

Carolina de Souza Guerra

**Utilização de *Plateau* na Concentração de Chumbo
no Esmalte Decíduo Permite Identificar Crianças
Contaminadas**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre, pelo curso de Pós-Graduação em Odontologia - Área de Concentração: Odontopediatria.

Orientadora: Profa. Dra. Raquel Fernanda Gerlach

Ribeirão Preto
2007

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Guerra, Carolina de Souza

Utilização de *plateau* na concentração de chumbo no esmalte decíduo permite identificar crianças contaminadas. Ribeirão Preto, 2007.

54 p.; 28cm

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre, pelo curso de Pós-Graduação em Odontologia - Área de concentração: Odontopediatria.

Orientadora: Gerlach, Raquel Fernanda.

1. Biópsia de esmalte 2. Dente decíduo 3. Contaminação por chumbo 4. Meio ambiente 5. Marcador toxicológico

Carolina de Souza Guerra

Utilização de *Plateau* na Concentração de Chumbo no Esmalte Decíduo Permite Identificar Crianças Contaminadas

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre, pelo curso de Pós-Graduação em Odontologia - Área de Concentração: Odontopediatria.

Data da defesa: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Autorização para reprodução

Autorizo a reprodução e/ou divulgação total ou parcial da presente obra, por qualquer meio convencional ou eletrônico, desde que citada a fonte.

Carolina de Souza Guerra

Universidade de São Paulo

Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto

Depto. de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social

Avenida do Café s/n CEP 14040-904

Ribeirão Preto

e-mail: carolforpusp@hotmail.com

Dados Curriculares

Carolina de Souza Guerra

Nascimento	17/12/1982 - Ituverava-SP
Filiação	Aloísio Horacio Guerra Sonia Maria de Souza Guerra
2001-2004	Curso de Graduação Universidade de Uberaba - UNIUBE
2005 - 2007	Especialização em Odontopediatria pela Associação Odontológica de Ribeirão Preto - AORP
2005 - 2007	Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Odontologia Área de Concentração: Odontopediatria Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP

Sumário

1 Introdução.....	1
2 Metodologia.....	20
3 Resultados.....	29
4 Discussão.....	35
Referências.....	45
Anexo.....	55

Agradecimentos

ÀS AMIGAS

Érica Maria Luchesi, pela amizade, respeito, carinho e companheirismo durante toda minha vida. Por todo apoio e pelos conselhos valiosos que você estava sempre disposta a me dar...

Flávia dos Santos Silva, por estar sempre ao meu lado. Por ser essa pessoa tão maravilhosa, tão alto astral. Pela eterna e verdadeira amizade!

Livia Cristina dos Santos, pela grande amizade durante todos esses anos. Pelo carinho, incentivo, e por saber que eu posso contar sempre com você.

Juliana Parreira Lopes, pelo privilégio da sua amizade. Pelo apoio e por estar sempre por perto...

Marta Contente, por sempre ter uma palavra de conforto e amizade.

Thais Andreolli e Fani, pelos momentos de aprendizado, alegrias e angústias compartilhados. Por estarem ao meu lado em momentos felizes e de preocupações. Pelos desabafos... Pela fundamental ajuda e por terem sido tão companheiras.

Carolina Torres, pela convivência, principalmente durante esses dois anos, pelo incentivo e, principalmente, pela amizade.

Glauce Regina Costa de Almeida, por ter se mostrado tão prestativa, amiga e companheira nos momentos mais difíceis da conclusão desse curso.

Renata Cristina Almeida, pelas sugestões e pelo carinho.

Agradecimentos

Isabel Maria Porto, pelo carinho, amizade e incentivo sempre. Você teve uma participação muito especial na minha entrada no doutorado, muito obrigada!

Iza Peixoto, por ter sido tão atenciosa e amiga durante os momentos decisivos do nosso curso de pós graduação.

Janisse Martinelli, pelos conselhos e por ter tido uma participação tão especial na minha entrada no mestrado.

Jaciara Miranda, por ser sempre tão prestativa em todos os momentos. Obrigada pela amizade sincera e por eu ter tido o privilégio de conhecer uma pessoa de coração tão grande feito o seu. Você teve um significado especial na minha pós graduação e tenho certeza de que você sabe disso.

Maria Stella Raffaini, pelo tempo em que moramos juntas e pelo exemplo de pessoa que você é.

Gisele Faria, pelos ensinamentos e por ser pra mim um exemplo de competência

Agradecimentos

Minhas queridas amigas

Tenho muito de cada uma de vocês e tenho certeza de que vocês também têm um pouquinho de mim. Obrigada pelo carinho, momentos de descontração, incentivo, compreensão e confiança. Tive momentos em minha vida em que eu tinha certeza de que sozinha não conseguiria. Momentos esses que vocês estavam sempre ao meu lado para me estender a mão, sem que eu precisasse de dizer sequer uma palavra, pois vocês simplesmente compreendiam minhas necessidades. Como já dizia Vinícius de Moraes: as minhas preces diárias pelo bem estar de cada uma de vocês, em suma, é na verdade fruto do meu egoísmo, dirigida ao meu bem estar, pois sei o grande valor da amizade de vocês na minha vida. Amigos, nada mais são do que uma forma de Deus cuidar de nós. A minha conquista é uma prova dos seus bons cuidados e nada mais justo eu estar aqui ressaltando a importância de vocês na minha vida.

AOS AMIGOS

Miriam Ribeiro, Camila Freitas Moraes, Juliana Alves Peres, Vander Mendes, Moyseis Mesquita, Daniel Augusto, Luiz Roberto, Luanna Lima, Jusceli Cordeiro, Lauro, Vanessa Vieira, Tatiane Antunes, Márcia Faria, Andréia Marcaccini, César Arruda. Cada um de vocês tem um significado muito especial na minha vida.

AOS AMIGOS DE PÓS-GRADUAÇÃO

Thais Andreolli, Jaciara Miranda, Maria Stella Raffaini, Iza Peixoto, Cristhiane Bagatin, Cristiane Rocha, Regina Saiane, Patrícia Motta, Patrícia Monteiro, Soraia Cheier. Agradeço pela convivência, pela amizade e pelas boas lembranças que cada um de vocês deixaram em minha trajetória.

Agradecimentos

Não precisa ser homem, basta ser humano, basta ter sentimento, basta ter coração. Precisa saber falar e calar, sobretudo saber ouvir. Tem que gostar de poesia, de madrugada, de pássaro, de sol, da lua, do canto, dos ventos e das canções da brisa. Deve ter amor, um grande amor por alguém, ou então sentir falta de não ter esse amor. Deve amar o próximo e respeitar a dor que os passantes levam consigo.

Devem guardar segredo sem se sacrificar.

Não é preciso que seja de primeira mão, nem é imprescindível que seja de segunda mão. Pode já ter sido enganado, pois todos os amigos são enganados. Não é preciso que seja puro, nem que seja todo impuro, mas não deve ser vulgar. Deve ter um ideal e medo de perdê-lo e, no caso de assim não ser, deve sentir o grande vácuo que isso deixa. Tem que ter ressonâncias humanas, seu principal objetivo deve ser o de amigo. Deve sentir pena das pessoas tristes e compreender o imenso vazio dos solitários. Deve gostar de crianças e lastimar as que não puderam nascer.

Procura-se um amigo para gostar dos meus gostos, que se comova, quando chamado de amigo. Que saiba conversar de coisas simples, de orvalhos, de grandes chuvas e das recordações da infância. Precisa-se de um amigo para não se enlouquecer, para contar o que se viu de belo e triste durante o dia, dos anseios e das realizações, dos sonhos e da realidade. Deve gostar de ruas desertas, de poças de água e de caminhos molhados, de beira de estrada, de mato depois da chuva, de se deitar no capim.

Precisa-se de um amigo que diga que vale a pena viver, não porque a vida é bela, mas porque já se tem um amigo. Precisa-se de um amigo para se parar de chorar. Para não se viver debruçado no passado em busca de memórias perdidas. Que nos bata nos ombros sorrindo ou chorando, mas que nos chame de amigo, para ter-se a consciência de que ainda se vive.

(Vinícius de Moraes)

AOS PROFESSORES

A todos os professores que sempre me acolheram tão bem e contribuíram com a minha formação, com a realização deste e outros trabalhos durante o período da Iniciação Científica e Mestrado. Serei eternamente grata a todos vocês...

Em especial...

Á Prof^a Dr^o. **Wildomar José de Oliveira**, por ter sido determinante na minha carreira universitária, pelos ensinamentos, amizade e incentivo e também a todos os meus professores da Universidade de Uberaba.

Á Prof^a Dr^a **Mamie Mizusaki Iyomasa**, pela convivência, pelos ensinamentos, amizade e por ter sido um exemplo pra mim, por todo o meu curso de pós graduação.

À Prof^a Dr^a **Léa Assed Bezerra da Silva** pelas sugestões, ensinamentos, pela presteza e disponibilidade a mim despendidas. Por ser exemplo de competência, equilíbrio e respeito.

Á Prof^a Dr^o **Paulo Nelson Filho** pela dedicação por seus alunos, pelos ensinamentos dentro e fora da Odontologia, que me servirão de estímulo por toda a vida.

Á Prof^a Dr^a **Maria da Conceição Pereira Saraiva**, pelas sugestões e auxílio na elaboração da análise estatística e pela atenção com que sempre me recebeu.

À Prof^a Dr^a **Maria Cristina Borsatto**, pelos ensinamentos e incentivo.

À Prof^a **Alexandra Mussolino de Queiroz** pelos ensinamentos no curso de especialização e pela convivência.

Agradecimentos

Ao Prof^ª e amiga ***Kranya Victoria Diáz-Serrano***, pelo apoio, incentivo e principalmente, pela amizade.

À Prof^ª Dr^ª ***Maria da Luz Rosário de Sousa***, pelo auxílio durante a calibração e ***Viviane Elisângela Gomes***, pelo apoio nas horas de aperto.

À Prof^ª Dr^ª ***Marília Afonso Rabelo Buzalaf***, à ***Irene Ramires*** e à ***Adrea Gutierrez Maria***, pela atenção e fundamental ajuda durante a coleta de dados em Bauru.

*Sem atalhos mergulhei pelos caminhos do saber,
conheci a inquietude,
o descontentamento,
mas também o fascínio irresistível do maravilhoso
pequeno ante o grandioso, grande ante a pequenez do espírito
e a pretensa força dos poderosos,
de tudo me procurei me aproximar,
tangido pela atração do desconhecido, do irrealizado.
não haveria contudo atalho ou caminho,
não estivesse em mim a força, irresistível, do prazer de percorre-lo.
(Leonardo da Vinci)*

Aos FUNCIONÁRIOS

A todos os funcionários da FORP que sempre me atenderam muito bem. Obrigada pelo carinho e atenção...

Aos funcionários do Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, **Benedita Viana Rodrigues, Fátima Rizoli, Vera Ribeiro do Nascimento, Marco Antônio dos Santos, Rejane Gomes Cavalheiro Mazer e José Aparecido Neves do Nascimento**, pelo convívio e dedicação. Obrigada pela eficiência, simpatia e empenho em ajudar.

Aos funcionários do Departamento de Morfologia, Estomatologia e Fisiologia **Adriana Lima, Célia Aparecida da Silva, Dimitrius Leonardo Pitol, Nilce de Oliveira Wolga** por terem sido tão prestativos comigo em todos os momentos em que eu precisei.

Às funcionárias da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, **Isabel Cristina Galino Sola e Regiane Cristina Moi Sacilloto**, pela atenção sempre concedida e pela cordialidade.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À minha orientadora Prof^a Dr^a ***Raquel Fernanda Gerlach***, por seus profundos conhecimentos, experiência e ensinamentos que muito contribuíram para a minha formação. Por sua qualificada participação na realização deste trabalho e por ter me dado a honra de continuar sendo sua orientanda no doutorado.

Fabício Silva Abbade, pelo amor, carinho e paciência que teve comigo durante toda a graduação e pós graduação. Por estar ao meu lado em todos os momentos, inclusive os mais difíceis.

A todas as pessoas que, de algum modo, contribuíram para a realização deste trabalho.

DEDICO ESTE TRABALHO

Aos meus pais ***Aloísio Horacio Guerra e Sonia Maria de Souza Guerra*** por todo incentivo, confiança, amor e apoio em todos os momentos de minha vida. Por acreditarem na concretização desse sonho e por me darem todo o alicerce necessário. Vocês muitas vezes deixaram a saudade de lado pra que eu pudesse estar aqui, lutando por esse objetivo, deixaram também os seus sonhos para que eu pudesse realizar os meus e mesmo assim tenho certeza de que vocês se sentem muito felizes por isso. O amor incondicional que vocês me deram foi o que mais me deu forças para que eu chegasse até o fim dessa jornada. É por vocês que não desisto nunca, pois quero ser sempre motivo de orgulho e alegria. PAI, MÃE e FILHO, amor eterno.

À minha irmã ***Camilla de Souza Guerra***, pela amizade, pelos cuidados, pela compreensão e pelos conselhos de irmã mais velha. Muitas vezes eu não pude entender os excessos de cuidados, mas hoje sei que nada mais é do "amor". Te agradeço por tudo e saiba que meu amor por você é sem limites.

Aos meus avós maternos (***José Braz de Souza (in memorian) e Maria Ribeiro Soares de Souza***) e avós paternos (***José Horacio Guerra (in memorian) e Helena Guerra***) por me darem exemplo de força, honestidade e amor sempre.

RESUMO

Guerra, C.S. **Utilização de *plateau* na concentração de chumbo no esmalte decíduo permite identificar crianças contaminadas.** [dissertação] Ribeirão Preto (SP): Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo; 2007.

O chumbo acumula-se nos tecidos dentais. Ele é encontrado em altas concentrações na superfície do esmalte, sendo que seu gradiente de concentração foi descrito nos dentes permanentes, com concentrações de chumbo no esmalte que decrescem no sentido da superfície em direção a junção amelo-dentinária. O acúmulo desse metal na superfície de esmalte de dentes decíduos foi bem caracterizado recentemente em nosso estudo (1,9 a 6,1 $\mu\text{g/g}$ de esmalte) em dentes de crianças residentes em uma região marcadamente contaminada e de crianças de uma região supostamente não contaminada. O objetivo desse trabalho foi analisar os dados desse estudo prévio para observar se o acúmulo de chumbo na superfície do esmalte é diferente em dentes de áreas notoriamente contaminadas em comparação com áreas com níveis de contaminação desconhecidos. Os dados utilizados foram obtidos por meio de microbiópsias de ataque ácido de superfícies de esmalte coletadas *in vivo* de incisivos decíduos superiores. A concentração de chumbo foi determinada por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS) e o fósforo foi dosado colorimetricamente para determinação da profundidade de biópsia. Amostras de ambas regiões foram estratificadas em categorias por profundidade de biópsia,

sendo que as profundidades das biópsias não foram diferentes em regiões contaminadas em comparação com áreas não contaminadas. Depois da estratificação dos dados de acordo com as profundidades das biópsias, as crianças foram agrupadas de acordo com os níveis de chumbo nas biopsias de esmalte. Utilizando essa categorização, a porcentagem de crianças com níveis maiores ou menores que 600 µg/g de esmalte foi observada em cada região. Foi feita análise com e sem os dados das biópsias mais superficiais. Compararam-se os dados do gráfico com essa informação na mediana dos conteúdos de chumbo para cada região. Os dados revelaram a existência de um *plateau* na incorporação de chumbo na superfície de esmalte de dentes decíduos expostos à contaminação, que pode ser detectado nos primeiros 6 µm de esmalte (de acordo com nossos dados), que é independente da profundidade da camada mais externa, e pode ser utilizado para informação geral da população. Esses dados são aparentemente mais consistentes que a mediana das concentrações de chumbo, pois estes, por sua vez, revelam a porcentagem de crianças expostas a altos níveis de chumbo.

Palavras-chave: Biópsia de esmalte, dente decíduo, contaminação por chumbo, marcador toxicológico, meio ambiente.

ABSTRACT

Guerra, C.S. **Use of *plateau* in the lead concentration in the deciduous enamel allows to identify contaminated children.** [dissertation]. Ribeirão Preto (SP): Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo; 2007.

Lead accumulates in dental tissues. Lead is found in higher levels in surface enamel, and a gradient has been described in permanent teeth, with lead levels steadily decreasing from surface to inner enamel. Lead accumulation on surface deciduous enamel has not been well characterized so far. In a previous study we described how lead accumulates in superficial deciduous enamel (1.9 to 6.1 μm) in teeth from children living in a region known for environmental lead contamination and from children living in a non-contaminated area. The purpose of this study was to further analyze data from our previous study to observe whether lead accumulation in surface enamel is different in teeth from heavy-contaminated areas in comparison to teeth from areas not known for lead contamination. Data used derived from enamel surface acid-etch microbiopsies sampled *in vivo* from one upper deciduous incisor. Lead was determined by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) and phosphorus was determined colorimetrically to determine biopsy depth. Samples from both regions were stratified in categories of close biopsy depths based on biopsy depth quartiles, and biopsy depths were not different in the contaminated region in comparison to the not contaminated one. After stratification of data according to biopsy depth, children were further grouped according to lead levels in enamel biopsies. Using this categorization, the percentage of children having more or less

lead than 600 $\mu\text{g/g}$ in surface enamel was observed in each location. We also did this analysis with and without the data from the shallowest biopsies. We further compared the graphs data with the information on median lead contents for each location. Our results support the existence of a *plateau* in the incorporation of lead in the surface of enamel, which can be detected in the first 6 μm of enamel (according to our data), which is independent of depth in this outer layer, and can be used to generate information on a population. This data is apparently more robust than median lead levels, since it reveals the percentage of children exposed to high lead levels.

Key-words: Enamel biopsy, deciduous teeth, lead contamination, toxicological marker, environment.

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Pb: um problema de saúde pública

1.1.1 Efeitos adversos do chumbo na saúde humana

Há muitas décadas, a contaminação ambiental por meio de metais pesados tornou-se um grande problema em muitos países. A exposição humana a alguns elementos pode causar efeitos adversos na saúde (Clarkson, 1992) e crianças estão particularmente expostas ao risco de contaminação. Existem alguns metais pesados, como o zinco, por exemplo, que são essenciais em diversas funções no corpo humano, sendo que suas deficiências podem ser prejudiciais à saúde. Por outro lado, o chumbo não apresenta funções fisiológicas conhecidas e é tóxico mesmo em baixas concentrações (Needleman et al., 1972, 1975, 1979; Gurer & Ercal, 2000).

O chumbo é um metal tóxico, insípido, inodoro e maleável. Os minerais constituídos por tal metal mais comuns são a galena, que é o sulfeto de chumbo; a cerusita, que é o carbonato de chumbo branco; e a anglesita, que é o sulfeto de chumbo transparente (Klaassen e Curtis, 1991).

A absorção do chumbo pelo organismo humano acontece por meio da inalação de partículas do metal, por via digestiva e/ou absorção dérmica de produtos orgânicos do chumbo tetraetila e acetato de chumbo (Goyer e Clarkson, 2001). O chumbo quando inalado é completamente absorvido, já quando ocorre absorção gastrointestinal, a porcentagem de absorção é particularizada, em se tratando de adultos e crianças. Enquanto os indivíduos adultos absorvem em torno de 10 a 15%, e armazenam cerca

de 5% do que é absorvido, as crianças absorvem cerca de 41,5% e retêm 38,1% (Ziegler et al., 1978). Em condições sistêmicas alteradas, como em casos de alterações de ferro, cálcio e zinco, a absorção é aumentada (Freitas, 2001).

Depois que o chumbo entra no organismo, pode seguir diversas vias; conforme sua fonte, e extensão; dependendo de sua biodisponibilidade. A fração do chumbo que é absorvida depende principalmente da sua forma física e química, particularmente do tamanho da partícula e a solubilidade do componente específico (National Research Council 1993; Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 1999). Um dos mais recentes estudos sobre toxicocinética do chumbo, relata que uma vez absorvido no sangue, sua meia vida em adultos fica em torno de 40 dias (Rabinowitz et al., 1976) ao passo que em crianças e mulheres grávidas o tempo é muito maior, devido à intensa remodelação óssea (Gulson et al., 1996; Manton et al., 2000).

Após sua absorção, o chumbo passa a ser distribuído por todo o organismo, através da corrente sanguínea. A maior parte dele, cerca de 95%, se liga aos eritrócitos e pode se depositar nos tecidos moles ou duros, ou ainda ser excretado (Rabinowitz, 1990). O restante, cerca de 5%, permanece no plasma, no qual se liga a albumina e alpha-albumina, difundindo-se para os tecidos alvo, principalmente para o sistema nervoso (Needleman et al., 1979).

A exposição ao chumbo pode significar risco de morte e dentre os seus efeitos conhecidos na saúde estão incluídos problemas no metabolismo de vitamina D, nefropatias, hipertensão (Haavikko et al., 1984; Needleman e Bellinger, 1991; Goyer e Clarkson, 2001). Os efeitos no sistema nervoso central e periférico são os mais

importantes e merecem atenção especial (Bellinger, 2004). A contaminação pelo chumbo pode levar a prejuízos no desenvolvimento neurofisiológico e neurocomportamental das crianças, hiperatividade, diminuição do aprendizado e das funções do sistema cognitivo e ainda, diminuição da audição (Needleman et al., 1979; Frank et al., 1990). Para um mesmo nível de chumbo no sangue, os efeitos deletérios são mais severos em crianças, pois eles interferem em órgãos e sistemas ainda em desenvolvimento (Needleman e Bellinger, 1991; Cicuttini et al., 1994; Wigg, 2001).

1.1.2 Histórico de algumas contaminações ambientais pelo chumbo

Há relatos de exposição ao chumbo que datam de 4000 a.C, época em que as mulheres usavam maquiagem à base de cerusita e, desde então, existem evidências de crianças que morreram contaminadas por pó do metal, a partir do contato com suas mães. Existem países que ainda utilizam minerais que contêm chumbo para fabricação de produtos de beleza (Vannoccio, 1966).

A história da escrita também está ligada ao chumbo. Antigos Faraós e reis assírios escreviam mensagens em pedaços de chumbo e ancestrais chineses escreviam em bambu com tinta de chumbo branco (Xenophon, 1968).

Hipócrates, em 500 a.C., descreveu cólicas severas em trabalhadores de extração de metais. Em 200 a.C estima-se que 75% do chumbo de Roma era subproduto da mineração da prata, e em 50 a.C, a demanda da República Romana era muito grande e praticamente todo o metal advindo da mineração da prata era consumido. Nesse tempo,

o chumbo tornou-se parte intrínseca da vida dos romanos, sendo utilizado como material indispensável para a população civilizada; uma descoberta para engenharia civil. Este metal passou a fazer parte de encanamentos e soldas e devido à sua alta densidade, também era utilizado pelos gregos para confeccionar projéteis (Patterson, 1988).

O chumbo também teve relação direta com a produção de vinhos. Vinicultores por toda a Europa empregavam tal metal em cada estágio da produção do vinho utilizando-o com finalidade de armazenamento. Gradualmente, a experiência e a experimentação induziram a alteração intencional dos vinhos. Os vinicultores descobriram que o chumbo poderia retardar a fermentação. Os vinhos armazenados na presença do metal duravam mais tempo e possuíam um gosto mais suave do que aqueles armazenados na sua ausência (Nriago, 1968).

Historiadores de arte estão examinando biografias de pintores para evidenciar que a tendência de associar "genialidade, loucura e melancolia" pode ser consolidada no amplo uso de pigmentos contendo chumbo através dos séculos. Em 1713, o médico Bernardino Ramazzini publicou suas suspeitas que Corregio e Rafael foram igualmente vítimas da contaminação pelo metal (Nicander, 1966).

O chumbo também era usado para outras atividades, tal como a pintura de cerâmicas, e, ainda hoje, continua utilizado por todo o mundo com este propósito. A contaminação pelo uso de cerâmicas pintadas à base deste metal e utensílios esmaltados com compostos de chumbo para preparação de alimentos tem sido documentada desde a Antigüidade (Nriago, 1968).

1.1.3 Fontes de contaminação pelo chumbo no Brasil

A literatura científica brasileira, no que diz respeito aos efeitos adversos do chumbo na saúde da população, é escassa. Apenas no final do século XX surgiram os primeiros trabalhos sobre contaminação pelo metal (Franco-Neto et al., 2003). Os efeitos adversos do chumbo na população, especialmente em crianças, começaram a ser uma preocupação em saúde pública apenas na década de 80, após estudos realizados por um grupo multidisciplinar de pesquisadores brasileiros do estado da Bahia, os quais avaliaram crianças residentes nas proximidades de uma refinaria de chumbo, em Santo Amaro da Purificação, BA (Carvalho et al., 1984, 1985).

Muitos fatores podem influenciar os níveis de chumbo na população, como idade, gênero, grupo étnico, alimentação, consumo de álcool, fumo e local de habitação. Além disso, as fontes de contaminação podem modificar-se com frequência, e pode alterar a localização e intensidade ao longo do tempo, o que faz com que os valores referenciais sejam alterados (Gerhardsson et al., 1996).

Atualmente as principais fontes de contaminação se devem, principalmente, ao uso do metal para produção e reciclagem de alguns tipos de baterias e placas elétricas. Outras fontes de contaminação incluem a produção de munição; a manufatura da borracha; soldas e materiais de revestimento na indústria automotiva; sua utilização como ingrediente nas tintas, vitrificados, esmaltes e vidros; nos pigmentos e inseticidas. Algumas fontes de liberação do metal no ar incluem a queima de combustível, tais como carvão ou óleo; processos industriais, e queima de lixo. A fonte de chumbo na poeira e

solo inclui as partículas que caem do ar ou trazidas pelo vento, e o desgaste e raspagem das tintas que possuem chumbo dos prédios e outras estruturas (Goyer e Clarkson, 2001).

A indústria brasileira produtora de chumbo produz cerca de 0,003% da produção mundial, sendo que nos últimos anos, esse quadro tem sofrido um declínio significativo. Atualmente, os principais consumidores de chumbo no país são os fabricantes de baterias (80%), seguido por óxidos e pigmentos (12%) e setores elétricos e eletrônicos (8%) (Brasil, 2001).

A contaminação por chumbo tem mostrado valores diminuídos em vários países e isso se deve à adoção de medidas de controle ou proibição da adição deste metal como aditivo na gasolina (Paoliello e De Capitani, 2006).

1.2 Biomarcadores de exposição ao chumbo

A avaliação da exposição aos agentes químicos constitui um importante aspecto para a saúde pública, tendo em vista a possibilidade de se prevenir ou minimizar a incidência de mortes ou doenças decorrentes da interação das substâncias químicas com o organismo humano (Amorim, 2003)

Os estudos dos efeitos das substâncias químicas sobre a saúde possibilitam avaliar o risco da população exposta e constitui o primeiro passo na fixação de normas ambientais para um contaminador químico presente em um meio. E para isso é

importante conhecer a solidez e as limitações dos dados toxicológicos, assim como as informações disponíveis provenientes destes estudos (Amorin, 2003).

Os biomarcadores indicam a exposição individual ao chumbo e sua concentração pode refletir a história de exposição passada ou recente. Inúmeros biomarcadores para chumbo já foram citados na literatura, dentre os quais, sangue, plasma, osso, saliva, cabelo, unha, urina, fezes, dentes, porém cada um deles tem validade variável e revela uma situação específica (Barbosa et al., 2005).

1.2.1 Chumbo no sangue e no plasma

Durante as últimas cinco décadas, o sangue total tem sido o principal fluido biológico utilizado para análise da exposição ao chumbo (Rabinowitz, 1995). A concentração deste metal no sangue dura em média 30-40 dias, podendo ocorrer um declínio se o indivíduo não for exposto a novas fontes de contaminação (Altshuller et al., 1962; Attramadal e Jonsen, 1976; Brudevold et al., 1977; Needleman et al., 1979; Haavikko et al., 1984; Rabinowitz, 1990, Hu et al., 1998, Ericson, 2001). Isso se deve ao fato do chumbo ser distribuído para os diferentes tecidos do organismo, principalmente os mineralizados, pois o chumbo se comporta de forma muito semelhante ao cálcio (Stewart, 1974). Caso a exposição cesse ou diminua, o mineral depositado nos tecidos ósseos passa a ser liberado na corrente sanguínea. Desta forma, a porcentagem de chumbo proveniente de exposição passada na corrente sanguínea aumenta até que todo o estoque nos tecidos ósseos se esgote (Gwiazda et al., 2005).

Existe uma constante troca de chumbo entre o sangue e o osso, e a concentração de chumbo no sangue corresponde cerca de 5% do "body burden" total (Rabinowitz, 1998).

De um ponto de vista fisiológico, o chumbo no plasma representa o índice mais relevante de exposição, distribuição e risco à saúde, se comparado com o chumbo no sangue total, pois a fração plasmática está em continuidade com o líquido intersticial dos tecidos (Barbosa et al., 2005). Existem vários relatos de chumbo no plasma em que a validação dos dados é fraca ou ausente. Isso porque não há um material de referência certificado para este metal no plasma (Coke et al., 1996).

Embora agências de saúde e de controle ambiental recomendem limites máximos de exposição ao chumbo, a Secretaria de Segurança e Saúde no Trabalho tem como valor referência de normalidade (VR) o nível sanguíneo de chumbo de 40 µg/dL, e como Índice Biológico Máximo Permitido (IBMP) o nível de 60 µg/dL (Manual de Legislação Atlas:Segurança e Medicina no Trabalho, 1997). Estes níveis estão bem acima daquele estabelecido pela Organização Mundial da Saúde de 20 µg/dL como limite máximo para a população adulta. No caso das crianças, que são mais susceptíveis aos efeitos do chumbo, este limite é de 10 µg/dL (World Health Organization: Regional Office for Europe: air quality guidelines, 1986).

1.2.2 Chumbo na saliva

A saliva tem sido proposta como biomarcador devido alguns fatores como, por exemplo, a facilidade da sua coleta (Silbergeld, 1993). No entanto, a saliva apresenta grande variação na sua concentração de íons ao longo do dia, associado a mudanças de seu fluxo antes, durante e após as refeições. As variações também dependem da maneira na qual a saliva é coletada, se estimulada (ou não) e o nível nutricional e hormonal de cada indivíduo (Barbosa et al., 2005).

Tem-se sugerido que o chumbo na saliva é a excreção direta da fração do metal no plasma difusível (a fração não ligada a proteínas) (Omokhodion e Crockford, 1991). Apesar das associações relatadas na literatura, a concentração de chumbo na saliva varia entre alguns estudos. Dados recentes sugerem níveis de chumbo muito baixos na saliva, em sujeitos expostos e não expostos. De acordo com Wilhelm et al. (2002) a concentração de chumbo na saliva de crianças não expostas é geralmente $< 0,15 \mu\text{g/dL}$.

Falta de padronização ou material de referência certificado e ausência de valores de referência confiáveis para a população humana são os maiores fatores que limitam a utilização das medidas de chumbo na saliva (Barbosa et al., 2005).

1.2.3 Chumbo nos tecidos mineralizados

1.2.3.1 Osso

O osso, assim como o sangue, também pode ser utilizado como biomarcador, porém, devido ao processo de remodelação óssea, a concentração encontrada deve ser correlacionada com a intensidade e período de exposição a esse metal (Hu et al., 1998). Outra desvantagem seria a necessidade de procedimentos invasivos para obtenção desses dados. Recentemente procedimentos não invasivos, porém de elevado custo, como fluorescência de raio X têm se mostrado promissores quando se trata da determinação da concentração de chumbo (Hu et al., 1998; Todd et al., 2000).

O chumbo no sangue é incorporado em tecidos calcificados como ossos e dentes, e pode permanecer por anos (Rabinowitz 1991; O'Flaherty, 1995). De acordo com Rabinowitz 1991, a meia vida do chumbo no osso pode durar de 10 a 30 anos. O estoque de chumbo nos tecidos calcificados depende do *turnover* que acontece no tecido, e esse processo, por sua vez, vai depender do tipo de osso, que pode ser compacto (baixo *turnover*) ou trabecular (alto *turnover*) (O'Flaherty, 1995). Rabinowitz (1989) calculou a capacidade de *turnover* no osso compacto, que é aproximadamente 2% por ano e no osso esponjoso ou trabecular, que é em torno de 8%.

Diferenças fisiológicas entre crianças e adultos aumentam a susceptibilidade das crianças aos efeitos deletérios: nos adultos 94% do "body burden" de chumbo é armazenado nos ossos e dentes, sendo que essa proporção é apenas de 70% em crianças (Barry 1981). Além disso, o crescimento contínuo de crianças implica constante

remodelação óssea, por causa do desenvolvimento esquelético (O'Flaherty, 1995). Tal fato contribui para um estado em que o chumbo no osso é continuamente liberado no compartimento sangüíneo, um processo descrito como contaminação endógena (Gulson et al., 1996). Esse processo é particularmente significativo em se tratando de mulheres grávidas porque a gravidez causa um aumento da remodelação óssea (Rust et al., 1999).

1.2.3.2 Dentina

Hebert Needleman foi um dos pioneiros a estudar os efeitos do chumbo na saúde das crianças. Em 1970, ele realizou um estudo a fim de documentar os efeitos da exposição ao chumbo no desenvolvimento intelectual e comportamento destas crianças. Em 1979, começou sua luta na tentativa de eliminar o chumbo da gasolina, pois a concentração deste metal no sangue das crianças se mostrava muito elevada. Posteriormente, Needleman inovou seus estudos investigando as concentrações de chumbo na dentina e sugeriu, desde então, que esta fosse utilizada como biomarcador para chumbo. Ele relatou que mesmo em concentrações mínimas, particularmente em crianças, o chumbo apresenta efeitos neurotóxicos, levando a diminuição de QI, inabilidades de fala e atenção e distúrbios no desenvolvimento psíquico (Needleman et al., 1972, 1974, 1979, 1992)

A incorporação de chumbo à hidroxiapatita da dentina acontece como reflexo dos níveis de chumbo no sangue durante sua mineralização (Rabinowitz et al., 1993).

A linha neonatal é um achado histológico que, normalmente, está presente em todos os dentes decíduos e, ocasionalmente, em primeiros molares permanentes (Schour, 1936). Por meio de sua visualização pela microscopia de luz podemos utilizá-la para identificação de regiões depositadas nos períodos pré e pós natal no esmalte e na dentina (Weber e Eisenmann, 1971). Assim, a análise de dentes decíduos esfoliados pode fornecer dados importantes sobre a história da contaminação por chumbo desde a vida intra-uterina (Rabinowitz et al., 1993).

A dentina de dentes decíduos evidencia a exposição durante a fase precoce da primeira infância, na qual a contaminação por objetos é uma das maiores fontes de contaminação (Gulson, 1996).

Mesmo depois da erupção dental, a dentina continua sendo depositada, mas em ritmo mais lento. Assim, ela é um indicador da exposição ao chumbo durante toda a vida do indivíduo. Medidas de chumbo na dentina circumpulpar são consideradas as melhores medidas do metal acumulado cronicamente.

1.2.3.3 Esmalte Dental

Existe uma variação muito grande entre as concentrações de chumbo no esmalte descritas na literatura (Shapiro et al., 1972; Fergusson et al., 1987; Antilla, 1987; Gil et al., 1994; Arora et al., 2006), que vai de 1.7 até 4.900 ppm (Antilla, 1987; Brudevold,

1956). Os dados acerca da concentração de chumbo no esmalte de dentes decíduos são escassos, pois poucos trabalhos utilizaram este modelo como amostra (Gomes et al., 2004; Almeida et al., 2006, submetido à publicação). Também há dúvidas sobre a origem do chumbo no esmalte, ou seja, se ele seria oriundo da incorporação pré-eruptiva, ou se o chumbo dos primeiros micrometros de esmalte seria resultante do acúmulo pós eruptivo (contaminação por objetos, saliva, alimentação) (Pfrieme, 1934; Maulbetsch e Rutishauser, 1936; Barbosa et al., 2005).

Um aspecto valioso e interessante das medidas de chumbo no esmalte é sua capacidade de elucidar a história de exposição ao chumbo. Os dentes são compostos por tecidos distintos, os quais são formados em diferentes períodos e por isso, suas partes podem refletir diferentes estágios da vida do indivíduo. Por exemplo, o esmalte de dentes decíduos e parte do esmalte de dentes permanentes são formados *in útero*, fato que pode prover informações da exposição pré natal ao chumbo. Essa informação é valiosa para entendimento da relação dose-efeito das anomalias embrionárias, particularmente em se tratando de disfunção neurotóxica (Gulsson, 1996).

O esmalte dental pode refletir a exposição passada e atual ao chumbo, mesmo que os níveis sanguíneos tenham voltado ao normal (Needleman, 1991). Esse achado se deve ao fato de não ocorrer *turnover* de apatita no esmalte, como acontece remodelação no osso, ou seja, uma vez que o chumbo é depositado, ele não é posteriormente removido (Grobler et al., 2000).

O interesse na utilização do esmalte como biomarcador do chumbo é cada vez maior (Ericson, 2001; Uryu, 2003; Rinderknecht, 2005), particularmente quando

consideramos que as amostras de esmalte superficial são facilmente coletadas por meio de biópsia de esmalte, técnica introduzida por Brudevold et al., em 1975, que utiliza uma amostra dos minerais do esmalte obtida por meio de ataque ácido para fazer a análise de chumbo. Contudo, detalhes sobre o mecanismo de acúmulo de chumbo na superfície do esmalte ainda não foram completamente elucidados (Almeida et al, 2006, submetido à publicação).

1.4 Diferenças nas concentrações de chumbo encontradas no esmalte decíduo e permanente

De acordo com os dados já publicados em relação à mediana da concentração de chumbo na superfície do esmalte dos dentes decíduos, podemos dizer que ela é 5 a 10 vezes menor do que a observada nos dentes permanentes (Antilla, 1987; Gomes, 2004; Almeida et al., 2006, submetido à publicação). Para obtenção desses dados em relação a dentição permanente, utilizou-se biópsias *in vivo* e a partir disso, puderam ser registrados dados acerca da distribuição do chumbo no esmalte em áreas urbanas da Europa (Cleymaet et al., 1991), dos EUA (Brudevold et al., 1975, 1977), Nova Zelândia (1100 µg/g), sendo que no Kenya foi possível a identificação de regiões com baixas concentrações de chumbo (145 µg/g) (Cleymaet et al., 1991).

Conforme descrito no trabalho anterior (Almeida et al., 2006, submetido à publicação), a correlação entre profundidade de biópsia e concentração de chumbo foi maior em Ribeirão Preto ($r= 0,28$) em relação à Bauru ($r= 0,18$), no entanto, não

houve diferença estatisticamente significativa entre essas correlações ($p= 0,4538$). Além disso, em ambos os casos a correlação é fraca. Esse dado é importante, pois mostra que a concentração de chumbo é menos dependente da profundidade de biópsia nos dentes decíduos do que nos permanentes, sugerindo que pode ser vantajoso utilizar o esmalte superficial de dentes decíduos como biomarcador da exposição ao chumbo, em comparação com o esmalte superficial de dentes permanentes.

Não se sabe ainda o que leva ao menor acúmulo de chumbo no esmalte superficial decíduo. Provavelmente esse menor acúmulo seja decorrente das diferenças na mineralização dos dentes decíduos e permanentes.

1.4 Mineralização dos dentes decíduos e permanentes

Existem diferenças biológicas, quando se trata da formação do esmalte de dentes decíduos e permanentes, que podem ser responsáveis pelas diferenças na concentração de chumbo encontrada nesses tecidos (Smith, 1998). A mineralização do esmalte é um processo que dura um longo período de tempo: desde os estágios iniciais de secreção da matriz até a erupção do dente na cavidade bucal (Koo e Cury, 1998). Essa informação não coincide com a cronologia de formação dos dentes a qual é baseada em radiografias e na presença de linha neonatal (Lochner, 1999). A dentina formada antes da linha neonatal se forma antes do nascimento, em concordância com as tabelas de cronologia, sendo que a matriz do esmalte começa a ser depositada antes do nascimento e sua mineralização continua por um longo período após o nascimento. Essa

informação é relevante quando pensamos em utilizar esmalte dental para detectar elementos que se acumulam nos tecidos mineralizados. Esse processo de mineralização do esmalte (maturação do esmalte) é muito diferente daquele ocorrido na dentina ou osso, os quais são secretados como matriz orgânica que se mineraliza em incrementos (cada incremento é depositado em um curto e específico período de tempo), que podem ser detectados na dentina pela presença de linhas incrementais (Dean e Scandrett, 1996; Renz et al., 1997)

O esmalte de incisivos decíduos é secretado durante a vida intra uterina e sua mineralização ocorre desde esse período até sua erupção na cavidade bucal (no caso dos incisivos, isso ocorre nos primeiros 6 meses de vida). Tendo em vista essa informação, podemos afirmar que o esmalte de incisivos decíduos é um bom marcador da exposição precoce ao chumbo. A mineralização dos incisivos superiores permanentes ocorre por um longo período de tempo, que vai de cerca de 2 anos até 6-7 anos de idade, quando esses dentes finalmente irrompem (cerca de 50 meses) (Koo e Cury, 1998).

A característica mais importante da mineralização do esmalte é que a mineralização gradual do esmalte mais profundo ocorre distante das células que secretam matriz rica em proteína, e a mineralização ocorre por trocas de íons por um longo período de tempo. Alguns íons que entram no esmalte durante a mineralização, conseguem isso apenas pela superfície mais externa do esmalte. A partir disso, podemos supor que o chumbo, assim como outros metais e como o flúor, o qual se acumula na camada mais externa do esmalte, depende de sua disponibilidade no

plasma e sua afinidade com os cristais de hidroxiapatita, o maior componente inorgânico do esmalte (Sato et al., 1996)

Os elementos que mostram não ter afinidade pela hidroxiapatita não são depositados no esmalte superficial, provavelmente as concentrações refletem sua disponibilidade no plasma apenas, pois eles não estão conjugados com a hidroxiapatita (Bercovitz e Laufer, 1990). Outra variável essencial é o tempo: células que cobrem o esmalte durante a maturação mudam sua conformação, ou seja, elas perdem o complexo juncional, em um processo chamado de modulação, durante o qual componentes do plasma participam na formação do esmalte. Essa modulação celular ocorre várias vezes ao dia por todo o período de maturação do esmalte. Então, uma terceira variável contribui para o acúmulo de chumbo no esmalte: o tempo de maturação, que depende do elemento dental (Sato et al., 1996).

Nosso estudo anterior (Almeida et al., 2006, submetido à publicação) mostrou que o acúmulo de chumbo na superfície do esmalte dos dentes decíduos está diretamente relacionado com o ambiente onde a população reside. No entanto, não caracterizamos completamente a distribuição de chumbo no esmalte subsuperficial dos dentes decíduos de regiões contaminadas e regiões controle.

Os objetivos desse trabalho são 1- analisar os dados do nosso estudo prévio visando agrupar as crianças de acordo com a concentração de chumbo no esmalte (\geq a 600 $\mu\text{g/g}$ de esmalte); 2- reanalisar a distribuição das crianças de todas as EMEIs de Ribeirão Preto - SP e de Bauru – SP, conforme esse novo agrupamento; 3- Identificar

regiões possivelmente contaminadas em Ribeirão Preto com base na porcentagem de crianças com chumbo \geq a 600 $\mu\text{g/g}$ no esmalte.

METODOLOGIA

2 METODOLOGIA

Os dados analisados no presente trabalho foram obtidos a partir do nosso estudo prévio (Almeida, 2006, submetido à publicação), que possuía os seguintes objetivos: 1) determinar a concentração de chumbo e fósforo no esmalte de dentes decíduos de crianças residentes em uma área notoriamente contaminada por chumbo (Bauru – SP) e crianças residentes no município de Ribeirão Preto - SP, região aparentemente não contaminada; 2) comparar as profundidades de biópsia entre os dois grupos; 3) correlacionar a profundidade de biópsia com a concentração de chumbo em cada um desses dois grupos; 4) estratificar os dados de acordo com a profundidade de biópsia para comparar as concentrações de chumbo de acordo com as categorias de profundidades de biópsia similares.

Para obtenção desses dados foram analisadas um total de 247 crianças com idades entre 4 e 6 anos matriculadas em sete EMEIs (Escolas Municipais de Educação Infantil) localizadas em diferentes regiões do município de Ribeirão Preto - SP escolhidas aleatoriamente e 26 crianças com idades entre 4 e 6 anos residentes numa área próxima a fábrica de Baterias AJAX no município de Bauru - SP.

2.1 Aspectos éticos

Por se tratar de um trabalho com seres humanos, a proposta deste trabalho foi submetida ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão

Preto da Universidade de São Paulo (processo número 2003.1.353.58.7 - Anexo A), o qual cedeu sua aprovação segundo a Resolução 196/96 de 10 de novembro de 1996 da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

2.2 Técnica da biópsia de esmalte

Para a determinação de chumbo no esmalte, foram obtidas amostras da superfície do esmalte dentário por meio de uma técnica denominada biópsia de esmalte. Foram realizadas algumas modificações na técnica original da biópsia de esmalte, proposta por Brudevold et al. (1975), com o objetivo de adaptá-la à presente amostra (Gomes et al., 2004). Tais modificações podem ser enumeradas:

- 1) diminuição do diâmetro da perfuração da fita adesiva (fita mágica, 810 Scotch ® - 3M) de 4mm para 1,6 mm, limitando a área da biópsia;
- 2) diminuição do volume de solução ácida (solução de HCl a 1,6 N em glicerol a 70% (v/v)) de 10 µl para 5 µl;
- 3) diminuição do tempo de exposição do ácido sobre o dente de 35 segundos para 20 segundos.

O dente utilizado para a biópsia foi o 51 ou, na ausência deste, o 61. Este dente era submetido à profilaxia profissional e em seguida a área da biópsia era demarcada, utilizando-se uma fita adesiva com perfuração de 1,6 mm na porção central da superfície vestibular. Nesta área, foram dispensados 5 µl da solução de HCl a 1,6 N em glicerol a 70% (v/v) durante 20 segundos. A solução da biópsia era aspirada e

transferida a um tubo de coleta (tubo tipo eppendorf) contendo 200 μ l de água ultrapura (MILI Q), sendo aplicados em seguida, por 10 segundos, 5 μ l de solução de glicerol a 70%, os quais também eram aspirados e adicionados à solução de biópsia presente no tubo de coleta.

Finalizando este procedimento, a fita adesiva era removida, o dente era lavado com água durante 30 segundos, seco com jatos de ar e isolado novamente para receber aplicação de flúor neutro em gel.

Antes de iniciar os procedimentos da biópsia, todo o material que seria utilizado e a bancada sobre a qual o instrumental e pipetas seriam dispostos foram descontaminados para chumbo com uma solução de ácido nítrico (HNO_3) a 10% durante 24 horas, a fim de remover possíveis contaminações prévias pelo chumbo.

O controle das biópsias foi obtido por meio de brancos e por biópsias controle na superfície da bancada ou sobre as tampas dos raques para ponteira, a fim de verificar a contaminação pelo chumbo no ambiente de trabalho durante os procedimentos.

2.3 Análises químicas

Como as análises químicas das biópsias não foram realizadas imediatamente, e então, para evitar uma possível evaporação e perda de volume das amostras, elas foram evaporadas em estufa a 35°C durante 36 horas. Depois de secas, foram resuspensas com 210 μ l de água ultrapura (MILI Q), agitadas e divididas em duas

metades, sendo uma utilizada para a dosagem de fósforo e outra para a dosagem do chumbo.

A fim de determinar a espessura da camada de esmalte removida durante a biópsia, foi dosada a concentração de fósforo inorgânico (Pi) no esmalte em solução.

2.4 Determinação de fósforo

As concentrações de fósforo presentes nas amostras foram determinadas pelo método colorimétrico de Fiske e Subbarow (1925), cujo princípio é que o fósforo dos fosfatos minerais é transformado em fosfomolibdato, o qual é em seguida reduzido pelo ácido alfa-amino-naftol sulfônico a um produto de cor azul, cuja intensidade de coloração é proporcional ao teor de fósforo inorgânico presente na amostra. A determinação das concentrações de fósforo foi realizada em triplicata. Sendo assim, foram pipetados 30 µl de amostra e acrescentou-se 220 µl de água deionizada, 50 µl de ácido molibdico, agitou-se e após 10 minutos adicionou-se 20 µl de reativo redutor, agitou-se novamente e, após 20 minutos, a intensidade de cor foi medida em um leitor de Elisa com um comprimento de onda de 660 nm. O aparelho foi calibrado com amostras que apresentavam concentrações conhecidas de fósforo, que foram de: 1 µg/ml, 2 µg/ml, 4 µg/ml e 8 µg/ml, utilizadas para a realização da curva de calibração.

2.5 Profundidade da biópsia

Sabendo-se que o esmalte humano é formado de cristais de hidroxiapatita, o qual contém 17,4% de P (Lazzari, 1976) e 37,1% de Ca (Brudevold et al., 1956), em peso e que o esmalte possui uma densidade de 2,95 g/mL (Weidmann et al., 1967), partiu-se destes pressupostos para o cálculo da quantidade de esmalte removido e da profundidade da camada da biópsia.

A profundidade foi então calculada usando-se a fórmula do volume do cilindro ($v=b.h$, onde $v=m/d$) - figura geométrica que se assemelha à camada do esmalte removido. Os resultados da profundidade das biópsias foram expressos em μm .

2.6 Determinação de chumbo

A análise de chumbo foi realizada no Laboratório de Química Analítica "Henrique Bergamin Filho" do Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo (CENA/USP) pela técnica de espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS) (Perkin-Elmer mod. 4100 ZL, Inc. Shelton, CT, USA). O aparelho foi calibrado com soluções de referência contendo de 0 a 100 $\mu\text{g/L}$ de chumbo. A amostra foi misturada a 490 μl da seguinte solução: $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ a 0,2% (w/v), Triton X-100 a 0,5% (v/v) e HNO_3 a 0,2%.

2.7 Análise estatística

A concentração de chumbo foi comparada entre as diferentes profundidades de biópsia, dentre as EMEIs de Ribeirão Preto e também entre as amostras das cidades de Ribeirão Preto - SP e Bauru - SP.

A categorização da profundidade de biópsia foi determinada pelos quartis da distribuição (Q1= 3,18; Mediana= 3,72; Q3= 4,47). A correlação entre o chumbo (log10) e a profundidade de biópsia foi estudada através do coeficiente de correlação de Pearson (r). As profundidades de biópsias também foram comparadas em relação às EMEIs. Sendo a distribuição das profundidades de biópsia normal, o teste t foi utilizado para estas análises.

Dado a não normalidade da distribuição do chumbo, as análises foram realizadas através da comparação de medianas utilizando-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

O nível de significância utilizado em cada uma das estatísticas foi de 0,05. A estatística foi realizada utilizando-se o programa estatístico SAS (Statistical Analysis System) (SAS, 1999).

2.8 Análise dos dados

No trabalho de Almeida et al. (2006, submetido à publicação) os dados foram estratificados de acordo com a profundidade das biópsias. Os valores de profundidade

de biópsia foram expressos como mediana e intervalos Q1 e Q3, sendo 3,6 μm (3,3 - 4,3) para Ribeirão Preto e 3,7 μm (3,2 - 4,5) em Bauru, sem haver diferença estatisticamente significativa entre esses valores.

A concentração de chumbo foi então expressa para cada intervalo (profundidade). Na primeira profundidade, as concentrações de chumbo foram 311,4 $\mu\text{g/g}$ (168,3 - 553,6) em Ribeirão Preto, sendo esses valores a mediana (Q1 - Q3). Já em Bauru, a concentração de chumbo encontrada nesse primeiro grupo de biópsias (as mais rasas) foi 1142,1 $\mu\text{g/g}$ (950,7 - 1444,1). Na segunda, terceira e quarta profundidades de biópsia, a concentração de chumbo foi 278,1 $\mu\text{g/g}$ (143,6 - 483,1), 210,7 $\mu\text{g/g}$ (111,6 - 393,1) e 121,5 $\mu\text{g/g}$ (92,8 - 187,0) em Ribeirão Preto, respectivamente. Já em Bauru, a concentração de chumbo foi 600,4 $\mu\text{g/g}$ (476,4 - 1766,8), 665,7 $\mu\text{g/g}$ (353,1 - 1433,1) e 606,9 $\mu\text{g/g}$ (532,5 - 1437,6), para essas mesmas respectivas profundidades. Esses dados revelaram que há menos chumbo no esmalte superficial de dentes decíduos do que em permanentes (Anttila, 1987; Gomes et al., 2004).

A partir desses dados pode-se concluir que as concentrações de chumbo encontradas nas biópsias mais profundas foi sempre $\geq 600 \mu\text{g/g}$ em Bauru (região selecionada por ser notadamente contaminada).

Com base nessa informação, selecionaram-se esses valores como ponto de corte para classificar as crianças com concentrações altas e baixas de chumbo.

A partir dessa categorização, a porcentagem de crianças com concentrações de chumbo maiores ou menores que 600 $\mu\text{g/g}$ de esmalte foi observada em cada grupo.

Essa análise também foi feita com e sem os dados das biópsias mais superficiais (primeiro quartil). Isso porque dados da literatura sugerem que o esmalte superficial tem uma ampla variação nos níveis de chumbo, possivelmente devido à contaminação de chumbo na saliva (Fiske e Subarrow, 1967; Brudevold et al., 1975; Ericson, 2001; Padula et al., 2006;).

Os dados dos gráficos foram comparados com a informação da mediana dos níveis de chumbo de cada local, obtido no estudo feito anteriormente (Almeida et al., 2006, submetido à publicação).

RESULTADOS

3 RESULTADOS

Para que possamos entender a forma com que reagrupamos os dados, será feita uma síntese dos resultados obtidos em nosso trabalho prévio (Almeida et al, 2006, submetido à publicação).

Os dados foram dispostos baseados em grupos, caracterizados por números, onde cada número (1 a 7), corresponde a uma EMEI do município de Ribeirão Preto.

Os dados acerca da profundidade de biópsia apresentaram distribuição normal. As profundidades de biópsia não foram estatisticamente diferentes quando comparadas entre os municípios de Ribeirão Preto e Bauru ($p=0,7940$). A média desta profundidade, em Ribeirão Preto, foi de 3,9 μm com desvio padrão de 0,9 e em Bauru, de 3,8 μm com desvio padrão de 0,9. Quando os valores de profundidade de biópsia das EMEIs de Ribeirão Preto foram comparados entre si, apenas a EMEI 2 apresentou-se estatisticamente diferente, apresentando maior profundidade de biópsia (4,4 μm e desvio padrão de 1,1). Não houve diferença estatisticamente significativa entre a profundidade de biópsias entre Ribeirão Preto e Bauru ($p= 0,8410$).

Em relação à distribuição das crianças de acordo com níveis de concentração de chumbo podemos dizer que a maioria das crianças de Ribeirão Preto possuía níveis de concentração de chumbo abaixo de 300 $\mu\text{g/g}$ no esmalte dentário, enquanto que em Bauru a maioria das crianças apresentou concentração de chumbo acima de 1000 $\mu\text{g/g}$.

Conforme descrito anteriormente, a distribuição do chumbo no esmalte superficial não era normal, e por isso as análises foram realizadas por meio da comparação de medianas utilizando-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

A Figura 1 mostra um gráfico com as medianas das concentrações de Pb ($\mu\text{g/g}$) em cada EMEI, no conjunto das EMEIS de Ribeirão Preto, e no grupo de crianças da região contaminada de Bauru. As EMEIs 1, 5, 7, 1-7 (resumo dos dados para todas as EMEIs de Ribeirão Preto) e Bauru apresentaram níveis de chumbo maior que 200 $\mu\text{g/g}$. Não houve diferença estatisticamente significativa na quantidade de chumbo entre as EMEIs de Ribeirão Preto, porém, as concentrações de chumbo no esmalte superficial foram estatisticamente diferentes ($p < 0,0001$) quando os valores de todas as EMEIs de Ribeirão Preto e da região contaminada de Bauru foram comparados.

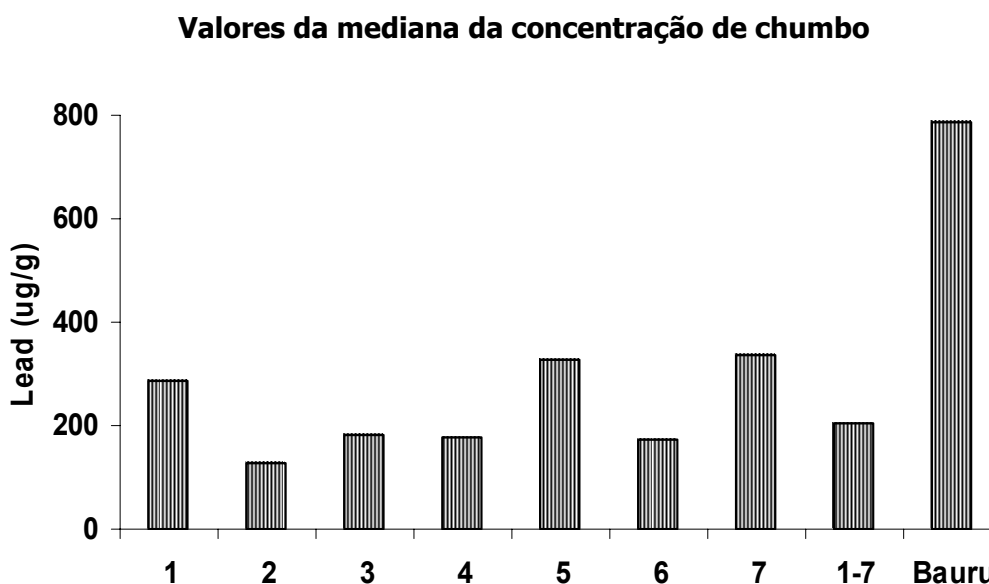


Figura 1- Distribuição das crianças dos municípios de Ribeirão preto e Bauru, de acordo com a mediana da concentração de chumbo no esmalte superficial de dentes decíduos (Ribeirão Preto, 2007).

No presente estudo, os dados foram redistribuídos indicando a concentração de 600 $\mu\text{g/g}$ como ponto de corte para agrupar as crianças, segundo suas respectivas concentrações.

Com o intuito de verificar se os dados acerca da concentração de chumbo do esmalte superficial e subsuperficial de dentes decíduos poderiam ser úteis para detectar populações possivelmente contaminadas, comparamos os dados obtidos entre as populações de Ribeirão Preto e os indivíduos da região notoriamente contaminada de Bauru.

Distribuição das crianças de acordo com a quantidade de chumbo em todas as profundidades de biópsia

A Figura 2 mostra a distribuição de crianças de acordo com os valores de chumbo $\geq 600 \mu\text{g/g}$ e $< 600 \mu\text{g/g}$ para cada EMEI de Ribeirão Preto, de todas as crianças de Ribeirão Preto (1-7) e de todas as crianças de Bauru. Os dados das biópsias foram utilizados, independente da profundidade. Seis das sete EMEIs de Ribeirão Preto tiveram entre 3,7 até 18,2% de crianças com concentrações de chumbo \geq a 600 $\mu\text{g/g}$. Apenas uma EMEI de Ribeirão Preto (número 5) teve uma porcentagem muito alta de crianças com concentração de chumbo \geq a 600 $\mu\text{g/g}$ (35,1%), e Bauru mostrou a mais alta porcentagem de crianças com alta concentração de chumbo (65,4%).

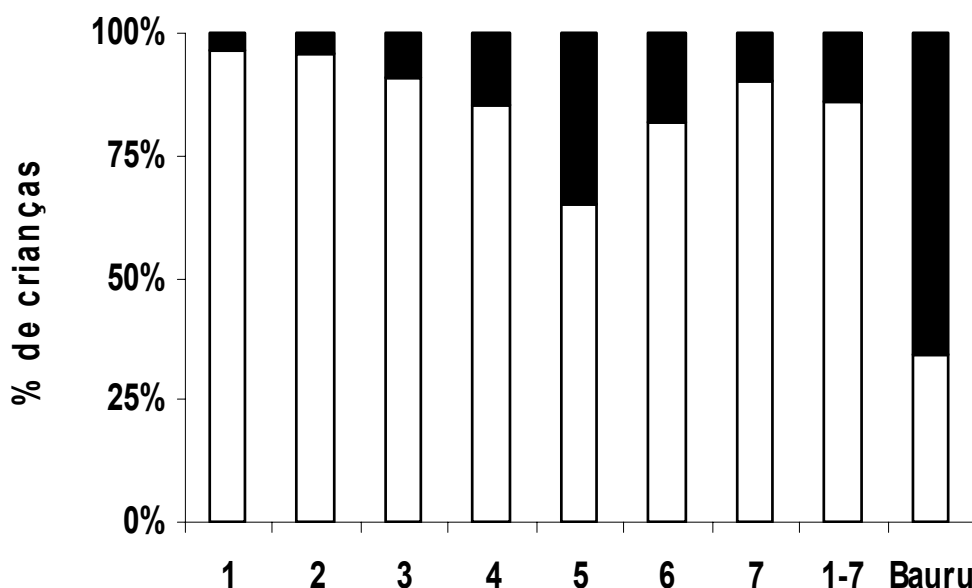


Figura 2 – Distribuição das crianças dos municípios de Ribeirão Preto e Bauru de acordo com os valores de concentração de chumbo $\geq 600 \mu\text{g/g}$ ou $< 600 \mu\text{g/g}$ (Ribeirão Preto, 2007).

Distribuição das crianças de acordo com a quantidade de chumbo nas biópsias mais profundas que $3,18 \mu\text{m}$

Como o chumbo foi descrito estar presente em maiores concentrações na superfície mais externa do esmalte, foi possível fazer a mesma análise acima, excluindo os dados das biópsias mais superficiais (que parecem ter os maiores níveis de chumbo). Isso praticamente não modifica os dados na porcentagem de crianças com $\geq 600 \mu\text{g/g}$.

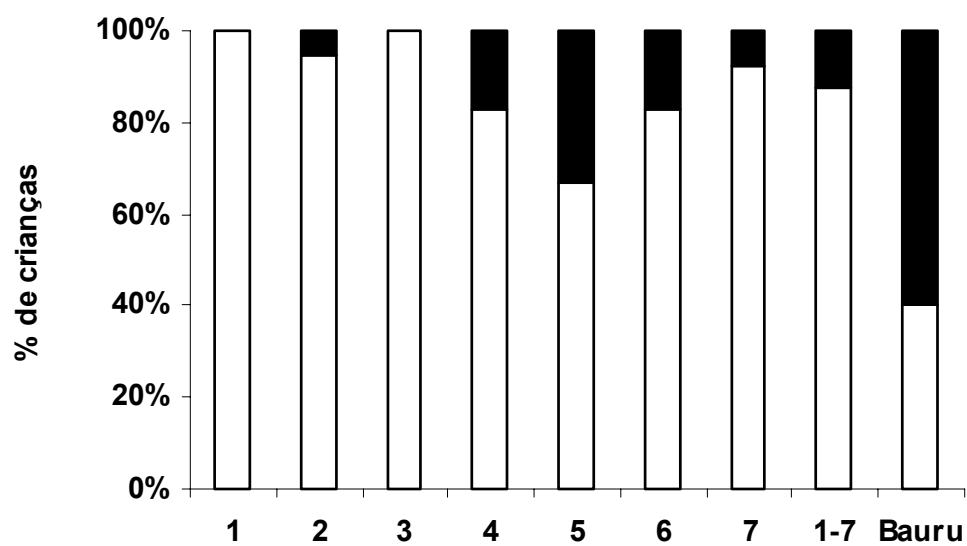


Figura 3 – Distribuição das crianças dos municípios de Ribeirão Preto e Bauru de acordo com os valores de concentração de chumbo $\geq 600 \mu\text{g/g}$ ou $< 600 \mu\text{g/g}$ nas biópsias mais profundas que $3,18 \mu\text{m}$ (Ribeirão Preto, 2007).

DISCUSSÃO

4 DISCUSSÃO

Nos países em que há programas para detecção de pessoas contaminadas por chumbo, o sangue total é utilizado como marcador de contaminação, e as coletas são realizadas anualmente, no caso dos E.U.A., em todas as crianças do país. Assim, embora o chumbo não permaneça no sangue por muito tempo, devido ao maior número de coletas de amostras por vários anos, há uma maior probabilidade de encontrar indivíduos contaminados. Outro aspecto importante do uso do sangue total como marcador de contaminação por chumbo é que as coletas são feitas em crianças, a partir de idades bem precoces, que são os indivíduos com maior suscetibilidade aos efeitos tóxicos do chumbo, principalmente em se tratando dos seus efeitos neurotóxicos (Parsons, 1997).

No caso de países em que esse sistema não é adotado, a coleta esporádica de sangue de alguns indivíduos de uma população, dificilmente refletirá o grau de exposição desses indivíduos, especialmente se essas coletas não forem feitas de forma sistemática, baseadas em desenhos epidemiológicos adequados e com intervalos bem definidos. Esse é um dos problemas que existe no Brasil, onde há poucos dados sobre exposição ao chumbo e, os que existem são esporádicos e realizados em uma pequena amostra de indivíduos.

Além do sangue total, existem outros biomarcadores que refletem a contaminação pelo chumbo (Barbosa, 2005). Sabe-se que a dentina reflete os níveis de contaminação por chumbo (Purchase e Fergusson, 1986), porém a necessidade de procedimentos

mais invasivos para análise da incorporação do metal faz com que o esmalte superficial de dentes decíduos seja uma alternativa para se determinar a exposição de um indivíduo ou população ao chumbo. Mesmo sem sabermos quanto do chumbo no esmalte superficial de dentes decíduos é perdido ou acrescentado pela saliva, os dados de esmalte superficial revelam diferenças muito claras entre populações de cidades notoriamente contaminadas e cidades não contaminadas (Almeida et al., 2006, submetido à publicação). A técnica da biópsia de esmalte, proposta por Brudevold et al. em 1975 e modificada por Gomes et al. em 2004, possibilita a determinação da quantidade de chumbo na região de esmalte de dentes decíduos onde este metal se encontra. Tal procedimento, além de pouco invasivo, indolor, de baixo custo e de fácil execução, mostrou-se adequado para estudos epidemiológicos que frequentemente utilizam-se de grandes amostras populacionais (Almeida et al., 2006, submetido à publicação).

É possível que por meio da técnica de biópsia de esmalte, determinação de Pb por GFAAS e análise dos dados conforme descrito nesse trabalho possamos identificar crianças e regiões contaminadas em países como o Brasil, em que praticamente não há informações sobre contaminação por chumbo na população, a um custo relativamente baixo, gerando informações muito importantes sobre necessidade de estudos de contaminação mais detalhados.

Diante disso, baseado em nosso estudo, nós sugerimos que o esmalte dos dentes decíduos merece mais atenção como um possível marcador em crianças para contaminação com chumbo durante a vida intrauterina e período pós natal.

Para verificar se os dados acerca da concentração de chumbo do esmalte superficial e subsuperficial poderiam ser úteis para detectar populações possivelmente contaminadas, comparamos os dados obtidos entre as populações de Ribeirão Preto e os indivíduos da região notoriamente contaminada de Bauru e reagrupamos os dados de forma a verificar o padrão de variação na distribuição de chumbo na subsuperfície de esmalte de áreas notoriamente contaminadas em comparação com áreas supostamente não contaminadas.

Os dados foram redistribuídos indicando a concentração de 600 µg/g como ponto de corte para agrupar as crianças, segundo suas respectivas concentrações. Esses valores foram úteis para identificar uma EMEI no município de Ribeirão Preto, que possuía crianças com concentrações similares às encontradas em Bauru. Além disso, encontrou-se uma área com 35.1% de crianças com altos níveis de chumbo na subsuperfície de esmalte, sem modificação nos outros parâmetros não discutidos nesse trabalho (cárie dental, defeitos no esmalte ou profundidade de biópsia). Se apenas as medianas fossem comparadas, poderíamos não ter detectado essa EMEI em que havia algumas crianças com altas concentrações de chumbo, pois as medianas estão quase iguais quando as EMEIs 1 à 5 e todas as EMEIs de Ribeirão Preto são comparadas.

Estes resultados enfatizam a importância de tentar estabelecer com exatidão a concentração de chumbo na superfície de esmalte de dentes decíduos em áreas contaminadas versus áreas não contaminadas.

Outro aspecto merece atenção especial: no primeiro quartil de profundidade de biópsia (1,9 até 3,8 μm), a superfície de esmalte mostrou altos níveis de chumbo, e no presente estudo tanto as crianças de Ribeirão Preto quanto as crianças de Bauru, possivelmente tem uma incorporação de chumbo pela saliva depois que o dente irrompe na cavidade bucal. Diante disso, detalhando os dados desse primeiro quartil de profundidade, nota-se que não houve modificação na distribuição de crianças com altos e baixos níveis de chumbo na subsuperfície de esmalte. Isso é uma indicação de que a subsuperfície de esmalte de dentes decíduos mostra uma tendência em direção à máxima incorporação de chumbo em áreas altamente contaminadas, que é muito menor que as concentrações de chumbo observadas na subsuperfície de esmalte de dentes permanentes.

Sugere-se também que a comparação das concentrações de chumbo encontradas no esmalte e na dentina não pode ser feita baseada nas similaridades existentes entre esses tecidos (ambos são calcificados), pois a formação deles é muito diferente (Dean e Scandrett, 1996;Renz et al., 1997;) Diferenças nas concentrações, em se tratando de dentes decíduos e permanentes, existem. Essa afirmação está de acordo com altas concentrações de chumbo encontradas no dente permanente (5-10 vezes maior) (Antilla, 1987; Gomes et al., 2004), pois eles têm um período de maturação muito maior. Além disso, dados da literatura sugerem que ocorre incorporação do metal por ação da saliva, o que no dente permanente acontece por muito mais tempo, em geral.

Os dados foram dispostos baseados no acúmulo de chumbo na superfície de esmalte já descrito na literatura (principalmente baseado nos dados obtidos a partir do

esmalte de dentes permanentes). Esse padrão de acúmulo de chumbo não acontece nos dentes decíduos, conforme discutimos, e, a partir disso, uma observação muito importante surge dessa análise, que não poderia ser vista se os dados não fossem estratificados dessa forma. Enquanto a mediana da concentração de chumbo das crianças de Ribeirão Preto decresce rapidamente das regiões mais superficiais (311,4 $\mu\text{g/g}$) em direção a regiões mais profundas (121,5 $\mu\text{g/g}$), as medianas das crianças de Bauru decresceram apenas no primeiro e segundo quartil de profundidade, e a partir de então as concentrações de chumbo permaneceram praticamente estáveis em torno de 600 $\mu\text{g/g}$ (600,4 $\mu\text{g/g}$, 665,7 $\mu\text{g/g}$, 606,9 $\mu\text{g/g}$ para o segundo, terceiro e quarto quartil de biópsia, respectivamente), indicando que o *plateau* deve ter sido alcançado devido à capacidade do esmalte de incorporar chumbo durante a formação do esmalte. Talvez esse *plateau*, que está sendo descrito pela primeira vez na literatura, seja encontrado apenas na subsuperfície de esmalte de dentes decíduos, devido às peculiaridades inerentes a amelogênese desses dentes. A quantidade de tempo necessário para a maturação do esmalte ser completada é diferente nas duas dentições, ou seja, na dentição decídua e permanente (Smith, 1998). Durante o estágio de maturação da amelogênese, a maioria dos íons são incorporados ao esmalte, e esse estágio dura alguns meses na dentição decídua enquanto que na dentição permanente dura anos. Este longo estágio de maturação na dentição permanente provavelmente resulta em concentrações de chumbo maiores na subsuperfície de esmalte (Brudevold e Steadman, 1956; Brudevold et al, 1975; Purchase e Fergusson, 1986).

O melhor biomarcador, provavelmente, seria um marcador que não estivesse exposto a variações temporais tão acentuadas nos momentos de exposição aguda, crônica e nos momentos de nenhuma exposição (Wilhelm et al., 2002).

Em se tratando do osso como biomarcador, sabemos que há necessidade de um procedimento muito invasivo. Técnicas menos invasivas mais recentes, como o XRF (baseada na fluorescência de RAIÓ X), apesar de promissoras, são de alto custo e ainda indisponíveis no Brasil (Hu et al., 1998; Todd et al., 2000). Outro fator importante é que os tipos de osso têm características diferentes em relação à mobilização de chumbo. A biodisponibilidade do chumbo no osso trabecular é maior, pois neste osso o *turnover* ocorre mais rapidamente (O'Flahert, 1995).

Assim como o osso, os dentes também acumulam chumbo. Contudo, há evidências que os dentes, por serem mais estáveis, são mais confiáveis que o osso como indicador da exposição cumulativa ao chumbo (Maneakrichten et al., 1991). Além disso, os dentes decíduos são facilmente coletados e analisados (Barbosa et al., 2005); o período de esfoliação geralmente se inicia em torno dos 6 anos de idade (incisivos) e continua até em torno dos 13 anos de idade, sendo que há 20 dentes decíduos por criança (Liversidge, 2000). A maioria dos estudos obteve dados baseando-se no elemento dental por inteiro, ou seja, não agruparam os dados segundo o tipo de dente (os diversos tipos de dentes são formados em diferentes estágios) ou então não diferenciaram a concentração de chumbo no esmalte ou dentina (Tvinnerreim et al., 1997). Diversos autores descreveram a existência de diferenças entre a quantidade de chumbo de dentes irrompidos e não irrompidos, tipos de dentes diferentes (incisivos,

caninos, molares) ou ainda dentes coletados de indivíduos de diferentes idades (Brudevold e Steadman, 1956; Altshuller et al., 1962). Portanto, esses fatores devem ser considerados (Needleman et al., 1990; Rabinowitz et al., 1991; Cleymaet et al. 1991; Bellinger et al., 1994; Gomes et al., 2004).

No caso da dentina, também podemos dizer que se trata de um procedimento invasivo, que depende da perda do elemento dental. Apesar de ser considerado um biomarcador seguro, devemos considerar alguns de seus aspectos desfavoráveis, como por exemplo, a dependência do período de esfoliação do dente, no caso de decíduos e perda prematura, no caso de permanentes (Needleman et al., 1979; Bellinger et al., 1987).

Resultados obtidos a partir de estudos realizados por Arora et al. (2006) sugeriram diferenças claras entre as concentrações de chumbo presentes no esmalte e dentina, em resposta a exposição ao metal nos períodos pré e pós natal. Essas diferenças observadas podem ser atribuídas aos diferentes mecanismos de mineralização observados no esmalte e na dentina durante os estágios de desenvolvimento dental. Durante a deposição da matriz do esmalte apenas 30% dele é mineralizado, enquanto que o restante do volume de mineral é adquirido depois que toda a sua espessura foi depositada (Bercovitz et al., 1992). Estudos realizados em fetos humanos e dentes decíduos (Deutsch e Shapira, 1987) evidenciaram que o esmalte presente ao nascimento não é completamente mineralizado e adquire um volume substancial de minerais no período pós natal. Diante disso, é possível que os componentes inorgânicos

depositados no período pré natal, incluindo os depósitos de chumbo, podem ser particularmente adquiridos também no período pós natal (Arora et al., 2006).

A dentina é quase que completamente mineralizada imediatamente após a deposição da matriz (Bercovitz et al., 1992). Assim, é plausível afirmarmos que os níveis de chumbo incorporados nos períodos pré e pós natal na dentina refletem a exposição durante o período correspondente de desenvolvimento. Esses períodos são facilmente definidos na dentina a partir da linha neonatal (Arora et al., 2006). Em relação à estabilidade dos depósitos de chumbo na dentina, Gulsson e Gilling (1997) demonstraram que o índice de trocas de chumbo na dentina circumpulpar foi baixo (aproximadamente 1% ao ano). Esses dados sugerem que a dentina circumpulpar seria um bom marcador de exposição ao chumbo. Tais achados são sustentados por estudos histológicos de dentina que demonstraram que apenas a dentina interna diretamente adjacente à polpa é ocupada por processos odontoblásticos e associada a vasos sanguíneos (Goracci et al., 1999; Yoshida et al., 2002). A dentina adjacente à junção amelo-dentinária, contudo, não demonstrou a presença de processos odontoblásticos. A presença destes processos celulares e vasos sanguíneos faz com que haja uma correlação entre chumbo no sangue e incorporação do metal na dentina conforme sugerido por Rabinowitz et al. (1989, 1993).

A partir da análise desses dados é possível sugerir que o acúmulo de chumbo na superfície de esmalte de dentes decíduos assume uma distribuição padronizada, com ligação aparente com o chumbo encontrado no meio ambiente. Esse acúmulo no esmalte provavelmente reflete a quantidade de tempo que a matriz do esmalte é

exposta ao plasma durante o estágio de maturação e a quantidade de chumbo disponível no plasma (Suga, 1989; Sato et al., 1996; Smith, 1998).

Em conclusão, os resultados do presente estudo demonstraram que:

Nossos dados suportam a existência de um *plateau* na incorporação de chumbo na superfície de esmalte de dentes decíduos, que pode ser detectado nos primeiros 8 μm de esmalte (de acordo com os nossos dados), que é independente da profundidade da camada superficial, e pode ser utilizada como informação geral para toda a população. Esses dados parecem ser de relevância ainda maior do que os valores da mediana, pois eles revelam a porcentagem de crianças expostas a altos níveis de chumbo.

Quando reagrupamos os dados com os valores de chumbo $\geq 600 \mu\text{g/g}$ e $< 600 \mu\text{g/g}$ como ponto de corte para cada EMEI de Ribeirão Preto, para todas as crianças de Ribeirão Preto (1-7) e para todas as crianças de Bauru podemos identificar seis das sete EMEIs de Ribeirão Preto com 3,7 até 18,2% de crianças com concentrações de chumbo \geq a $600 \mu\text{g/g}$. Apenas uma EMEI de Ribeirão Preto (número 5) teve uma porcentagem muito alta de crianças com concentração de chumbo \geq que $600 \mu\text{g/g}$ (35,1%), e Bauru mostrou a mais alta porcentagem de crianças com alta concentração de chumbo (65,4%).

Quando excluímos os dados das biópsias mais superficiais (que parecem ter os maiores níveis de chumbo) notamos que isso não modifica os dados na porcentagem de crianças com \geq a $600 \mu\text{g/g}$.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS*

Almeida GRC, Saraiva MCP, Barbosa F, Krug FJ, Cury JA, Sousa MLR, Buzalaf MAR, Gerlach RF. Differences in lead content of deciduous teeth surface enamel sampled in vivo from children living in an apparently not-contaminated and in a lead-contaminated area: a contribution for the development of an accessible marker of lead exposure in children. *Environmental Research* (submetido à publicação).

Altshuller L F, Halak D B, Landing B H, Kehoe R A. Deciduous teeth as an index of body burden of lead. *J Pediatr* 1962;60:224-229.

Amorim LCA. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais. *Ver Bras Epidemiol* 2003;6: 1-13.

Anttila A, Anttila A. Trace-element content in the enamel surface and in whole enamel of deciduous incisors by proton-induced X-ray emission of children from rural and urban Finnish areas. *Archs Oral Biol* 1987;32:713-717.

Arora M, Chan SW, Ryan CG, Kennedy BJ, Walker DM. Spatial distribution of lead in enamel and coronal dentine of wistar rats. *Biol trace Elem Res* 2006;105:159-170.

ATSDR.2001.Hair Analysis Panel Discussion: Exploring the state of the Science. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Available: http://www.atsdr.cdc.gov/HAC/hair_analysis/ [accessed 15 April 2005].

Attramadal A, Jonsen J. The content of lead, cadmium, zinc and copper in deciduous and permanent human teeth. *Acta Odontol Scand* 1976;34:127-131.

Barbosa F, Tanus-Santos JE, Gerlach RF, Parsons PJ: A critical review of biomarkers used for monitoring human exposure to lead: advantages, limitations, and future needs. *Environ Health Perspect* 2005;113:1669-1674.

Barry, PS: Concentrations of lead in the tissues of children. *Br J Ind Med* 1981;38:61.

Bellinger D C. Lead. *Pediatrics* 2004; 113:1016-1022.

* Normas Internas do Programa de Pós-Graduação em Odontopediatria da FORP - USP (2003), de acordo com International Committee of Medical Journal Editors - Uniform Requirements for manuscripts submitted to by Medical Journal, 1997. Disponível em: <<http://www.mja.com.au/public/information/uniform.html>>. Acesso em: 16 de junho de 2003, e com a Associação Brasileira de Normas Técnicas - NBR 60, 23, ago. 2002.

Bercovitz K, Laufer D. Tooth type as indicator of exposure to lead of adults and children. *Arch Oral Biol* 1990;35:895-897.

Bercovitz K, Laufer D. Systemic lead absorption in human tooth roots. *Arch Oral Biol* 1992;37: 385-387.

Brasil, 2001. Balanço Mineral Brasileiro. Chumbo, <<http://www.dnpm.gov.br/portal/access> in August 2005.

Brudevold F, Aasenden R, Srinivasian B N, Bakhos Y. Lead in enamel and saliva, dental caries and the use of enamel biopsies for measuring past exposure to lead. *J Dent Res* 1977;56:1165-1171.

Brudevold F, Gardner D E, Smith F A. A distribution of fluoride in human enamel. *J Dent Res* 1956;35:420-429.

Brudevold F, Reda A, Aasenden R, Bakhos Y. Determination of trace elements in surface enamel of human teeth by a new biopsy procedure. *Arch Oral Biol* 1975;20:667-673.

Brudevold F, Steadman L T. The distribution of lead in human enamel. *J Dent Res* 1956;35:430-437.

Carvalho, FM, Barreto ML, Silvany-Netto AM, Waldron HÁ, Tavares TM. Multiple causes of anaemia among children living near a lead smelter in Brazil. *Sci Total Environ* 1984 35: 71-84.

Carvalho, FM, Silvany-Netto AM, Tavares TM, Lima MEC, Waldron HA. Lead poisoning among children from Santo Amaro, Brazil. *Pan Am Health Organ Bull* 1985;19:165-175.

Cake KM, Bowins RJ, Vaillancourt C, Gordon CL, McNutt RH, Laporte R et al.: Partition of circulating lead between serum and red cells is different for internal and external sources of lead. *Am J Ind Med* 1996;29:440.

Cicutini FM, Fairley CK, McNeil JJ, Taylor ER: The public health problem of environmental lead exposure. *Med J Aust* 1994;160:173.

Clarkson JJ; o'Mullane DM. Prevalence of enamel defects/fluorosis in fluoridated and non-fluoridated areas in Ireland. *Community Dent Oral Epidemiol* 1992;20:4:196-199.

Cleymaet R, Retief DH, Quartier E, Slop D, Coomans D, Michotte Y. A comparative study of the lead and cadmium content of surface enamel of Belgian and Kenyan children. *Sci Total Environ* 1991;104:175-189.

Cleymaet R, Bottenberg P, Slop D, Clara R, Coomans D. Study of lead and cadmium content of surface enamel of schoolchildren from an industrial area in Belgium. *Community Dent Oral Epidemiol* 1991;19:107-111.

Cleymaet R, Quartier E, Slop D, Retief DH, Smeyers-Verbeke J, Coomans D. Model for assessment of lead content in human surface enamel. *J Toxicol Environ Health* 1991;32:111-127.

Cleymaet R, Bottenberg P, Retief DH, Slop D, Michotte Y, Coomans D. In vivo use of a dual acid etch biopsy for the evaluation of lead profiles in human surface enamel. *Caries Res* 1991;25:256-263.

Dean MC, Scandrett AE. The relation between long-period incremental marking in dentine and daily cross-striations in enamel in human teeth. *Arch Oral Biol* 1996;41:233-41.

Deutsch D, Shapira L. Pattern of mineral uptake in the developing human deciduous enamel. *J Craniofac Genetic Dev Biol* 1987;7:137-43.

Ericson JE. Enamel lead biomarker for prenatal exposure assessment. *Environ Res* 2001;87:136-140.

Fergusson J E, Purchase N G. The analysis and levels of lead in human teeth: a review. *Environ Pollut* 1987;46:11-44.

Fiske CH, Subbarow Y. The Colorimetric Determination of Phosphorus. *J. Biol. Chem.* 1925;66:375-400.

Frank R M, Sargentini-Maier M L, Turlot J C, Leroy M J. Comparison of lead levels in human permanent teeth from Strasbourg, Mexico City, and rural zones of Alsace. *J Dent Res* 1990;69:90-93.

Franco-Netto G, Alonzo HGA, Cancio J, Jost M, Souza-Oliveira S. Human health risk reduction due to lead exposure in Brazil. *Salud Publica Mex.* 2003;45: 255-258.

Freitas, C U. Estratégias de abordagem para exposição ambiental ao chumbo no estado de São Paulo. São Paulo: Centro de Vigilância Epidemiológica do estado de São Paulo. Disponível em <http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/chumbo.htm>. Acessado em 23 Nov 2001.

Gerhardsson L, Kazantzis G, Schultz A. Evaluation of selected publications on reference values for lead in blood. *Scan J Work Environ* 1996: 22:325-331.

Gil F, Perez M L, Facio A, Villanueva E, Tojo R, Gil A. Dental lead levels in the Galician population, Spain. *Sci Total Environ* 1994;156:145-150.

Gomes V E, Sousa M L R, Barbosa F, Krug F J, Saraiva M C P, Cury J A, Gerlach R F. In vivo studies on lead content of deciduous teeth superficial enamel of pre-school children. *Sci Total Environ* 2004;320:25-35.

Goracci G, Mori G, Baldi M. Terminal end of the human odontoblast process: a study using SEM and confocal microscopy. *Clin Oral Investig* 1999;3:126-132.

Goyer R A, Clarkson T W. Toxic effects of metals. In: Cassaret, Doull's. *Toxicology: the basic science of poisons*. 6rd ed. McGraw-Hill Professional 2001:23:811-867.

Grobler SR, Theunissen FS, Kotze TJ. The relation between lead concentration in human dental tissues and in blood. *Arch Oral Biol* 2000;45:607-609.

Gulson BL. Tooth analyses of sources and intensity of lead exposure in children. *Environ Health Perspect* 1996;104:306-312.

Gulson BL, Gillings BR: Lead exchange in teeth and bone--a pilot study using stable lead isotopes. *Environ Health Perspect* 1997;105:820.

Gurer, H; Ercal, N. Can antioxidants be beneficial in the treatment of lead poisoning ? *Free Radioc Biol Med*. Tarrytown 2000;29:927-945.

Gwiazda R, Campbell C, Smith D: A noninvasive isotopic approach to estimate the bone lead contribution to blood in children: implication for assessing the efficacy of lead abatement. *Environ Health Perspect* 2005;113:104.

Haavikko K, Anttila A, Helle A, Vuori E. Lead concentrations of enamel and dentine of deciduous teeth of children from two Finnish towns. *Arch Environ Health* 1984;39:78-84.

Hu H, Rabinowitz M, Smith D. Bone lead as a biological marker in epidemiologic studies of chronic toxicity: conceptual paradigms. *Environ Health Perspect* 1998;106:1-8.

Klaassen, Curtis D. Metais Pesados e seus antagonistas. In: Gilman, A. Goodman et al. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 8. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991:1061-1065.

Koo RH, Cury JA. Soluble calcium/SMFP dentifrice: effect on enamel fluoride uptake and remineralization. *Am J Dent* 1998;11:173-176.

Liversidge HM. Crown formation times of human permanent anterior teeth. *Archives of Oral Biology* 2000;45:713-721.

Lochner F AJ, Keenan F, Cooke M. Multi-element profiling of human deciduous teeth by laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 1999;401:299-306.

Manton WI, Angle CR, Stanek KL, Reese YR, Kuehnemann TJ. Acquisition and retention of lead by young children. *Environ Res* 2000;82:6-80.

Maneakrichten M, Patterson C, Miller G, Settle D, Erel Y. Comparative in increases of lead and barium with age in human tooth enamel, rib and ulna. *Sci Total Environ* 1991;107:179-203.

Manuais de Legislação Atlas: Segurança e Medicina do Trabalho, vol. 16 (ed 36). São Paulo, Editora São Paulo Atlas, 1997.

Maulbetsch A, Rutishauser E. La Teneur des dents en plomb. *Arch Ynt Pharmacodyn et de Therap* 1935: 53-55.

Needleman H L, Bellinger D. The health effects of low level exposure to lead. *Annu Rev Public Health* 1991;12:111-140.

Needleman HL, Tuncay OC, Shapiro IM. Lead Levels in deciduous teeth of urban and suburban American children. *Nature* 1972;235:11-112.

Needleman HL, Davidson I, Sewell EM, Shapiro IM. Subclinical lead exposure in Philadelphia schoolchildren. Identification by dentine lead analysis. *N Engl J Med*. 290:245-248. (1974).

Needleman H L, Gunnoe C, Leviton A, Reed R, Peresie H, Maher C, Barrett P. Deficits in psychologic and classroom performance of children with elevated dentine lead levels. *N Engl J Med* 1979;300:689-695.

Needleman HL. Salem comes to the National Institutes of Health: notes from inside the crucible of scientific integrity. *Pediatrics* 1992;90:977-981.

Nicander A. The poems and poetical fragments. *Alexipharmaca*:1966:75-114.

Nriagu. Lead Poisoning in Antiquity. *Sun Circles and Human Hands* 1968:94-102.

O'Flaherty EJ. Physiologically based models for bone-seeking elements.V:Lead absorption and disposition in childhood. *Toxicol Appl Pharmacol* 1995;131:297-308.

Omokhodion FO, Crockford GW: Lead in sweat and its relationship to salivary and urinary levels in normal healthy subjects. *Sci Total Environ* 1991;103:113.

Padula NA, Abreu MH, Miyazaki LC, Tomita NE. [Lead poisoning and child health: integrated efforts to combat this problem]. *Cad Saude Publica* 2006;22:163-171.

Paolielo MMB, De Capitani EM. Occupational and environmental human lead exposure in Brazil. *Environmental Research* 2006;3:1-10.

Parsons PJ, Reilly AA, Esernio-Jenssen D. Screening children exposed to lead: an assessment of the capillary blood lead fingerstick test. *Clin Chem* 1997;43:302-311.

Patterson L J, Raab G M, Hunter R, Laxen D P, Fulton M, Fell G S, Halls D J, Sutcliffe P. Factors influencing lead concentrations in shed deciduous teeth. *Sci Total Environ* 1988;74: 219-233.

Pfrieme F.Über den Normalen und Pathologischen Bleigehalt der Zahne von Menschen und Tieren, *Arch J Hyg* 1934:111:323.

Purchase NG, Fergusson JE. Lead in teeth: the influence of the tooth type and the sample within a tooth on lead levels. *Sci Total Environ* 1986;52:239-250.

Rabinowitz M B. Toxicokinetics of bone lead. *Environ Health Perspect* 1990;91:33-37.

Rabinowitz MB, Leviton A, Bellinger D: Relationships between serial blood lead levels and exfoliated tooth dentin lead levels: models of tooth lead kinetics. *Calcif Tissue Int* 1993;53:338.

Rabinowitz M B. Relating tooth and blood lead levels in children. *Bull Environ Contam Toxicol* 1995;55:853-857.

Rabinowitz M B, Bellinger D, Leviton A, Wang J D. Lead levels among various deciduous tooth types. *Bull Environ Contam Toxicol* 1991;47:602-608.

Renz H, Schaefer V, Duschner H, Radlanski RJ. Incremental lines in root cementum of human teeth : an approach to their ultrastructural nature by microscopy. *Adv Dent Res* 1997;11:472-7

Rinderknecht AL, Kleinman MT, Ericson JE. Pb enamel biomarker: deposition of pre- and postnatal Pb isotope injection in reconstructed time points along rat enamel transect. *Environ Res.* 2005;99:169-176.

Rust SW, Kumar P, Burgoon DA, Niemuth NA, Schultz BD. Influence of bone-lead stores on the observed effectiveness of lead hazard intervention. *Environ Res* 1999 81:175-184.

Sato K, Hattori M, Aoba T. Disturbed enamel mineralization in a rat incisor model. *Adv Dent Res* 1996. 10:216-224.

Shapiro I M, Needleman H L, Tuncay O C. The lead content of human deciduous and permanent teeth. *Environ Res* 1972;5:467-470.

Shapiro IM: The lead content of teeth. Evidence establishing new minimal levels of exposure in a living preindustrial human population. *Arch Environ Health* 1978;30:483.

Schour I. The neonatal line in enamel and dentine of human deciduous and first permanent molars. *J Am Dent Assoc* 1936;23:1946-55.

Silbergeld EK: New approaches to monitoring environmental neurotoxins. *Ann NY Acad Sci* 1993;694: 62.

Smith CE. Cellular and chemical events during enamel maturation. *Crit Rev Oral Biol Med* 1998;9:128-161.

Stewart D J. Teeth as indicators of exposure of children to lead. *Arch Dis Child* 1974;49:895-897.

Schwartz J, Landrigan PJ, Baker EL, Orenstein WA, von Lindern IH: Lead-induced anemia: Dose-response relationships and evidence for a threshold. *Am J Publ Health* 1990;80:165.

Suga S. Enamel hypomineralization viewed from the pattern of progressive mineralization of human and monkey developing enamel. *Adv Dent Res* 1989. 3:188-198..

Todd A C, Ehrlich R I, Selby P, Jordaan E. Repeatability of tibia lead measurement by X-Ray fluorescence in a battery-making workforce. *Environ Res* 2000;84:282-289.

Tvinnereim H M, Eide R, Riise T, Wesenberg G R, Fosse G, Steinnes E. Lead in primary teeth from Norway: changes in lead levels from the 1970s to the 1990s. *Sci Total Environ* 1997; 207:165-77.

Uryu T, Yoshinaga J, Yanagisawa Y, Endo M, Takahashi J. Analysis of lead in tooth enamel by laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Anal Sci* 2003;19:1413-1416.

Vannoccio B. *The Pirotchnia*. Cambridge Mit Press 1966:55.

Warren C. *Brush with Death: a social history of lead poisoning*. 1st ed. The Johns Hopkins Paperbacks;2000.

Weber DF, Eisenmann DR. Microscopy of the neonatal line in developing human enamel. *Am J Anat* 1971;1312:375-92.

Weidmann SM, Weatherell JA, Hamm SM: Variations of enamel density in sections of human teeth. *Arch Oral Biol* 1967;12:85.

Wigg NR: Low-level lead exposure and children. *J Paediatr Child Health* 2001;37:423.

Wilhelm M, Pesch A, Rostek U, Begerow J, Schmitz N, Idel H, et al.: Concentrations of lead in blood, hair and saliva of German children living in three different areas of traffic density. *Sci Total Environ* 2002;297:109.

World Health Organization: Regional Office for Europe: air quality guidelines. Geneva, Switzerland, World Health Organization, 1986.

Yoshida K, Yoshida N, Ejiri S, Iwaku M, Ozawa H. Odontoblastic processes in human dentin revealed by fluorescence labeling and transmission electron microscopy. *Histochemistry Cell Biol* 2002;118:205-12.

Xenophon O. *Early American: Lead Compounds*. Dover Publication 1968:108-134.

Ziegler E E, Edwards B B, Jensen R L, Mahaffey K R, Fomon S J. Absorption and retention of lead by infants. *Pediatr Res* 1978;12:29-34.

ANEXO

ANEXO A – Aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

Of.CEP/104/FORP/15052003

Senhora Professora,

Ref. Processo nº 2003.1.353.58.7

De ordem do Senhor Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa, informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa, desta Faculdade, em sua 44ª Sessão, realizada no dia 12 de maio de 2003, deliberou **aprovar** o Projeto de pesquisa envolvendo seres humanos intitulado: **"Esmalte dental como marcador toxicológico: determinação de Pb no esmalte de dentes decíduos de crianças residentes em Ribeirão Preto/SP"**, a ser desenvolvido por Vossa Senhoria, na Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP, devendo o atestado, para publicação final, ser expedido pelo Comitê de Ética em Pesquisa, após a entrega e aprovação do Relatório Final pelo referido Comitê.

Na oportunidade, lembramos da necessidade de apresentar a este Comitê, o **Relatório Parcial** no dia **30 de maio de 2004** e o **Relatório Final** no dia **30 de maio de 2005**.

Atenciosamente,

Glaucete Della Rosa
Secretária do Comitê de Ética em Pesquisa

Ilma. Sra.

Profa. Dra. RAQUEL FERNANDA GERLACH

Professora Doutora do Departamento de Morfologia, Estomatologia e Fisiologia

GDR/ccs

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)