acesso. Contudo, essa prática desconsidera a ação climática a qual os elementos minerais são expostos. No caso do I, já foram mencionadas perdas por volatilização e lixiviação, porém não se sabe a dimensão com que elas ocorrem.

Em relação aos macroelementos minerais, como a deficiência mais freqüente e sem dúvida a de maior repercussão econômica é a de P, têm sido cada vez mais discutidos as fontes utilizadas. A base são rochas fosfáticas, das quais advém os fosfatos agrícolas (superfosfato triplo - STP) e pós-tratamento, o fosfato bicálcico. Esse compreende a fonte de P mais utilizada por possuir maior biodisponibilidade e cujos teores de F são inferiores. Contudo, devido ao alto custo que assume na formulação do produto final, outras fontes alternativas de P tem sido propostas.

Neste contexto, a utilização dos fosfatos de rochas (STP), sob condições específicas, foi aprovada oficialmente pela Secretaria de Apoio Rural e Cooperativismo (2000). Esse fato gerou e tem gerado muitas discussões na comunidade científica. Todos os países com pecuária de corte desenvolvida apresentam legislação específica proibindo a utilização de fontes de P a partir de fosfatos de rocha e STP para a alimentação animal. No Brasil, os projetos desenvolvidos pela pesquisa oficial não avaliaram efeitos em longo prazo, efeitos sobre a eficiência reprodutiva, impacto nas futuras gerações e sobre situações de produção intensiva. Modestos resultados de pesquisas desenvolvidas no Cerrado, avaliando ganho de peso de bovinos com o uso de STP, serviram de sustentação para a modificação da legislação, sendo atualmente permitido o uso destas fontes alternativas. Independentemente da fonte de P utilizada, a maioria dos estudos foram conduzidos no sentido de avaliar a ocorrência de fluorose. Contudo, o teor máximo permitido para não haver essa condição talvez não seja o mesmo para outros efeitos metabólicos. Em humanos, há inúmeros relatos quanto à ação metabólica do F, dentre elas, uma relação antagônica deste elemento sobre o I, com reflexos na glândula tireóide. Em animais de produção, pouco ou nenhum estudo tem sido realizado nesse sentido e nisso está alicerçado o objetivo do presente trabalho. Para avaliar as possíveis interferências do F sobre o metabolismo do I em ruminantes, foram utilizados ovinos como modelo experimental.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Iodo e metabolismo tireoideano

O iodo é considerado um constituinte normal do corpo animal, altamente concentrado na glândula tireóide. Pesquisas de longa data indicam que a secreção desta glândula tem importante envolvimento na fisiologia de muitos processos vitais na produção animal (Henneman et al., 1955). O iodo é absorvido muito eficientemente pelo trato gastrintestinal e é transportado na corrente sanguínea ligado às proteínas plasmáticas (tireoglobulina, albumina). A glândula tireóide captura cerca de 90% do I que por ela passa e, aproximadamente 80% do elemento presente no corpo se encontra nessa glândula (Kaptein et al., 1994). O *status* nutricional de iodo é melhor estimado através da quantidade de iodo excretado na urina em 24 horas (Soldin, 2002).

A eficiência com que o iodo é capturado pela tireóide varia de acordo com a necessidade. O início do processo secretor se deve a diversos fatores, tais como: *feedback*, estímulos neurais vindos de dentro (sistema nervoso vegetativo) ou de fora do corpo (receptores de frio e calor). A ativação do hipotálamo promove a liberação do hormônio liberador da tireotropina (TRH), que ao penetrar na adeno-hipófise estimula as células basófilas. Essas liberam a tireotropina ou hormônio estimulante da tireóide (TSH). Na superfície das células dos folículos colóides existem receptores específicos que, se estimulados, dão início ao processo de estímulo do segundo mensageiro, ativando o sistema do monofosfato de adenosina cíclico (cAMP), o qual desencadeia na célula, efeitos específicos. Esse mecanismo envolve a participação do hormônio receptor, da enzima adenil ciclase e de um membro da 3ª família das proteínas, designado como *G Proteínas*. Essas são consideradas proteínas de membrana e interagem com o sistema receptor que ativa ( $G_s$ ) ou inibe ( $G_i$ ) a adenil ciclase e conseqüentemente, interfere na resposta celular ao TSH (Mathews & Holde, 1990).

Após a entrada do iodeto na tireóide, este sofre oxidação a forma de iodo. Esta oxidação é realizada pela enzima peroxidase, processo estimulado pelo TSH. O iodo é então transportado para o lúmen do folículo da tireóide, onde iodina (é

incorporado) as moléculas de tirosina da tireoglobulina, localizadas na superfície do colóide. Se for incorporado um iodo, formará a monoiodotirosina (MIT) e se dois iodios forem incorporados, formará a diiodotirosina (DIT). Por sua vez, a combinação de duas moléculas de DIT formará tetraiodotironina ( $T_4$ ) e a união de uma MIT e uma DIT formará triiodotironina ( $T_3$ ). A  $T_4$  é a forma de transporte do hormônio fisiologicamente inativa.

O MIT e DIT que foram liberadas dentro do citosol depois da degradação da tireoglobulina são deiodinadas (perdem o iodo) através da deiodinase e recicladas para uso na célula. Os hormônios  $T_4$  e  $T_3$  são liberados para corrente circulatória por exocitose e parte da tireoglobulina também é liberada. A ligação dos hormônios da tireóide às proteínas solubiliza os hormônios no plasma, diminuindo sua perda pelos rins e aumentando sua meia-vida, servindo de importante reservatório (Granner, 1990; Ganong, 1991; Underwood & Suttle, 1999).

A  $T_4$  é predominante em todos os animais, embora a  $T_3$  seja o hormônio biologicamente ativo. Do total liberado,  $T_4$  corresponde a 90% e  $T_3$  a 10%. A secreção pode apresentar proporções que atinjam 93% de  $T_4$  e apenas 7% de  $T_3$ . Esse é o hormônio ativo na célula alvo, enquanto que  $T_4$  funciona como uma forma de reserva e como um regulador *feedback* da glândula tireóide. Grande parte da  $T_4$  é deiodada a  $T_3$  por uma deiodase específica, principalmente no fígado, rins e nos órgãos alvo, processo de grande importância, porque a  $T_3$  é o hormônio que exerce a maior parte da ação tireoideana. A  $T_3$  é também o metabólito que controla a secreção de TSH. Cerca de 90% da  $T_4$  sofre a transformação por meio da enzima 5'deiodinase tornando-se  $T_3$ , que ao penetrar na célula "alvo" passa a ativar uma transcrição e assim criar um mRNA no citosol e gerar proteínas com fins específicos e/ou enzimas que possam ativar os sistemas das células alvo (efeitos diversos). Esse metabolismo pode ser influenciado pela deficiência de Se, uma vez que, as deiodinases envolvidas são dependentes desse elemento (Kaneco, 1997).

A  $T_4$  pode também sofrer uma deiodação específica no órgão alvo mediante a enzima 5'deiodase para ser convertida em  $T_3$  reversa ( $T_{3r}$ ), a qual é biologicamente inativa. A meia-vida da  $T_4$  é de sete dias e da  $T_3$  de dois dias. Devido a maior facilidade de penetração da  $T_3$  nas células, este hormônio tem menor meia-vida e se encontra em menor quantidade no plasma: a relação plasmática de  $T_4/T_3$  é de 20:1.

Na fase de depleção inicial de iodo, a concentração declina na tireóide e a glândula somente fica pequena e a quantidade de iodo estocada se reduz ao mínimo da necessidade diária. Já durante a fase de deficiência, a forma do iodo presente na glândula muda desproporcionalmente, na tentativa de manter a homeostase desse elemento e de aproveitar mais eficientemente o limitado suprimento. A mudança inclui preferencialmente a maior síntese de  $T_3$  em relação a  $T_4$  e, o incremento na taxa de MIT do que DIT (Underwood & Suttle, 1999). Preferencialmente, a concentração de  $T_4$  no plasma é usada rotineiramente em ensaios para avaliar o *status* de iodo nos rebanhos (Hemingway et al., 2001).

Os hormônios tireoideanos influenciam na diferenciação ou metabolismo dos tecidos e afetam outras glândulas endócrinas, especialmente a hipófise e gônadas, bem como o metabolismo de nutrientes, inclusive o de minerais. Assim, a importância das desordens da tireóide recai não somente sobre a ocorrência da forma clínica (bócio), mais facilmente diagnosticada, mas especialmente sobre outros efeitos metabólicos significantes à produção e que passam, muitas vezes, despercebidos quanto à relação tireoideana. Os desequilíbrios relacionados ao I, em animais de reprodução, podem influenciar no metabolismo e, conseqüentemente, interferir na produtividade, resultando em irregularidades no ciclo estral (De Moraes et al., 1998; Bernal et al., 1999).

#### 2.1.1. *Status* de iodo e seu monitoramento

Desordens causadas pela deficiência de iodo podem ser prevenidas ou tratadas através da suplementação deste mineral. Essa pode ser realizada de maneira descontínua ou contínua. A primeira forma inclui administração parenteral (intramuscular) de compostos contendo iodo, aplicadas em períodos estratégicos. A segunda forma inclui o fornecimento de sal comum iodado ou iodo adicionado aos suplementos minerais ou concentrados (núcleos minerais), para consumo oral pelos animais (McDowell, 1999; Underwood & Suttle, 1999). A iodação do sal para consumo animal é obrigatória, sendo estabelecido por Instrução Normativa da Secretaria de Apoio Rural e Cooperativismo (2004) que o suplemento mineral para bovinos de corte contenha, na mistura final, um teor mínimo de garantia de 30 mg de iodo/Kg do produto. Deve-se atentar à fonte de iodo utilizada (Iodato de Potássio, Iodeto de Potássio, Iodeto de Sódio e Iodato de Cálcio), pois apesar de terem biodisponibilidade similares e serem prontamente disponíveis para ruminantes, elas



podem lixiviar ou evaporar sob condições tropicais úmidas. Dentre as fontes mencionadas, o Iodato de Potássio é o mais estável (Miles & Henry, 2000).

O monitoramento biológico é utilizado como meio de acessar o *status* a um determinado elemento químico. O *status* nutricional de iodo é estimado através da excreção urinária deste elemento em 24 horas. Quando há adequada nutrição, a concentração urinária de creatinina pode ser utilizada como meio de ajustar o volume da amostra de urina coletada (Soldin, 2002; Barr et al., 2005). Na ausência de doenças renais, a taxa de excreção urinária de creatinina é constante e representa a filtração glomerular e a atividade da excreção tubular dos rins (Gamble & Liu, 2005). As flutuações nas concentrações de iodo urinário entre indivíduos podem resultar da diferença na ingestão diária de iodo ou, advir do menor ou maior consumo de água (Soldin, 2002).

## **2.2. Flúor (F)**

A essencialidade deste elemento está relacionada, em pequenas quantidades, à saúde dentária. No entanto, o interesse biológico do F está confinado aos seus efeitos tóxicos (Li, 2003). Em animais experimentais, os estudos recaem sobre os efeitos antagônicos que este mineral pode exercer no metabolismo (Al-Hiyasat et al., 2000), inclusive tireoideano (Mahmood, 1996; Zhao et al., 1998). A toxicidade do F é um reflexo da quantidade e duração da ingestão do elemento, da solubilidade dos compostos que contem F, da idade do animal, estado nutricional, fatores de estresse e fatores individuais. A fluorose crônica nos animais pode geralmente ser observada em três situações: consumo continuado de suplementos minerais com altos teores de F; consumo de água rica em F e, pastejo de forragens contaminadas com F, adjacentes às indústrias que emitem fumaça ou poeira (Mcdowell, 1999).

Para ruminantes a pasto, a fonte de F mais freqüente provém do suplemento mineral e, mais especificamente, da fonte de P no suplemento (Underwood & Suttle, 1999). Em humanos, entre 75-90% do F ingerido é absorvido no trato alimentar. O tempo de absorção é de cerca de 30 minutos, sendo que o pico de concentração plasmática ocorre entre de 30 e 60 minutos (Whitford & Pashley, 1984). A forma plasmática do F de interesse na medicina é a iônica, cuja detecção é realizada através de eletrodo íon seletivo (McDowell, 1999). A concentração desta forma nos tecidos está diretamente relacionada ao aporte na dieta. O F é largamente

cumulativo e os sinais clínicos de toxicidade podem não aparecer por muitas semanas ou meses nos animais que ingerem quantidades moderadas de F. Os animais são protegidos por dois mecanismos fisiológicos: excreção de F via urina e deposição de F no esqueleto.

Para pesquisar o teor de F nos ruminantes é válido combinar dados clínico-patológicos e bioquímicos. Quando se visa estudar a severidade da exposição passada ao F, recomenda-se a análise dos dentes incisivos; quando se visa observar a severidade da exposição corrente ao F, analisa-se o conteúdo deste mineral no sangue; e para avaliar a duração, bem como a severidade da exposição, pesquisa-se o conteúdo de F nos ossos, urina e dentes molares (Underwood & Suttle, 1999).

### 2.3. Antagonismo Flúor e Iodo

O histórico da relação antagônica entre estes dois elementos é conhecido há tempos, datando ainda do século passado. A ação do F e do I são contrárias frente a várias funções metabólicas. Dentre essas, pode-se mencionar:

<u>Flúor</u>	<u>Iodo</u>
• Estimula o cAMP (Li, 2003)	• Inibe o cAMP (Cochaux et al., 1987)
• Inibe a anidrase carbônica I (Pain et al., 1990)	• Ativa a anidrase carbônica II (Hori et al., 1998)
• Decresce a lactação (Yuan et al., 1991)	• Incrementa a lactação (Yuan et al., 1991)
• Diminui o ácido siálico (Chinoy et al., 1994)	• Aumenta o ácido siálico (Van Den Hove et al., 1999)
• Inibe Na, K e ATP (Brtko et al., 1993)	• Estimula Na, K, ATP (Arumanayagan & Swaminathan, 1992)
• Decresce níveis testosterona sérico (Susheela & Jethanandani, 1996)	• Incrementa níveis testosterona sérico (Cavalieri et al., 1988)

A atenção acerca deste assunto está voltada para a relação da fluorização da água de beber com a ocorrência de disfunções cerebrais, reprodutivas e tireoideanas em humanos (Li, 2003). Nesse contexto, há evidência da interferência

do F sobre o funcionamento da glândula tireóide. Burgi et al. (1984) mencionaram que uma dose de F acima da recomendada para a prevenção de cáries foi capaz de inibir várias etapas da biossíntese dos hormônios tireoideanos em animais experimentais. Lin-Fa-Fu et al. (1991) cogitaram a possibilidade de que o excesso de F afeta a deiodinação normal, havendo elevação do TSH. Zhao et al. (1998) observaram que tanto a deficiência de I, quanto o excesso de F, em ratos, é capaz de induzir a mudanças funcionais e histopatológicas na tireóide. Em animais de produção, Marasli (1992) observou hipotireoidismo e decréscimo de  $T_3$  e  $T_4$  em ovelhas com fluorose. Esse decréscimo nos hormônios tireoideanos também foi observado por Swarup et al. (1998), em bovinos de corte expostos à contaminação ambiental por F. Contudo, o mecanismo e o impacto do F sobre o funcionamento da glândula tireóide não está claro.

As pesquisas envolvendo biologia molecular têm disponibilizado estudos documentando a ação do F sobre as *G Proteínas*, nos sítios de ação, mediante um sinal de transdução (Li, 2003). Delemer et al. (1991), estudando alterações na atividade funcional das *G<sub>s</sub> Proteínas* em células tireoideanas de suínos, observaram que as células tratadas cronicamente com incremento nas concentrações de TSH, demonstraram reduzida atividade funcional das *G<sub>s</sub> Proteínas*, mediante mecanismo dependente de cAMP. Tezelmann et al. (1994) reportaram que o F incrementa a concentração de cAMP intracelular, causando dessensibilização da adenil ciclase ao estímulo hormonal do TSH.

### **3. Capítulo 1**

**Iodine supplementation in sheep: daily total and punctual urinary excretion.**

Artigo submetido ao Periódico *Veterinary Clinical Pathology*

## **Iodine supplementation in sheep: daily total and punctual urinary excretion.**

Danívia Santos Prestes<sup>a</sup>, Andreane Filappi<sup>a</sup>, Éder Lisandro de Moraes Flores<sup>b</sup>,  
Valderi Luiz Dressler<sup>b</sup>, Érico Marlon de Moraes Flores<sup>b</sup>, Marcelo Cecim<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Large Animal Medicine, University Federal of Santa Maria (UFSM),  
Zip-Code 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil.

<sup>b</sup> Department of Chemistry, UFSM.

\* Corresponding author. Tel.: (0xx) 55 3220 8815.

*E-mail address:* [mcecim@smail.ufsm.br](mailto:mcecim@smail.ufsm.br) (M. Cecim).

### **Abstract**

The objective of the present work was to evaluate urinary iodine excretion in sheep. Five ram lambs averaging 8 months of age were used. After a 15 day adaptation period (without iodine supplementation) urine samples were collected (control group, day zero). After that, animals were exposed consecutively to 3 different 15 day treatments: 0.05; 0.42 and 0.8mg iodine/kg of dry matter. Urine samples were collected every 8 hours, and also total urine excreted in a 24 hour interval. There were no differences in urinary iodine excretion among treatments nor between time of collection. Urine creatinine values were not different among collection time in each treatment, except for the medium dose. The iodine:creatinine ratio showed a very weak correlation. We concluded that when iodine intake falls within recommendation levels, its 24 hours urinary excretion does not indicate its nutritional status. The iodine:creatinine ratio at fixed time collection had no relation with its 24 hour excretion.

Keywords: sheep, iodine, creatinine, urine.

## Introduction

Iodine deficiency and its related disorders are a worldwide problem, and most of the research related to this topic has public health concerns (Bourdoux, 1988). Iodine is an essential microelement and a structural part of thyroid hormones. It is generally assumed that most ingested iodine either as potassium or sodium iodide is excreted in the urine, and, that there is a balance between total ingestion and urinary excretion (Hollowell et al., 1998). In humans, iodine status is estimated by a total 24 hours urinary excretion. However, such determination is often not practical due to problems related to complete collection of the sample. An alternative method is the collection of samples at random. In this case there are different ways to estimate total daily excretion. Most of them express iodine levels as a function of urinary concentration, for example with creatinine (Soldin, 2002). Creatinine is a nitrogenous, non protein compound, excreted by glomerular filtration (Murray et al., 1999).

Nowadays in Brazil, very few studies have addressed the nutritional status of ruminants. In part due to federal regulation which imposes the inclusion of iodine in all mineral supplements and feeds.

Impaired thyroid function due to iodine deficiency has been related to infertility or lowered conception rates and irregular estrus in females. In males, thyroid dysfunction is associated with reduced libido and seminal quality. Moreover, there are no information on possible antagonistic interactions between iodine and other elements in the supplement or in the animal (Underwood & Suttle, 1999). The objective of the present work was to compare two methods, total 24 hour urinary production and punctual collection for the estimation of urinary iodine excretion.

## Materials and Methods

The experiment was run in the months of September and October (spring) 2005. Five castrated corriedale x texel ram lambs were used. Animals averaged 8 months of age and weighed 35 Kg. They were fed alfalfa hay at 2% body weight and water *ad libitum*. Iodine levels in the hay and water were analyzed.

After a 15 day adaptation period, animals were submitted to a first urine collection without iodine supplementation, which corresponded to the control group. After that animals started to receive increasing doses of potassium iodate. The doses were 0.05, 0.42 and 0.8mg I/kg dry matter, corresponding to a low (LD), medium (MD), and high (HD) supplemental doses respectively. In all groups, iodine was dissolved in distilled water and administered as a gavage. The doses chosen fall within the reference interval for daily intake of the substance (McDowell, 1999).

Each treatment lasted 15 days. For the first 12 days animals were kept in individual pens with slotted floor, and , for the last 3 days animals were moved to metabolic cages for urine collection. At day 15 in each group, punctual urine collection was realized at 8, 16 and 24 hours after treatment. Total urine produced in 24 hours was collected in a bottle, at the end, its final volume was recorded and sample collected for further analyses. Urine iodine content was quantified by Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry (ICPOES). Creatinine was measured with a commercial kit. Statistical analyses were performed by ANOVA and the iodine:creatinine ratio by Pearson's Correlation coefficient.

## Results

The base diet and the water offered to the animals through the experiment showed only traces of iodine. Such levels were considered insignificant. Data on iodine and creatinine content in the urine are shown in Table 1.

There were no differences in total urinary iodine content between treatments. Also, no differences were observed among the punctual (8, 16, and 24 hrs post treatment) collection times within each treatment, except between 16 and 24 hrs (afternoon and night) in the medium doses group for creatinina (Fig. 1). Iodine creatinine ratio had a weak correlation ( $r=0.2692$ ) which was not significant.

## Discussion

Iodine requirements for small ruminants can have seasonal variations. They vary from 0.11 mg I/kg DM during summer to 0.54 mg I/kg DM during winter (Underwood & Suttle, 1999). Therefore it was expected a difference in urinary iodine excretion levels among treatments. Even though treatments were within recommended levels for the specie, the high doses were above the requirement for the season (spring). It is assumed that the lack of differences in I excretion can be related to the large iodine storage capacity of the thyroid (Andersen et al., 2001).

Apparently there is a circadian cycle in the urinary excretion of I (Smyth et al., 1999) also, according to Als et al. (2000) average values of urinary I can be found during the morning or between 8 and 12 hours after the last meal. In this study however, punctual urinary I excretion maintained constant values, not affected by collection time.

Creatinine excretion is relatively constant throughout the day, which allows for its use as an indicator of total urinary excretion in animals (Chen et al., 1992; Chen et



al., 1995). Creatinine excretion can vary according to race, sex, muscular mass and nutrition. This can impose limitations in the use of iodine/creatinine ratio (Bourdoux et al., 1986). Kozloski et al. (2005) stated the estimation of total urinary production in animals based on creatinine concentration from punctual collections can be accurate. For that, total urinary production must be measured in at least one representative animal of each group, and creatinine excretion expressed as a unit of body weight. In this experiment, creatinine excretion was constant, except at the medium I dose between 16 and 24 hours after treatment.

Iodine/creatinine ratio can suffer a circadian fluctuation (Underwood & Suttle, 1999). In the present study, the results suggest the existence of such cycle only in the control group. The lack of correlation in I/creatinine excretion was also observed in humans by Wahl et al. (1995). They concluded that such correlation is not an accurate parameter for the estimation of total iodine excretion and iodine status.

## **Conclusion**

The results suggest that daily total urinary iodine excretion is not a reliable indicator of I status when oral supplementation levels fall within recommended values. Additionally, the iodine:creatinine ratio from collections at punctual times bears no relation with daily total iodine excretion

## **References**

Als, C., Helbling, A., Peter, K. et al. Urinary iodine concentration follows a circadian rhythm: a study with 3023 spot urine samples in adults and children. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 2000; 85:1367-1369.

Andersen, S., Pedersen, K.M., Pedersen, I.B. et al. Variations in urinary iodine excretion and thyroid function a 1-year study in healthy men. *Eur. J. Endocrinol.* 2001; 144:461-465.

Bourdoux, P., Thilly, C., Delange, F., Ermans, A.M., A new look at old concepts in laboratory evaluation of endemic goiter. In: Dunn, J.T., Pretell, E.A., Daza, C.H., Viteri, F.E. *Towards the eradication of endemic goiter, cretinism, and iodine deficiency.* Washington: PAOH; 1986:115-129.

Bourdoux, P. Measurement of iodine in the assessment of iodine deficiency IDD. *Newsletters.* 1988; 4:8-12.

Chen, X.B., Grubic, G., Orskov, E.R. et al. Effect of feeding frequency on diurnal variation in plasma and urinary purine derivatives in steers. *Anim. Prod.* 1992; 55:185-191.

Chen, X.B., Mejia, A.T., Kyle, D.J. et al. Evaluation of the use of the purine derivative: creatinine ratio in spot urine and plasma samples as an index of microbial protein supply in ruminants: studies in sheep. *J. Agri. Sci.* 1995; 125:137-143.

Hollowell, J.G., Stachling, N.W., Hannon, W.H. Iodine nutrition in the United States. Trends and Public Health Implications: Iodine excretion data from national health and nutrition examination surveys 1 and 111 (1971-1974 and 1988-1994). *J.Clin. Endocrinol. Metabolic.* 1998; 83:3401-3408.

Kozloski, G.V., Fiorentine, G., Härter, C.J. et al. Uso da creatinina como indicador da excreção urinária em ovinos. *Ciência Rural.* 2005; 35:98-102.

Mcdowell, L.R. *Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil.* São Paulo: UNESP; 1999:34-37.

Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A. et al. *Harper's biochemistry.* 25rd ed. New Work: McGraw-Hill; 1999: 928 p.

Smyth, P.P.A., Darke, C., Parkes, A.B., et al. Assessment of goiter in an area of endemic iodine deficiency. *Thyroid*. 1999; 9:895-901.

Soldin, O.P. Controversies in urinary iodine determinations. *Clin. Biochem*. 2002; 35:575-579.

Underwood, E.J., Suttle, N.F. The mineral nutrition of livestock. London: CAB International; 1999:343-373.

Wahl, R., Pilz-Mittenburg, K.W., Heer, W. Iodine content in diet and excretion of iodine in urine. *Z. Ernährungswiss*. 1995;34:269-276.

Table 1: Means and standard deviation for twenty four hours in urine total iodine excretion, punctual iodine and creatinine excretion, and, I/creatinine ratio in lambs supplemented with low (0.05mg I/kg dry matter), medium (0.42mg I/kg dry matter) and high (0.8mg I/kg dry matter) doses of potassium iodate.

Treatments (n=5)	Iodine Total urine (mg)	Punctual collection after treatment (h)	Iodine (mg/L)	Creatinine (mg/mL)	Iodine/ Creatinine
Control	4.2±1.07	8	2.9±1.41	0.67±0.41	6
		16	2.1±0.50	0.53±0.18	4
		24	1.7±0.75	0.26±0.19	12
Low dose	3.2±1.52	8	3.5±0.67	0.75±0.22	5
		16	3.8±0.93	0.86±0.25	5
		24	2.8±1.78	0.55±0.39	7
Medium dose	3.5±0.67	8	2.1±1.41	0.55±0.35	7
		16	1.2±0.37	0.29±0.10 <sup>b</sup>	5
		24	3.0±0.96	0.94±0.34 <sup>a</sup>	3
High dose	5.1±0.63	8	2.3±0.92	0.44±0.19	6
		16	2.4±1.28	0.54±0.094	5
		24	2.0±0.87	0.59±0.32	5

Means with different superscript are different ( $p < 0.05$ ) among collection times whitening with treatment.

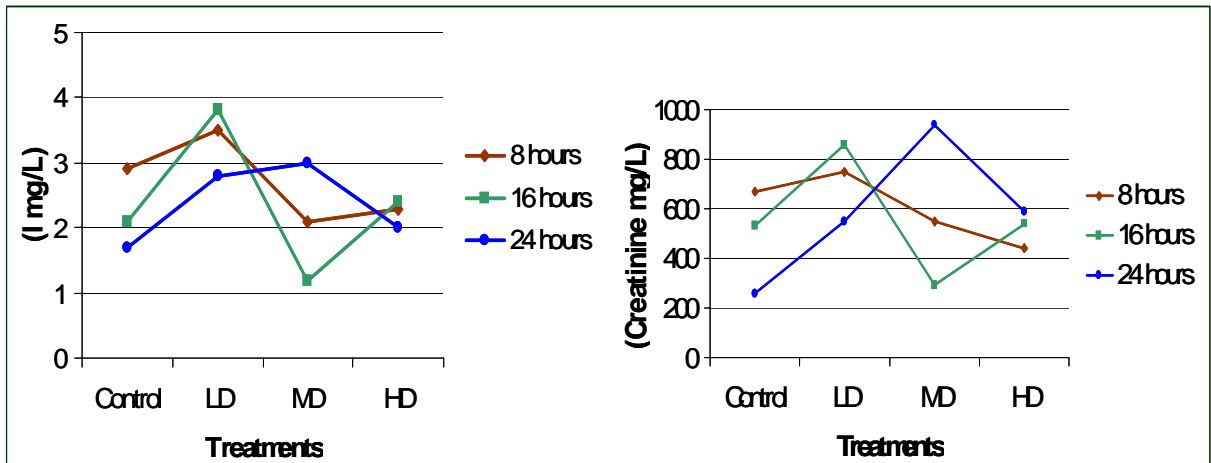


Fig. 1: Means for punctual iodine and creatinina excretion (8, 16 and 24 hours) in lambs supplemented with low dose (LD - 0,05mg of iodine/Kg dry matter), medium dose (MD - 0,42mg of iodine/Kg dry matter) and high dose (HD – 0,8mg of iodine/Kg dry matter) of Potassium Iodate.

#### **4. ARTIGO 2**

### **Avaliação funcional e histológica da tireóide de ovinos submetidos à administração de fluoreto de sódio**

*Artigo submetido à Revista Agropecuária Brasileira*

**Avaliação funcional e histológica da tireóide de ovinos submetidos à administração de fluoreto de sódio**

Danívia Santos Prestes<sup>(1)</sup>, Andreane Filappi<sup>(1)</sup>, Deila Rosely Schossler<sup>(2)</sup>, Fábio Andrei Duarte<sup>3</sup>, Valderi Luiz Dressler<sup>3</sup>, Érico Marlon de Moraes Flores<sup>3</sup> e Marcelo Cecim<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Departamento de Clínica de Grandes Animais, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), CEP 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. dprestesvet@bol.com.br, afilappi@bol.com.br, mcecim@smail.ufsm.br

<sup>(2)</sup> Departamento de Histologia, UFSM. deilarc@bol.com.br

<sup>(3)</sup> Departamento de Química, UFSM. fabioand@gmail.com, valdres@quimica.ufsm.br, flores@quimica.ufsm.br

## **Resumo**

---

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da administração de fluoreto de sódio sobre a tireóide de ovinos. Os animais foram divididos em dois grupos: Controle, o qual recebeu somente sal iodado (5g de NaCl/animal + 0,2mg de iodo/kg de matéria seca) e o grupo Tratado, que recebeu sal iodado (5g de NaCl/animal + 0,2mg de iodo/kg de matéria seca) adicionado de fluoreto de sódio (4,7mg F/kg de peso corporal), durante um período de 150 dias. Amostras de sangue foram coletadas para análise sérica de iodo e flúor, Triiodotironina (T<sub>3</sub>) e Tetraiodotironina (T<sub>4</sub>). Também coletou-se urina, correspondente às 24 horas, para análise da excreção urinária de iodo e flúor. Após o sacrifício dos animais, a tireóide foi removida para posterior exame. Quanto ao iodo urinário, não foi observada diferença estatística entre os grupos controle e tratado e dentro de cada grupo, entre os períodos. As concentrações de T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> não diferiram estatisticamente entre ambos os grupos e dentro de cada grupo nos diferentes períodos. Quanto à avaliação histopatológica da tireóide, não foram observadas alterações. Conclui-se que a administração crônica de fluoreto

de sódio não interfere na função e na integridade histológica da glândula tireóide de ovinos, como tem sido reportado em outras espécies.

Termos de indexação: flúor, ovelha, histologia, hormônios.

## **Functional and histological evaluation of ovine thyroid submitted the sodium fluoride administration**

### **Abstract**

The objective of the present work was to evaluate effect of sodium fluoride administration on thyroid function and morphology in sheep. Twelve lambs were divided into two groups: control which received 5g NaCl + 0,2 mg of iodine/Kg of dry matter and treated group which received the same treatment plus sodium fluoride (4,7 mg F/ Kg BW) daily for 150 days. Blood samples were collected for determination of fluoride, iodine, T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub>. Urine production was collected for measurement of fluoride and iodine. After euthanasia at 150 days of treatment thyroid gland was removed for analyses. No differences were found between or within groups for urinary iodine. Also no differences were found for T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub> nor serum iodine between groups or among time points. No histological alterations were found in the thyroid. In conclusion, chronic sodium fluoride treatment does not affect thyroid function and morphology in lambs as it has been reported in other species.

Index terms: fluoride, sheep, histology, hormones.

### **Introdução**

O flúor (F) é um elemento considerado benéfico para os seres humanos quando presente em baixas concentrações na água de beber, contudo, alterações metabólicas (cerebrais, reprodutivas e tireoideanas) têm sido associadas a este elemento (Li, 2003). Há evidências da interferência do F sobre o funcionamento de vários órgãos. Sendo mencionados vários relatos



quanto à ação metabólica do F, dentre elas, uma relação antagônica deste elemento sobre o iodo, com reflexos na tireóide. Essa glândula é responsável pela produção dos hormônios tireoideanos: triiodotironina e tetraiodotironina, cuja síntese depende do iodo (McDowell, 1999). Burgi et al. (1984) mencionaram que uma dose de F acima da recomendada para a prevenção de cáries foi capaz de inibir várias etapas da biossíntese dos hormônios tireoideanos em animais experimentais. Zhao et al. (1998) observaram que tanto a deficiência de iodo, quanto o excesso de F, em ratos, é capaz de induzir a mudanças funcionais e histopatológicas na tireóide.

Em animais de produção, pouco ou nenhum estudo tem sido realizado acerca deste assunto. Para ruminantes, criados em regime extensivo, a fonte mais comum de F advém da suplementação mineral, na qual se apresenta como um contaminante. Quanto ao iodo, a obrigatoriedade de sua adição ao sal acabou por restringir as investigações relacionadas a este elemento.

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da administração crônica de fluoreto de sódio na função e histologia da glândula tireóide de ovinos.

### **Material e Métodos**

O presente experimento foi realizado na Universidade Federal de Santa Maria, RS, no período de novembro de 2005 a abril de 2006. Foram utilizados doze ovinos, machos, inteiros, raça Texel x Ile de France, idade aproximada de dez meses, pesando entre 33-40kg. Durante o período experimental, os animais foram mantidos em baias e receberam como dieta diária, 3% do peso vivo de feno de alfafa e água *ad libitum*. Após um período de adaptação de 15 dias, os animais foram divididos em dois grupos de seis ovinos cada. O grupo controle recebeu sal iodado (5g de NaCl/animal + 0,2mg de iodo/kg MS) e o grupo tratado, sal iodado (5g de NaCl/animal + 0,2mg de iodo/kg MS) adicionado de fluoreto de sódio (4,7mg F/kg de

peso corporal). Em ambos os grupos, o conteúdo foi diluído em água destilada, administrado via sonda oroesofágica, diariamente, por um período de 150 dias.

Amostras de sangue (jugular) foram coletadas aos 60, 90, 120 e 150 dias de tratamento para análise sérica de iodo e flúor e concentrações dos hormônios Triiodotironina ( $T_3$ ) e Tetraiodotironina ( $T_4$ ). Ainda, nesse mesmo intervalo de tempo, os animais foram alojados em gaiolas metabólicas para obtenção de urina correspondente às 24 horas. Nessas amostras foi mensurada a taxa de excreção urinária de iodo e flúor. As concentrações séricas  $T_3$  e  $T_4$  foram mensuradas pelo método de quimioluminescência. O iodo sérico e urinário foi determinado através do ICP-OES (Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer). As concentrações de F nas amostras séricas e urinárias foram detectadas potenciométricamente, através de eletrodo íon seletivo.

Após o sacrifício dos animais, a glândula tireóide foi removida e fixada em Solução de Bouin para posterior exame histopatológico e morfométrico. Nesse foi avaliado o tamanho folicular e a altura do epitélio basal dos folículos tireoideanos.

Os resultados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão. A significância da diferença entre as médias foi determinada através da análise de variância (ANOVA). O valor de  $p < 0,05$  foi considerado significativo. Para a análise histológica utilizou-se Test T.

### **Resultados e Discussão**

Em relação à concentração urinária de flúor, houve diferença estatística ( $p < 0,001$ ) entre os grupos controle e tratado nos diferentes períodos. No grupo tratado ainda houve diferença estatística ( $p < 0,01$ ) entre os períodos de 60, 120 e 150 dias. Quanto ao iodo urinário, não foi observada diferença estatística entre os grupos controle e tratado e dentro de cada grupo, entre os períodos (Tab. 1).

As concentrações de T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> não diferiram estatisticamente entre ambos os grupos e dentro de cada grupo nos diferentes tempos de tratamento. Assim como, também não houve diferença estatística nos teores de iodo sérico. Em relação à concentração sérica de flúor, houve diferença estatística ( $p < 0,001$ ) entre os grupos controle e tratado, no qual a concentração se manteve maior nos diferentes períodos. Entre períodos, não foi observada diferença estatística (Tab. 2).

Quanto à avaliação histopatológica da glândula tireóide, não foram observadas alterações na integridade estrutural do órgão nos animais de ambos os grupos. Em relação ao estudo morfométrico, também não foi observada diferença estatística no tamanho dos folículos e na altura do epitélio basal entre os grupos controle (Fig 1) e tratado (Fig 2).

O aumento observado nas concentrações séricas e urinárias de flúor, neste estudo, no grupo tratado, é um indicativo de que houve uma eficiente absorção deste elemento, sendo observadas concentrações altamente elevadas em relação ao grupo controle. Contudo, não foram observados quaisquer sinais indicativos de fluorose. Quanto ao iodo, as concentrações séricas e urinárias mantiveram-se constantes durante todo o período experimental, demonstrando que não houve interferência na absorção desse elemento pelo flúor. Cabe ressaltar que tanto para o flúor, como para o iodo, a principal via de excreção é a urinária. Geralmente, o *status* nutricional de iodo é estimado através da excreção urinária total deste elemento em 24 horas (Soldin, 2002).

Neste estudo, os valores observados nas concentrações séricas de T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> foram constantes, em ambos os grupos. Cabe ressaltar que todos os animais estavam recebendo iodo, em doses iguais e dentro do intervalo de recomendação para a espécie. A constância nos resultados encontrados pode estar associado ao fato de que, segundo Galletti & Joyet (1958), o flúor não impede a capacidade da glândula tireóide de sintetizar os hormônios tireoideanos, quando o iodo estiver em concentrações adequadas no sangue. Assim, a toxicidade do flúor

dependerá da oferta de iodo. Mecanismos de ação do flúor sobre a glândula tireóide sugeridos em diferentes estudos incluem o decréscimo na síntese dos hormônios tireoideanos, efeitos no transporte desses hormônios no sangue e, efeitos na conversão periférica de  $T_4$  para  $T_3$  ou, no processo normal de deiodinação (Larsen & Davies, 2002; Goodman, 2003). Conforme Tezelman et al. (1994), o flúor pode, através do incremento intracelular na concentração de monofosfato de adenosina cíclico (cAMP), causar desensibilização dos receptores, na tireóide, ao estímulo do hormônio estimulante da tireóide (TSH). Por outro lado, Willem et al. (1972) demonstraram que o NaF deprime a endocitose do colóide e secreção da tireóide, através da inibição da glicólise aeróbica, na célula folicular. Na deiodinação, consta em alguns estudos, que há efeito inibitório do flúor na atividade da deiodinase, incluindo decréscimo no plasma de  $T_3$  com normal ou elevada  $T_4$  e TSH (Swarup et al., 1998) ou, normal  $T_3$  com elevada  $T_4$  (Lin-Fa-Fu et al., 1991; Sucheela et al., 2005) ou ainda, decréscimo de  $T_3$  e  $T_4$  (Marasli, 1992; Cinar & Selcuk, 2005). Larsen & Davies (2002) comentaram que, em vários experimentos com animais, tanto os efeitos periféricos, como os efeitos diretos do flúor sobre a glândula tireóide, por vezes, tornam-se difíceis de serem estimados com exatidão, devido à dificuldade de realização de exames, como por exemplo, citaram a medição do TSH.

Neste estudo, não foram observadas alterações histopatológicas e morfométricas na glândula tireóide dos ovinos tratados com NaF. Em experimentos conduzidos em roedores, visando avaliar o efeito de NaF sobre a integridade estrutural da glândula tireóide, observaram-se alterações caracterizadas por degeneração gordurosa no tecido conectivo interfolicular, hiperplasia das células foliculares, incremento no número de folículos e de sua vascularização e decréscimo de colóide (Mahmood Bhat, 1996; Bouaziz et al., 2005).

### Conclusão

Nas condições em o presente estudo foi desenvolvido, é possível concluir que a administração crônica de fluoreto de sódio não interfere na função e na integridade histológica da glândula tireóide de ovinos.

### Referências

- BOUAZIZ, H.; SOUSSIA, L.; GUEMAZI, F.; ZEGHAL, N. Fluoride-induced thyroid proliferative changes and their reversal in female mice and their pups. **Fluoride**, v.38, p.185-192, 2005.
- BURGI, H.; SIEBENHUNER, L.; MILONI, E. Fluorine and thyroid gland function: a review of the literature. **Klin Wochenschr**, v.62, p.564-569, 1984.
- CINAR, A.; SELCUK, M. 2005. Effects of chronic fluorosis on thyroxine, triiodothyronine, and protein-bound iodine in cows. **Fluoride**, v. 38, p. 65-68, 2006.
- GALLETTI, P.M.; JOYET, G. Effect of fluorine on thyroidal iodine metabolism in hyperthyroidism. **Journal Clinical Endocrinology Metabolic**, v. 18, p.1102-1110, 1958.
- GOODMAN, H.M. **Basic Medical Endocrinology**. 3rd Ed. San Diego: Academic Press, 2003.
- LARSEN, P.R.; DAVIES, T.F. Hypothyroidism and thyroiditis. In: Larsen, P.R.; Kronenberg, H.M.; Melmed, S.; Polonsky, K.S. **WilliamsTextbook of Endocrinology**, 10th Ed. Philadelphia: Saunders, 2002. p. 423-455.
- LI, L., The biochemistry and physiology of metallic fluoride: Action, mechanism and implications. **Clinical Reviews in Oral Biology & Medicine**. v.14, p.100-114, 2003.
- LIN-FA-FU, A.; ZHAO, H.X.; LIN, J.; JIANG, J.Y.; MAIMAITI, A. The relationship of a low-iodine and high-fluoride environment to subclinical cretinism in Xinjiang. **Iodine Deficiency Disorder Newsletter**. v.7, 1991.

McDOWELL, L.R. **Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil.** São Paulo: UNESP, 1999. 93p.

MAHMOOD BHAT, G.H. Effect of fluoride ions on the thyroid glands of guinea pigs. **JK Practitioner International**, v.3, p.94-96, 1996.

MARASLI, N. Estudos in serum tri-iodothyronine (T<sub>3</sub>) and thyroxin (T<sub>4</sub>) levels in normal sheep and sheep with fluorosis. **Veterinary Fakultesi Dergisi Universitesi Ankara**. v.39, p.207-214, 1992.

SOLDIN, O.P. Controversies in urinary iodine determinations. **Clinical Biochemistry**, v.35, p.575-579, 2002.

SWARUP, D.; DWIVEDI, S.K.; DEY, S.; RAY, S.K. Fluoride intoxication in bovines due to industrial pollution. **Indian Journal Animal Science**, v. 68, p. 605-608, 1998.

SUSHEELA, A.K.; BHATNAGAR, M.; VIG, K.; MONDAL, N.K. Excess fluoride ingestion and thyroid hormone derangements in children living in Delhi, India. **Fluoride**, v. 38, p. 98-108, 2005.

WILLEM, S.C.; SANDE, J.B.V.; DUMONT, J.E. Inhibition of thyroid secretion by sodium fluoride in vitro. **Biochemical Biophysical Acta**, v.164, p.197-204, 1972.

TEZELMANN, S.; SHAVER, J.K.; GROSSMAN, R.F.; LIANG, W.; SIPERSTEIN, A.E.; DUH, K.Y. Desensitization of adenylate cyclase in Chinese hamster ovary cells transfected with human thyroid-stimulating hormone receptor. **Endocrinology**. v.134, p.1561-1569, 1994.

ZHAO, W.; ZHU, H.; YU, Z.; AOKI, K.; NISUMI, J.; ZHANG, X. Long-term Effects of Various Iodine and Fluorine Doses on the Thyroid and Fluorosis in Mice. **Endocrinology Regulation**. v.32, n.2, p.63-70, 1998.

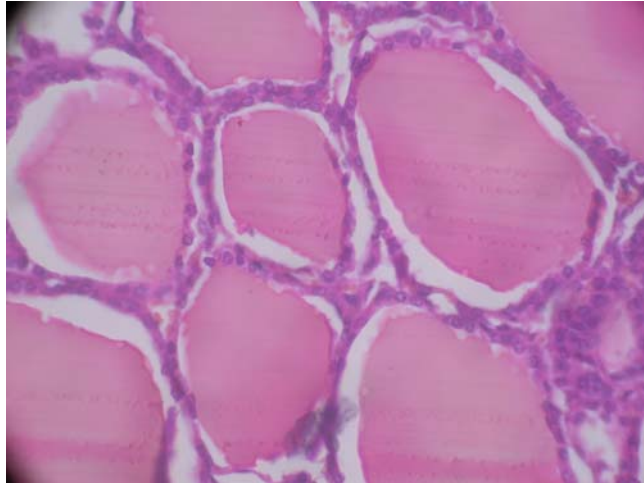


Fig. 1: Glândula tireóide de um animal do grupo controle

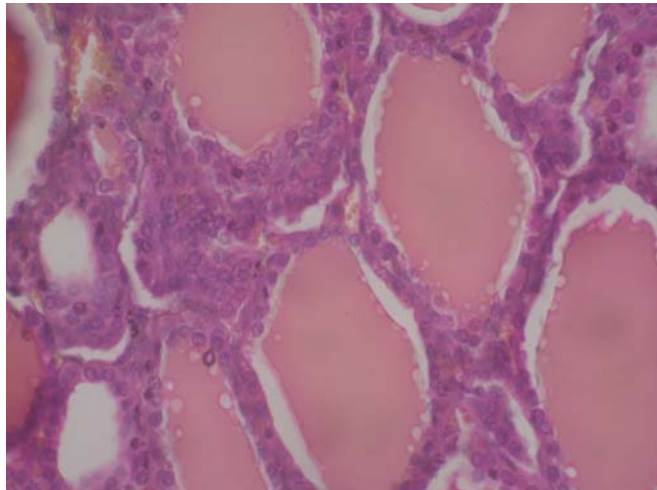


Fig. 2: Glândula tireóide de um animal do grupo tratado com NaF.

Tabela 1: Média  $\pm$  desvio padrão de iodo (I) e flúor (F) na urina de ovinos recebendo iodato de potássio (0,2mg de iodo/Kg de matéria seca), tratados ou não com fluoreto de sódio (4,7mg F/kg de peso corporal).

Dias de Tratamento	I (mg/L <sup>-1</sup> )		F (mg/L <sup>-1</sup> )	
	Controle	Tratado	Controle	Tratado
<b>60</b>	2,66 $\pm$ 1,09a	2,77 $\pm$ 1,22a	0,44 $\pm$ 0,10a	18,04 $\pm$ 3,58b
<b>90</b>	4,08 $\pm$ 1,50a	4,30 $\pm$ 1,50a	0,80 $\pm$ 0,43a	22,30 $\pm$ 4,75bc
<b>120</b>	3,55 $\pm$ 0,56a	3,32 $\pm$ 1,00a	0,90 $\pm$ 0,23a	27,79 $\pm$ 6,79c
<b>150</b>	3,44 $\pm$ 1,25a	3,87 $\pm$ 1,22a	0,68 $\pm$ 0,17a	29,77 $\pm$ 8,26c

Tabela 2: Média  $\pm$  desvio padrão de triiodotironina (T<sub>3</sub>), tiroxina (T<sub>4</sub>), iodo (I) e flúor (F) no soro de ovinos recebendo iodato de potássio (0,2mg de iodo/Kg de matéria seca), tratados ou não com fluoreto de sódio (4,7mg F/kg de peso corporal).

Variável	Grupo	Dias de Tratamento			
		60	90	120	150
<b>T<sub>3</sub></b> (ng/dL)	Controle	-	95,16 $\pm$ 11,84a	57,82 $\pm$ 9,18a	124,49 $\pm$ 48,32a
	Tratado	-	108,95 $\pm$ 36,31a	66,04 $\pm$ 17,18a	138,01 $\pm$ 43,77a
<b>T<sub>4</sub></b> (μg/dL)	Controle	-	4,74 $\pm$ 1,48a	4,62 $\pm$ 0,32a	6,00 $\pm$ 1,10a
	Tratado	-	4,15 $\pm$ 1,15a	5,78 $\pm$ 0,84a	8,04 $\pm$ 0,94a
<b>I</b> (mg/L <sup>-1</sup> )	Controle	1,60 $\pm$ 0,68a	1,85 $\pm$ 1,55a	1,54 $\pm$ 1,31a	0,96 $\pm$ 0,50a
	Tratado	1,20 $\pm$ 0,66a	0,93 $\pm$ 0,51a	0,72 $\pm$ 0,36a	0,50 $\pm$ 0,30a
<b>F</b> (mg/L <sup>-1</sup> )	Controle	0,16 $\pm$ 0,3a	0,10 $\pm$ 0,01a	0,15 $\pm$ 0,02a	0,12 $\pm$ 0,02a
	Tratado	0,41 $\pm$ 0,10b	0,38 $\pm$ 0,05b	0,38 $\pm$ 0,08b	0,39 $\pm$ 0,08b



## DISCUSSÃO GERAL

A essencialidade do iodo é inquestionável, pois esse elemento está envolvido diretamente na síntese dos hormônios tireoideanos e esses, por sua vez, exercem ação sobre todo o metabolismo corporal (Henneman et al., 1955; Mathews & Holde, 1990; Underwood & Suttle, 1999). A obrigatoriedade, legal, da inclusão do iodo ao sal, acabou por desestimular as pesquisas realizadas acerca deste mineral, como se o fato da inclusão, por si só, evitasse a possibilidade de interações entre o iodo e os demais elementos minerais contidos no suplemento. Assim, atualmente, não se tem a real situação do *status* deste elemento nos rebanhos animais. Segundo Hollowell et al. (1998), um meio de estimar o *status* de iodo seria via taxa de excreção urinária, pois segundo o autor, há um equilíbrio estabelecido entre a dieta total de iodo e a excreção urinária de 24 horas deste elemento. Contudo, conforme os resultados observados no presente estudo, pela excreção urinária de 24 horas não foi possível avaliar o *status* nutricional de iodo quando o elemento foi ofertado, via oral, em diferentes doses, dentro do intervalo de recomendação para a espécie. Outra alternativa, mencionada por Soldin (2002), seria a coleta de amostras de urina ao acaso, correlacionando-as com um índice de concentração urinária, como a creatinina, no intuito de estimar a excreção diária de iodo, o que também não teve correlação no presente estudo.

Além da imprecisão quanto ao *status* de iodo nos rebanhos, existe a possibilidade de efeitos antagônicos de outros elementos sobre o iodo. É de conhecimento geral que a carência de minerais ocupa lugar de destaque dentre os fatores responsáveis pela baixa produtividade na atividade pecuária brasileira. A deficiência mais freqüente nas pastagens e, sem dúvida, a de maior repercussão econômica é a de P (McDowell, 1999). Uma das principais fontes desse elemento são as rochas fosfáticas, das quais advêm os fosfatos agrícolas (superfosfato triplo - STP) e pós-tratamento, o fosfato bicálcico. Dessa fonte ainda advêm o flúor, apresentando-se como um contaminante no suplemento mineral. Esse elemento é tóxico para ruminantes e afeta principalmente os ossos e dentes dos animais (Underwood & Suttle, 1999; Li, 2003; Krook & Justus; 2006). Contudo, vários estudos apontam para o efeito do flúor sobre o sistema endócrino em experimentos com animais e em humanos, incluindo decréscimo na função da glândula tireóide (Mahmood, 1996; Zhao et al., 1998). Muitos desses efeitos podem ser considerados

como inaparentes, porém, o desequilíbrio hormonal e a interrupção endócrina gerada podem incrementar o risco para o desenvolvimento de efeitos adversos.

Neste estudo, a administração crônica de NaF, na dose de 4,7mg de flúor/Kg de peso corporal/dia, por um período de 150 dias para ovinos jovens, não interferiu na absorção do iodo, verificado pelas concentrações sanguíneas e urinárias desse elemento. Da mesma forma, não houve efeito na função da glândula tireóide, verificado pelas concentrações séricas, constantes, de  $T_3$  e  $T_4$ . Assim como, não foram observadas alterações na integridade histológica da tireóide, verificado pela manutenção de altura do epitélio basal e pelo diâmetro folicular tanto em animais tratados como controle. É importante ressaltar que também não foram observados quaisquer sinais de fluorose nos animais.

A necessidade inegável de suplementar fósforo aos ruminantes, sobretudo aqueles mantidos sob condição de pastejo, praticamente opõe-se ao elevado custo das fontes que geralmente fornecem este elemento nos suplementos. Tem-se discutido nos últimos anos, a utilização de fontes alternativas de fósforo (fosfatos de rocha e superfosfato triplo) nos suplementos minerais destinados à alimentação animal, no intuito de baixar esses custos. Contudo, tais produtos apresentam certas limitações, relacionadas aos níveis e biodisponibilidade de P, inferiores aos de outras fontes já consagradas (fosfato bicálcico) e também quanto aos níveis de F, superiores. Porém, mesmo assim essas fontes alternativas têm potencial para utilização na suplementação de ruminantes, sob certas condições. O F é um elemento tóxico, de efeito acumulativo, podendo decorrer anos para que seus efeitos adversos se manifestem no animal. Contudo, os sinais de toxicidade do F podem ser revertidos pela descontinuidade da suplementação com a fonte de F. Ainda há de se considerar que o F se apresenta no fosfato de rocha sob uma forma química que o torna menos biodisponível para os animais, reduzindo os riscos dos efeitos deletérios deste elemento. Aliado a isso, há o fato de que os fosfatos de rochas brasileiros apresentam origem e características químicas diversas aos fosfatos já estudados em outros países e no que tange os teores de F, apresentam níveis marcadamente inferiores.

Outro aspecto importante a ser considerado é que os níveis de tolerância descritos para animais foram baseados na toxicidade do F sob forma solúvel, como é o caso do NaF. Esse elemento é cerca de duas vezes mais tóxico do que o F contido nas rochas fosfáticas, nas quais o elemento geralmente se encontra na

forma de Fluoreto de Cálcio. Cabe ressaltar que, no presente experimento, foi utilizada não só uma fonte de F mais biodisponível (NaF) para os animais, mas também uma dosagem de F aproximadamente três vezes superior (164,7mg F) à quantidade que os animais ingerem diariamente no suplemento mineral (60Mg F), considerando um consumo de 30g/animal de um suplemento contendo 2.000mg F/Kg do produto. Os animais utilizados foram altamente tolerantes aos efeitos do F, o que em parte, pode ser devido ao fato de serem ovinos jovens (Milhaud et al., 1984).

## CONCLUSÕES

Nas condições em que o estudo foi conduzido, de um modo geral, é possível concluir que a excreção urinária de iodo, quando utilizada como estimativa do *status* nutricional deste elemento, deve ser considerada com parcimônia, principalmente se forem utilizadas doses dentro do intervalo de recomendação requerido para a espécie. Outrossim, conclui-se que dados referentes a inter-relação do iodo e do flúor gerados em outras espécies, não podem ser aplicados em ovinos, pois o efeito do flúor sobre a glândula tireóide não ocorre na mesma forma e intensidade. Com base nos resultados deste estudo, pode-se afirmar que cordeiros jovens poderiam ser suplementados, por um período de 150 dias, com fontes alternativas de fósforo, sem interferência do flúor sobre a função e histologia da glândula tireóide.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-HIYASAT, A.S.; ELBETIEHA, A.M.; DARMANI, H. Reproductive toxic effects of ingestion of sodium fluoride in female rats. **Fluoride**, v. 33, n. 2, p.79-84, 2000.

ARUMANAYAGAM, M.; SWAMINATHAN, R. Stimulation of the Na<sup>+</sup>, K(+) -ATPase activity of K562 human erythroleukemia cells by triiodothyronine. **Life Science**, v. 51, n. 25, p.1913-1920, 1992.

BARR, D.B. et al. Urinary creatinine concentrations in the U.S. population: implications for urinary biologic monitoring measurements. **Environmental Health Perspective**, v. 113, n. 2, p.192-200, 2005.

BERNAL, A. et al. Effects of induced hypothyroidism on ovarian response to superovulation in Brahman (*Bos indicus*) cows. **Journal of Animal Science**, v. 77, p.2749-2756, 1999.

BRTKO, J.; KNOPP, J.; BAKER, M.E. Inhibition of 3,5,3' triiodothyronine binding to its receptor in rat liver by protease inhibitors and substrates. **Molecular Cell Endocrinology**, v. 3, n. 1, p.81-86, 1993.

BURGI, H.; SIEBENHUNER, L.; MILONI, E. Fluorine and thyroid gland function: a review of the literature. **Klin Wochenschr**, v. 62, n. 12, p.564-569, 1984.

CAVALIERI, H.; ABELIN, N.; MEDEIROS-NETO, G. Serum levels of total testosterone and sex hormone binding globulin in hypothyroid patients and normal subjects treated with incremental doses of L-T4 or L-T3. **Journal Andrology**, v. 9, n. 3, p.215-219, 1988.

CHINOY, N.J. et al. Fluoride toxicity studies in Mehsana District, North Gujarat. **Journal Environmental Biology**, v. 15, n. 3, p.163-170, 1994.

COCHAUX, P. et al. Iodine-induced inhibition of adenylate cyclase activity in horse and dog thyroid. **European Journal Biochemistry**, v. 170, n. 1-2, p.435-442, 1987.

CONRAD, I.J. et al. Minerais para ruminantes em pastejo em regiões tropicais. Campo Grande: CNPGC-EMBRAPA, 1985. **Boletim**. 90p.

DELEMER, B. et al. Alteration of the functional activity of Gs protein in thyrotropin-desensitized pig thyroid cells. **Molecular and Cellular Endocrinology**. v. 75, p.123-131, 1991.

DE MORAES, G.V. et al. Influence of hypo or hyperthyroidism on ovarian function in Brahman cows. **Journal of Animal Science**, v. 76, p.871-879, 1998.

ESCODA, M.S.Q. Bócio endêmico. **UFRN**, 2000. Disponível em: <<http://www.ufrnet.br/~scorpius/16-Bocio%20endemico.htm>>. Acesso em : 12 jul. 2004.

GANONG, W.F. **Review of Medical Physiology**. 15 ed. Norwalk: Appleton & Lange, 1991. p.296-311.

GAMBLE, MV.; LIU, X. Urinary creatinine e arsenic metabolism. **Environmental Healthy Perspective**, v. 113, n. 7, p.442, 2005.

GONZÁLEZ, F.H.D; SILVA, S.C. Bioquímica clínica de minerais. **UFRGS**, Porto Alegre. Disponível em:<<http://www.ufrgs.br/bioquimicaclinica>>. Acesso em: 12 jul. 2001.

GRANNER, D.K.. Thyroid hormones. In: MURRAY, R.K. et al. **Harper's Biochemistry**. 22. ed. Norwalk: Appleton & Lange, 1990. p.487-491.

HEMINGWAY, R.G et al. Plasma inorganic iodine and thyroxine concentrations for beef cows in late pregnancy and early lactation associated with different levels of dietary iodine supplementation. **The Veterinary Journal**, v. 162, p.158-160, 2001.

HOLLOWELL, J.G.; STACHLING, N.W.; HANNON, W.H. Iodine nutrition in the United States. Trends and Public Health Implications: Iodine excretion data from national health and nutrition examination surveys 1 and 111 (1971-1974 and 1988-1994). **Journal Clinical Endocrinology Metabolic**, v. 83, p. 3401-3408, 1998.

HORI, H. et al. Effects of thyroid hormone on carbonic anhydrase I gene expression in human erythroid cells. **Thyroid**, v. 8, n. 6, p.525-531, 1998.

HENNEMAN, H.A.; REINEK, E.P.; GRIFFIN, S.A. The thyroid secretion rate of sheep as affected by season, age, breed, pregnancy and lactation. **Journal of Animal Science**. v.14, n.2, p.419-434, 1955.

JOOSTE, P.L. et al. Endemic goitre in the absence of iodine deficiency in schoolchildren of the Northern Cape Province of South Africa. **European Journal Clinic Nutrition**, v. 53, n. 1, p.8-12, 1999.

KANECO, J.J., Thyroid function. In: KANECO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5. ed. London: Academic Press, 1997. Cap.21, p.571-588.

KAPTEIN, E.M.; HAYS, M.T.; FERGUSON, D.C. Thyroid hormone metabolism. In: FERGUSON, D.C. Thyroid Disorders. **Veterinary Clinics of North America: Small animal practice**. v. 24, n. 3, p.431-463, 1994.

KROOK, L.; JUSTUS, C. Fluoride poisoning of horses from artificially fluoridated drinking water. **Fluoride**, v. 39, n. 1, p.3-10, 2006.

LI, L., The biochemistry and physiology of metallic fluoride: Action, mechanism and implications. **Clinical Reviews in Oral Biology & Medicine**. v. 14, n. 2, p.100-114, 2003.

LIN-FA-FU. et al. The relationship of a low-iodine and high-fluoride environment to subclinical cretinism in Xinjiang. **Iodine Deficiency Disorder Newsletter**. v. 7, n. 3, 1991.

LOPES, H.S.O.; TOMICH, T.R. **Avanços recentes na nutrição mineral de bovinos**. Piracicaba: FEALQ, 2001. p.205-234.

MAHMOOD, B. G.H. Effect of fluoride ions on the thyroid glands of guinea pigs. **JK Practitioner International**, v. 3, n. 2, p.94-96, 1996.

MARASLI, N. Estudios in serum tri-iodothyronine (T<sub>3</sub>) and thyroxin (T<sub>4</sub>) levels in normal sheep and sheep with fluorosis. **Veterinary Fakultesi Dergisi Universitesi Ankara**. v. 39, n. 1/2,p.207-214, 1992.

MATHEWS, C.C.; HOLDE, K.E. **Biochemistry**. Redwood: Benjamin/Cummings, 1990. 1129p.

McDOWELL, L.R. **Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil**. São Paulo : UNESP, 1999. 93p.

McDOWELL, L.R.; TIFFANY, M.E. Mineral deficiencies in Florida and supplementation considerations. 1998. Disponível em: <<http://www.animal.ufl.edu/befcattle/pubis/short98/mcdowell>>.. Acesso: 22 mai. 2001.



MILES, R.D.; HENRY, P.R. Relative trace mineral bioavailability. **Ciência Animal Brasileira**. v. 1, n. 2, p.73-93, 2000.

MILHAUD, G.; CAZIEUX, A.; ENRIQUEZ, B. Experimental studies on fluorosis in the suckling lambs. **Fluoride**, v. 17, p. 107-114, 1984.

ORTOLANI, E.L. The mineral consumption and weight gain of grazing steers fed mineral supplements with different sodium contents and physical forms. **Ciência Rural**. v. 29, n. 4, p. 711-716, 1999.

PAIN, B. et al. The carbonic anhydrase II gene, a gene regulated by thyroid hormone and erythropoietin, is repressed by the v-erbA oncogene in erythrocytic cells. **New Biology**, v. 2, n. 3, p.284-294, 1990.

SECRETARIA DE APOIO RURAL E COOPERATIVISMO. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil). Instrução normativa nº 001, de 02 de maio de 2000. Estabelece normas para utilização do Super Fosfato Triplo na alimentação animal. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, data

SECRETARIA DE APOIO RURAL E COOPERATIVISMO. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil). Instrução normativa nº 12, de 30 de novembro de 2004. Aprova o regulamento técnico sobre fixação de parâmetros e das características mínimas dos suplementos destinados a bovinos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 02 de dez. de 2004. Seção 1. Anexo 1.

SOLDIN, O.P. Controversies in urinary iodine determinations. **Clinical Biochemistry**, v. 35, p.575-579, 2002.

SUSHEELA, A.K.; JETHANANDANI, P. Circulating testosterone levels in skeletal fluorosis patients. **Journal Toxicology and Clinical Toxicology**, v. 34, n. 2, p.183-189, 1996.

SWARUP, D. et al. Fluoride intoxication in bovines due to industrial pollution. **Indian Journal of Animal Science**. v. 68, n. 7, p.605-608, 1998.

TEZELMANN, S. et al. Desensitization of adenylate cyclase in Chinese hamster ovary cells transfected with human thyroid-stimulating hormone receptor. **Endocrinology**. v. 134, n. 3, p.1561-1569, 1994.

TOKARNIA, C.H. Deficiências minerais em animais de fazenda, principalmente bovinos criados em regime de campo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 20, n. 30, 2000.

UNDERWOOD, E.J.; SUTTLE, N.F. **The mineral nutrition of livestock**. 3. ed., London: CAB Internacional, 1999. 664 p.

VAN DEN HOVE, M.V. et al. Hormone synthesis and storage in the thyroid of human preterm and term newborns: effect of thyroxine treatment. **Biochimie**, v. 81, n. 5, p.563-570, 1999.

WHITFORD, G.M.; PASHLEY, D.H. Fluoride absorption: the influence of gastric acidity. **Calcified Tissue International**, v. 36, p.302-307, 1984.

YUAN, S.D. et al. An experimental study of inhibition on lactation in fluorosis rats. **Sheng Li Hsueh Pao**, v. 43, n. 5, p.512-517, 1991.

YANG, Y.; WANG, X.; GUO, X. Effects of high iodine and high fluorine on children's intelligence and the metabolism of iodine and fluorine. **Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi**. v. 15, n. 5, p.296-298, 1994.

ZHAO, W. et al. Long-term Effects of Various Iodine and Fluorine Doses on the Thyroid and Fluorosis in Mice. **Endocrinology Regulation**. v. 32, n. 2, p.63-70, 1998.