VERA LUCIA FERREIRA DE OLIVEIRA

**Análise e influência da presença de metais pesados no
desenvolvimento do esmalte dentário em crianças
na região do Estuário de Santos e São Vicente**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de
Doutora em Ciências

Programa de Patologia

Orientador: Prof. Dr. Luiz Alberto
Amador Pereira

**São Paulo
2017**

VERA LUCIA FERREIRA DE OLIVEIRA

**Análise e influência da presença de metais pesados no
desenvolvimento do esmalte dentário em crianças
na região do Estuário de Santos e São Vicente**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de
Doutora em Ciências

Programa de Patologia

Orientador: Prof. Dr. Luiz Alberto
Amador Pereira

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018, de 13 de Outubro de 2011.
A versão original está disponível na Biblioteca FMUSP).

**São Paulo
2017**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Oliveira, Vera Lucia Ferreira de

Análise e influência da presença de metais pesados no desenvolvimento do esmalte dentário em crianças na região do Estuário de Santos e São Vicente / Vera Lucia Ferreira de Oliveira -- São Paulo, 2017.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Programa de Patologia.

Orientador: Luiz Alberto Amador Pereira.

Descritores: 1.Esmalte dentário 2.Anormalidades dentárias
3.Contaminação ambiental 4.Metals pesados 5.Criança

USP/FM/DBD-373/17

DEDICATÓRIA

À minha querida mamãe Darci Ferreira de Oliveira (in memorian).

AGRADECIMENTOS

A DEUS pela vida e por aumentar a minha fé a cada dia, tornando possível o impossível.

À minha FAMÍLIA meu porto seguro.

Aos meus AMIGOS sinceros por me amarem como sou.

Aos meus MESTRES de todas as horas por me fazerem crescer cada vez mais, por me ensinarem tudo, desde a ler e escrever, até realizar pesquisas. Estenderam as mãos todas as vezes e, não foram poucas, que precisei.

À minha professora de Inglês, TELMA, que aos poucos se tornou mais amiga do que tudo, com seus conselhos, com sua palavra certa nas horas de angústia.

E ESPECIALMENTE AO MEU ORIENTADOR PROF. DR. LUIZ ALBERTO, por ter acreditado em mim e me dado a oportunidade da realização de um sonho.

À minha digitadora, CLAUDIA EVELISE, presença certa nas dificuldades, sempre dando apoio, torcendo para dar tudo certo, dizendo palavras certas em todos os momentos.

Às famílias e crianças que colaboraram na execução da pesquisa, sem elas jamais poderia ter realizado a pesquisa; a elas o meu carinho e amor eterno.

Ao secretário THIAGO, pela calma e tranquilidade ao me atender com carinho todas as vezes que precisei de seu auxílio.

À TODOS MUITO OBRIGADA!! As palavras não são suficientes para agradecer por tudo que fizeram, mas peço a Deus que abençoe a cada um junto com seus familiares queridos!!

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação: Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

SUMÁRIO

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Abstract

Apresentação

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 Chumbo	19
1.2 Manganês	22
1.3 Cádmio	23
2 OBJETIVOS	24
2.1 Objetivo Geral	24
2.2 Objetivos Específicos	24
3 MATERIAL E MÉTODO	25
3.1 Tipo do estudo	25
3.2 Área do estudo	25
3.3 Amostra do estudo	28
3.4 Concentração de metais no esmalte	29
3.5 Procedimentos técnicos	29
3.5.1 Teste de esmalte	30
3.5.2 Procedimentos laboratoriais	33
3.6 Análises Químicas	33
3.7 Análise dos dados	34
3.8 Dados demográficos e socioeconômicos	34
3.9 Aspectos éticos	35
4 RESULTADOS	37
4.1 Aspectos gerais ambientais das áreas: condições de moradias	38
4.2 Condições Dentárias	39
4.3 Defeitos de esmalte	39
4.4 Metais Pesados	40

5 DISCUSSÃO	45
5.1 Alto risco de metais pesados e seus efeitos	45
5.2 Pesquisa no Esmalte Dentário	48
6 CONCLUSÃO	53
7 ANEXOS	54
8 REFERÊNCIAS.....	63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Áreas do estudo	27
Figura 2 – Foto da comunidade mostrando perfil socioeconômico.....	28
Figura 3 – Foto do início do procedimento técnico	31
Figura 4 – Foto do início do procedimento técnico	31
Figura 5 – Foto do início do procedimento técnico	32
Figura 6 – Foto do início do procedimento técnico	32
Figura 7 – Foto do início do procedimento técnico	32
Figura 8 – Contaminação por manganês no esmalte dentário / quartil 3	41
Figura 9 – Contaminação por manganês no esmalte dentário / quartil 4	42
Figura 10 – Contaminação por cádmio no esmalte dentário / quartil 3.....	42
Figura 11 – Contaminação por chumbo no esmalte dentário / quartil 3	43
Figura 12 – Contaminação por chumbo no esmalte dentário / quartil 4	44
Gráfico 1 – Crianças examinadas segundo as áreas analisadas	38
Gráfico 2 – Distribuição por sexo de acordo com as áreas analisadas	38
Gráfico 3 – Concentrações significativas de metais ($p \leq 0.05$) no esmalte dental de acordo com áreas, em $\mu\text{g/g}$, Teste de Kruskal-Wallis	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Concentração e distribuição no esmalte dental de acordo com áreas em $\mu\text{g/g}$	40
Tabela 2 – Contaminação no esmalte dental de acordo com o sexo e cada metal pesado em $\mu\text{g/g}$	44

RESUMO

Oliveira VLF. *Análise e influência da presença de metais pesados no desenvolvimento do esmalte dentário em crianças na região do estuário de Santos e São Vicente* [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2017.

Introdução: Contaminação por metais pesados é um problema de saúde pública muito bem conhecido e a sua exposição pode causar danos a vários órgãos do corpo humano especialmente no sistema nervoso central de crianças jovens e adolescentes. **Objetivo:** Avaliar a contaminação de chumbo, cádmio e manganês em 125 crianças de seis a treze anos de idade residentes em áreas contaminadas (São Vicente, Cubatão Centro, Bertioga e Cubatão Pilões/Água Fria). **Método:** Estudo transversal realizado por meio de exames clínicos e testes de esmalte. Todas as mães destas crianças moravam nas áreas desde antes da gravidez. Os níveis de chumbo, cádmio e manganês ($\mu\text{g/g}$) foram mensurados nas amostras de esmalte dentário através de um espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite, pesquisando quanto à ocorrência de metais pesados no esmalte dentário. **Resultados:** As principais concentrações de chumbo foram $139,48\mu\text{g/g}$ em Cubatão Pilões/Água Fria; $170,45\mu\text{g/g}$ em Cubatão Centro; $213,52\mu\text{g/g}$ em São Vicente e $151,89\mu\text{g/g}$ em Bertioga. As concentrações médias de cádmio foram $10,83\mu\text{g/g}$ em Cubatão Pilões/Água Fria; $12,58\mu\text{g/g}$ em Cubatão Centro; $10,92\mu\text{g/g}$ em São Vicente e $14,57\mu\text{g/g}$ em Bertioga. As concentrações médias de manganês foram $23,49\mu\text{g/g}$ em Cubatão Pilões/Água Fria; $30,90\mu\text{g/g}$ em Cubatão Centro; $41,46\mu\text{g/g}$ em São Vicente e $42,00\mu\text{g/g}$ em Bertioga. O esmalte da superfície dentária pode ser usado como biomarcador eficiente de exposição passada a chumbo, manganês e cádmio, os quais estão associados a fontes bem conhecidas de contaminação por metais pesados. **Conclusões:** Os resultados sugerem que as crianças avaliadas foram expostas a fontes de chumbo, cádmio e manganês desde antes de serem concebidas. Embora Bertioga inicialmente tenha sido escolhida como área controle deste estudo, foi verificada a contaminação por metal pesado nas crianças examinadas.

Descritores: esmalte dentário; anormalidades dentárias; contaminação ambiental; metais pesados; criança

ABSTRACT

Oliveira VLF. *Analysis and influence of heavy metal presence on the development of dental enamel in children at the estuary region of Santos and São Vicente* [Thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2017.

Background: Heavy metal contamination is a longstanding and very well-known public health problem and its exposure can cause damage to several organs of human body, especially on the central nervous system of young children and teenagers. **Objective:** The objective is to evaluate lead, cadmium and manganese contamination in 125 children from six to thirteen years old living in contaminated areas (São Vicente, Cubatão Downtown, Bertioga and Cubatão Pilões/Água Fria). **Methods:** A cross-sectional study through clinical examinations and enamel tests was realized. All children's mothers have been living in these areas before pregnancy. Lead, cadmium and manganese levels were measured on dental enamel samples through absorption spectrometer with graphite furnace, searching for heavy metals occurrence on dental enamel. **Results:** The mean lead concentrations were 139.48µg/g in Cubatão Pilões/Água Fria; 170.45µg/g in Cubatão Downtown; 213.52µg/g in São Vicente and 151.89 µg/g in Bertioga. The mean cadmium concentrations were 10.83µg/g in Cubatão Pilões/Água Fria; 12.58µg/g in Cubatão Downtown; 10.92µg/g in São Vicente and 14.57µg/g in Bertioga. The mean manganese concentrations were 23.49 µg/g in Cubatão Pilões/Água Fria; 30.90µg/g in Cubatão Downtown; 41.46µg/g in São Vicente and 42.00µg/g in Bertioga. Enamel surface may be used as an efficient biomarker for past environmental exposure to lead, manganese and cadmium which are associated to well-known sources of heavy metal contamination. **Conclusions:** The results suggest that the evaluated children were exposed to sources of lead, cadmium and manganese since their conceptions. Although Bertioga initially was chosen as a control area for this study, it was also verified heavy metal contamination on examined children there.

Descriptors: dental enamel; tooth abnormalities; environmental pollution; metals, heavy; child

APRESENTAÇÃO

Estudo financiado pelo CNPq (Conselho Nacional de Pesquisa), processo nº475199/2008-1 (Anexo A), “Avaliação do desenvolvimento dentário em crianças expostas e não expostas aos contaminantes ambientais na Região do Estuário de Santos e São Vicente”, sendo o pesquisador responsável o Prof. Dr. Luiz Alberto Amador Pereira. A dissertação de mestrado foi concluída em junho de 2010 pela autora do presente estudo, no Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva da Universidade Católica de Santos, avaliando-se o desenvolvimento dentário. As análises dos metais foram realizadas no Laboratório de Proteínas da Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual de São Paulo (USP) em Ribeirão Preto. A pesquisa mostra a associação dos metais detectados no esmalte dentário relacionando-os à contaminação ambiental. O estudo é complementar a um mais amplo, desenvolvido pelo Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva na Universidade Católica de Santos, intitulado “Estudo Epidemiológico na População Residente na Baixada Santista – Estuário de Santos: Avaliação de Indicadores de Efeito e de Exposição a Contaminantes Ambientais”, coordenado pelo Prof. Dr. Alfésio Luís Ferreira Braga, aprovado no edital CNPq 50/2005 e cadastrado sob nº CNPq (Auxílio Pesquisa) Processo 402663/2005-5.

Aprovada pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CAPPesq). Pais e/ou acompanhantes foram informados sobre a pesquisa e convidados a participar, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, enfatizando-se que não haveria risco ao paciente, conforme determina a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (Anexos B; C; D; E; F).

Baseado nesta tese foi enviado o seguinte artigo: “DENTAL ENAMEL AS BIOMARKER FOR ENVIRONMENTAL CONTAMINANTS IN RELEVANT INDUSTRIALIZED ESTUARY AREAS IN SÃO PAULO, BRAZIL”, para a revista “ENVIRONMENTAL SCIENCE AND POLLUTION RESEARCH”, sob o número:

DOI 10.1007/s 11356-017-8878-8, tendo seu aceite em 20 de março de 2017 e publicado online em 14 de abril de 2017. Artigo disponível como: “Online First”; publicado no vol. 24: 14080-14090 em Junho de 2017. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-017-8878-8>> (Anexo G).

1 INTRODUÇÃO

As indústrias alteraram o cenário socioeconômico mundial, porém causaram danos ambientais, através de resíduos na água, no solo e no ar, levando a uma preocupação crescente com os riscos relacionados à exposição de agentes químicos e metais pesados, causando efeitos nos organismos em desenvolvimento (Mello-da-Silva; Fruchtengarten, 2005).

No panorama mundial, a saúde humana tem sido influenciada pela instalação de indústrias químicas, petroquímicas e siderúrgicas, com aspectos positivos e negativos. Ao mesmo tempo em que elas têm contribuído para o desenvolvimento social e econômico das regiões em torno das instalações, esses complexos têm sido fonte de danos ambientais importantes, com repercussões tanto para a geração de resíduos do lixo, contaminação das águas e do solo, poluição do ar, entre outros compartimentos ambientais, como para as formas de vida e as culturas das populações nativas dessas áreas (Élson, 1987).

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, 1990) 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, 1974, 1979; Gurur; Ercal, 2000).

A partir dessa conscientização várias medidas de controle ambiental foram sendo desenvolvidas, principalmente na Europa e Estados Unidos, na década de 70, contribuindo para que indústrias se deslocassem para países onde a legislação fosse amena ou inexistente (Élson, 1987).

Os metais pesados são amplamente utilizados na fabricação de pesticidas, baterias, ligas metálicas, tintas para tecidos, aço, entre outros

produtos. Entre os metais que mais contaminam o solo e a água destacam-se o cádmio, arsênio, cromo, chumbo, cobre, zinco, manganês, mercúrio e níquel.

Esses metais são normalmente metabolizados pelo organismo, porém, quando inadequadamente, acumulam-se nos tecidos moles, tornando-se tóxicos. Essa contaminação pode se dar através de alimentos, água, ar e pela absorção da pele, através do contato com produtos agrícolas, industriais e farmacêuticos ou até quando depositados ectopicamente (Ferner, 2001).

Dentre os elementos tóxicos ao organismo encontram-se os pesticidas organoclorados, porém largamente utilizados na agricultura. A ingestão dessas substâncias pela contaminação do solo e da água são muito frequentes (Davies, 1988). A intoxicação por organoclorados e seus efeitos estão bem definidos. Os lactentes e as crianças podem se intoxicar pela absorção dos pesticidas através da pele (Halberg, 1989). Mudanças de comportamento, encefalopatias, ataxias, convulsões e até mesmo coma após exposição cutânea a estes compostos têm sido relatados (Oranskley et al, 1989). Alteração afetiva, insônia e câimbras também (Macconnell et al, 1987). Hoar e colaboradores (1986) mostraram que o risco para linfoma não-Hodgkins é seis vezes maior entre os fazendeiros expostos aos pesticidas, assim como, têm sido, também relacionadas doenças e problemas à gestação como prematuridade, abortamento espontâneo e câncer de mama.

Também os bifenilas policloradas (PCBs) são compostos sintéticos capazes de contaminar o solo, a água subterrânea e de superfície, além dos animais e peixes, onde ocorre a bioacumulação dos produtos. Seus efeitos no organismo humano são os mais adversos possíveis sendo que podem permanecer por décadas no meio ambiente.

Dioxinas e Furanos são um grupo de substâncias tóxicas com estrutura química similar, geralmente são subprodutos de processos industriais para a produção de outros produtos químicos, de pesticidas, de branqueamento do papel e queima de resíduos industriais. Quando inaladas e ingeridas pelos seres, resultam em alterações orgânicas das mais variadas, podendo associá-las ao aumento da incidência de câncer de mama (Warner et al, 2002); alterações hormonais, no sistema imune, promovendo supressão das defesas do organismo (Bekesi et al, 1979; Lu; Wu, 1985; Jennings et al, 1988; Webb et

al, 1989; Zober et al, 1994; Chao et al, 1997; Evans et al, 1988), e no sistema reprodutivo alterando a fertilidade (Roegner et al, 1991; Carlsen et al, 1992; Irvine, 1994), o peso de nascimento (Stockbauer et al, 1988), a integridade somática do feto (Erickson et al, 1984; Paulozzi et al, 1997) e os desenvolvimentos cognitivo (Patandin et al, 1999) e psicomotor da criança (Koopman-Esseboom et al, 1996).

A história nos mostra relevantes desastres ambientais mundiais envolvendo contaminação por metais pesados, como o da baía de Minamata (Japão) onde, a partir de 1932 e mais efetivamente após 1947, foi liberado esgoto contendo alta concentração de mercúrio, contaminando várias espécies marinhas. Em 1952, começaram a aparecer os primeiros casos do que foi chamada a Síndrome de Minamata. Essa intoxicação de mercúrio na população foi devida ao consumo de peixe contaminado levando a mais de 500 mortes (Smith; Smith, 1975), sendo mais de 12 mil pessoas contaminadas. Desde esta ocorrência, o Japão implantou medidas mais restritivas com relação à legislação ambiental.

Também na Suíça, por volta de 1986 houve um incêndio na indústria Sandoz e a água usada para conter o episódio carregou mais de 30 toneladas de fungicida contendo mercúrio para dentro do rio Reno, matando por envenenamento todos os seres vivos nas águas do Alto Reno, numa extensão de 100 quilômetros (Frank, 1986), apesar de seu comprimento ser de 1.320km, atravessando a Europa de sul a norte.

Na Espanha, em 1998, o rompimento de uma represa pertencente a uma mina, contaminou as águas do rio Guadiamar, localizado na reserva natural de Coto de Donana. A lama continha enxofre, chumbo, cobre, zinco e cádmio, e foi considerado um dos maiores estragos provocados no maior santuário de aves da Europa, além do impacto permanente na agricultura e na pesca (Solá et al, 2004).

No Brasil, a industrialização também foi impactante para o meio ambiente, principalmente nos centros urbanos. Algumas cidades como Volta Redonda e Cubatão, regiões metropolitanas de São Paulo, Campinas e Baixada Fluminense, ao longo das últimas décadas, sofrem essas contaminações ambientais.

Em Belford Roxo (RJ), em 1958, foi inaugurado um complexo industrial para a produção de poliuretanos, vernizes, produtos veterinários e formulações de agrotóxicos, sendo que existia na indústria um incinerador de resíduos perigosos e um aterro sanitário. No ano de 2001 constatou-se a contaminação do rio Sarapuí com PCBs e metais pesados como o chumbo e o mercúrio, originados de substâncias poluentes; assim como, na cidade de Guaíba (RS), através da análise das águas do rio Guaíba, observou-se a presença de organoclorados, pois havia indústrias, principalmente de celulose, trazendo impacto na fauna e flora da região. Também neste mesmo ano, detectaram a presença de organoclorados na população da cidade de Paulínia, que fica na região de Campinas, afetando o rio Atibaia (Greenpeace, 2002).

Em Bauru (SP), constatou-se a contaminação por chumbo no solo e ar, devido à reciclagem de baterias usadas numa unidade, que foi evidenciada na população próxima a área. Em 1987 a CETESB identificou um caso grave de contaminação por organoclorados, solventes e metais pesados encontrados no lençol freático, resultado do vazamento de 150 mil toneladas de resíduos perigosos depositados no Aterro Mantovani, instalado em Santo Antonio da Posse, no interior de São Paulo, resultado de dejetos de 61 indústrias entre os anos de 1974 e 1987 (Greenpeace, 2002).

Foram registrados na região nordeste diversos outros casos de contaminações ambientais, como o ocorrido por chumbo em trabalhadores, solo e água, resultado de uma fábrica de baterias em Belo Jardim (PE). Essa mesma empresa também contaminou a bacia do rio Ipojuca; e entre 1995 e 1996 já se conhecia que os efluentes ofereciam perigo de contaminação da população e de comprometimento da fauna e flora (Greenpeace, 2002).

O solo e lençóis freáticos foram contaminados por metais pesados por uma empresa mineradora em Santo Amaro da Purificação (BA), atingindo a população de maneira muito significativa. Com isso, os impactos no ambiente e na saúde humana foram e ainda são muito grandes (CETESB, 2001).

Desde 1950, a cidade de Cubatão, no Estado de São Paulo, foi se consolidando como polo industrial, com indústrias de base, siderúrgica, fábricas de fertilizantes, cimento, minerais não metálicos e indústrias químicas e petroquímicas. A grande quantidade de metais pesados, organoclorados entre

outros, identificados no solo, água e sedimento, além da contaminação do ar, levou a cidade a uma situação crítica, sendo denominada região do “Vale da Morte”. Isso refletiu na contaminação de toda a região do estuário de Santos e São Vicente (CETESB, 2001).

Além das indústrias, terminais portuários, aterros sanitários, lixões, esgotos domésticos, etc. contribuem para a concentração de contaminantes ambientais, representando um risco potencial de poluição.

Entre os metais que contaminam o solo e a água nesta região destacam-se o arsênio, cádmio, chumbo, cobre, cromo, manganês, mercúrio, níquel e zinco. Os metais pesados causam efeitos adversos à saúde humana quando estão aumentados no meio ambiente, e por não fazerem parte das funções fisiológicas, afetam particularmente às crianças (Tvinnereim; Eide; Riise, 2000) e mulheres em idade reprodutiva (Oliveira, 2010).

O impacto do metal pesado no sistema biológico (Nowak; Kolowski, 1998) e seu acúmulo no cabelo e dentes humanos é um processo complexo devido aos fatores influentes, tais como a alimentação, idade, sexo, aspectos genéticos e sítios ambientais. A análise de metais mostra e prediz as alterações corporais e esta pode ser monitorada através das estruturas dentárias devido à incorporação de metais pesados na dentina e esmalte dos dentes, os quais podem revelar se o meio ambiente recebeu ou está ainda recebendo contaminação, desencadeando doenças.

Os tecidos duros dos dentes são estáveis e o depósito de metal pesado durante a sua mineralização indica que eles são importantes biomarcadores (Tvinnereim; Eide; Riise, 2000), e a identificação no esmalte dos dentes de crianças que viveram em áreas contaminadas confirma a influência em seres humanos, podendo desencadear problemas de saúde pública, pois a poluição ambiental global já mostrou o acúmulo de metais pesados.

Os efeitos adversos à saúde atribuídos às altas concentrações de metais pesados são distúrbios gastrintestinais, alterações reprodutivas, psicológicas e cognitivas; problemas cardíacos e respiratórios, assim como imunológicos e aumento significativo de vários tipos de câncer.

A amelogenese é o processo de formação do esmalte na dentição humana e inicia-se no útero materno e os ameloblastos, que são as células

precursoras do esmalte dentário, são altamente especializadas e sensíveis aos estímulos locais e sistêmicos, que ao serem agredidos, produzem defeitos na estrutura em formação. É o único tecido duro do organismo que não se remodela, portanto qualquer alteração que ocorra durante a formação será permanente (Araújo e Araújo, 1984; Neville et al., 1995).

A Organização Mundial de Saúde (WHO, 1997) orienta a utilização do Índice Modificado de Defeitos de Desenvolvimento do Esmalte (Modified Development Defects of Enamel Index – Modified DDE Index), proposto pela Federação Dentária Internacional (FDI) em 1992.

A industrialização mundial está relacionada à extração e distribuição de grandes quantidades de metais tóxicos causando exposição à população humana. Os efeitos tóxicos de metais pesados no dia a dia dos seres humanos vivendo em áreas poluídas são normalmente avaliados nas análises de metais pesados na urina, sangue, cabelo, dentes e unhas da mão.

A contaminação por chumbo é um problema de saúde pública bem conhecido e importante, principalmente se este ocorrer durante a infância, sendo que nenhuma concentração deste deveria ser considerada segura para o ser humano (Olympio et al., 2010a e Bellinger, Stiles, Needleman, 1992).

A concentração de chumbo nos dentes difere de acordo com a idade e pelo tipo de dente. Independente das medidas urgentes que já foram realizadas, ainda existe a contaminação por chumbo através da gasolina, tinta e outras fontes ambientais. Uma pequena quantidade de chumbo na indústria contamina o ar, água e os alimentos. A distribuição do chumbo na dentina de dentes primários (decíduos) humanos pode ser usada como uma informação sobre a quantidade de exposição de chumbo durante os períodos pré e neonatal e os dentes podem ser usados como indicadores de poluição ambiental, relacionando-os a contaminação industrial, explicando seus mecanismos e impacto na saúde (Kamberi et al., 2011).

A placenta tem duas funções importantes, a primeira como ligação entre a circulação fetal e materna, e a segunda como uma barreira preventiva a substâncias tóxicas, tais como, metais pesados. Os metais pesados tendem a se depositar na placenta e cordão umbilical, mostrando a interferência destes

no desenvolvimento fetal e a importância do papel da poluição ambiental na saúde humana (Osman et al., 2000).

Vários são os metais que formam a estrutura mineralizada dos dentes decíduos ou permanentes, sendo a hidroxiapatita o componente básico mais importante nos tecidos dentários. A deposição dos metais sofre várias interferências, e durante longo tempo, tornando-se um excelente biomarcador para demonstrar os impactos ambientais como poluição ambiental, gênero, tipo de dente, tabagismo e dieta (Fischer et al., 2009).

O aumento da poluição ambiental global e o progresso nas técnicas de análises que mensuram os metais facilitam verificar a demonstração de áreas com poluição ambiental através da pesquisa no esmalte dentário (Cleymaet et al., 1991a).

1.1 Chumbo

O chumbo é um metal resistente e maleável, amplamente usado em produtos de metal, cabos e canos, mas também em tintas e pesticidas. Existe uma pequena quantidade de chumbo espalhado na crosta terrestre (Salgado, 1996a; Ferner, 2001).

O uso do chumbo na indústria resultou em uma redistribuição no meio ambiente, contaminando o ar, água e alimentos. Consequentemente, houve um aumento significativo deste metal no sangue e órgãos do corpo humano, pois levou a um acúmulo de resíduos nocivos à saúde (Yule et al., 1981). É um dos quatro metais que mais trazem danos à saúde e pode ser ingerido através da água (20% dos casos) e dos alimentos contaminados (65% dos casos) e também inalado através do ar (15%) (Marcus, 2001). Concentrações consideráveis de chumbo são encontradas no cigarro, frutas, vegetais, carnes, grãos, frutos do mar, refrigerantes e vinho (Salgado, 1996b).

O chumbo não é essencial, como também não tem função relevante no organismo, sendo seus efeitos adversos à saúde, a interrupção da biossíntese da hemoglobina e consequente anemia, aumento da pressão arterial, lesão

renal, aborto e interrupção da gestação, alteração do sistema nervoso, lesão cerebral, declínio da fertilidade no homem (dano espermático), alteração da capacidade cognitiva e do comportamento (agressividade, impulsividade e hiperatividade) (Vij et al., 1998; Roberts, 1999).

Níveis baixos de chumbo no sangue podem afetar o QI (Quociente de Inteligência), capacidade de prestar atenção, desempenho acadêmico sendo seus efeitos inalteráveis (ATSDR, 2011). Sua ultrapassagem para a placenta e deposição no feto, causa lesão importante ao sistema nervoso e ao cérebro (West et al., 1994; Roberts, 1999).

Grandes quantidades de chumbo desencadeiam toxicidade aguda, afetando o sistema nervoso central, renal, gastrointestinal, hematológico, lesando-os de maneira permanente (Yule et al., 1981) e onde existe alta exposição ao chumbo, há maior risco de doenças respiratórias sistêmicas e neoplásicas, maior mortalidade infantil e diminuição do tempo de vida (Nowak; Chmielnicka, 2000).

A inalação ou ingestão são as principais vias de penetração no organismo, cerca de 90% do chumbo corpóreo encontra-se nos ossos, principal depósito do metal (Moreira; Moreira, 2004a).

As crianças são mais vulneráveis a absorção do chumbo, devido a hábitos comuns na infância, tais como, levar a mão à boca, facilitando inclusive a entrada de poeira e a absorção gastrointestinal de chumbo é cinco vezes mais elevada que na população adulta, assim como no sistema nervoso central (Flores-Ramírez et al., 2012; Capitani, 2009), durante a gravidez, a absorção intestinal pode aumentar devido à maior mobilização do chumbo nos ossos e elevar a concentração do metal no sangue (Moreira; Moreira, 2004a). Kim et al. (1996) concluíram que a exposição a este metal na infância pode ser usada para prever o conteúdo corporal até treze anos depois e seu depósito contribui para manter os níveis de chumbo no sangue após o término da exposição assim como é fonte deste metal para o feto durante a sua formação (Gulson et al., 1999).

A absorção, distribuição e eliminação do chumbo (excretado pela urina e fezes), estudadas em animais e homens, mostram que os mecanismos

controladores destes processos fisiológicos continuam desconhecidos (Moreira; Moreira, 2004a).

A disseminação do chumbo no meio ambiente afetou gravemente a saúde de comunidades, especialmente as crianças. Apesar de terem sido estabelecidos protocolos reguladores para a emissão de materiais tóxicos industriais, encontram-se ainda excesso de resíduos poluentes (Gulson et al., 2004). Segundo os Centros de Controle e Prevenção de Doenças do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos EUA, os efeitos da exposição ao chumbo não podem ser alterados, sendo a prevenção fundamental (CDC, 2014).

A concentração de chumbo no esmalte dentário de crianças determina o período de ocorrência da contaminação, pois a deposição é gradativa, assim como o desenvolvimento dentário, revelando as fases de maior e menor absorção deste metal pesado (Bellinger; Stiles; Needleman, 1992), sendo diferentes de acordo com a idade e tipo de dente. Apesar de medidas urgentes em relação à eliminação desse componente terem sido tomadas, ainda existe chumbo na gasolina, tintas e outras fontes ambientais (Yule et al., 1981). A dentina sofre deposições durante toda a vida, principalmente em resposta a estímulos traumáticos do dente, é um tecido com pouca remodelação mineral, comparado ao osso do organismo, sendo excelente para demonstrar exposição anterior (Almeida et al., 2011).

A maioria dos estudos utiliza o sangue como biomarcador, porém este estudo revela a excelência do dente como parâmetro de grande valor com o objetivo de avaliar a exposição cumulativa em humanos, tornando o dente um excelente biomarcador, desde a vida intrauterina até a erupção dentária (Yule et al., 1981), pois há incorporação dos íons durante o desenvolvimento dos dentes (Cleymaet et al, 1991a).

1.2 Manganês

Metal encontrado em rochas em sua forma natural, oligoelemento paratodos os organismos, com funções estruturais e enzimáticas; fundamentais para o processo de desintoxicação dos radicais livres nos que fazem uso do oxigênio elementar. Essencial para uma boa saúde, encontrado no corpo humano (12 µg), armazenado em sua maioria nos ossos e tecidos do fígado e rins.

As concentrações fisiológicas do manganês são nutricionalmente importantes aos humanos, mas quando elevadas tornam-se tóxicas, especialmente no desenvolvimento de fetos e bebês, podendo causar a síndrome da contaminação desencadeando danos neurológicos, às vezes irreversíveis (Emsley, 2001), sendo que sua exposição precoce pode reduzir a capacidade de compensação e reserva do sistema nervoso central (Ericson et al., 2001).

Presente em alimentos como espinafre, chá, ervas, cereais, arroz, soja, ovos, castanha, óleo de oliva, ervilha e ostras. Sua carência tanto quanto seu excesso contribui para manifestações significativas, relacionadas à obesidade, intolerância à glicose, coagulação sanguínea, problemas de pele, baixos níveis de colesterol, distúrbios esqueléticos e malformações (Salgado, 1996a; Roberts, 1999).

A intoxicação por esse metal pode provocar efeitos colaterais como anorexia, apatia, insônia e alucinações e em alguns casos, como rigidez e tremor semelhantes à síndrome de Parkinson (Gerber et al., 2002).

Concentrações de manganês são observadas no esmalte dos dentes desde o desenvolvimento fetal e neonatal através do espectrômetro de massa de íon, demonstrando o tempo de curso de absorção do manganês, evidenciando a existência de exposição ambiental. O uso indevido deste metal, como aditivo na gasolina, espalha-se na atmosfera mostrando o impacto ambiental (Ericson et al., 2001).

Estudo realizado na Califórnia evidenciou presença significativa de manganês no esmalte dentário e indicou alterações de comportamento. Dentes

decíduos examinados de crianças autistas revelam que quando comprovadamente existe a incorporação desse metal à estrutura do esmalte, este desencadeia vários transtornos neuropsicológicos (Abdullah et al., 2012).

1.3 Cádmio

O cádmio é encontrado de forma natural na crosta terrestre, geralmente ligado a outros elementos, metal pesado que produz efeitos tóxicos nos organismos vivos, mesmo em concentrações pequenas. Sua exposição ocorre através da via oral (água e ingestão de alimentos contaminados) e por inalação. Considerado um subproduto da extração do zinco, chumbo e cobre e então retorna ao meio ambiente em pesticidas e adubos industriais (ATSDR, 2012). Sua ingestão é aumentada através do consumo de alimentos ricos neste metal, fígado de gado, cogumelos, mariscos, mexilhões, chocolate em pó e algas marinhas secas e nos tabagista (Salgado, 1996b).

A contaminação ambiental por cádmio causa impacto na saúde humana, principalmente em áreas de fluorose endêmica (Tang et al., 2009). Recentemente as concentrações mais elevadas de cádmio mostram que o esmalte dentário sofre alterações, tais como erosões (Nikolic et al., 2012). A presença de contaminação de metais na matriz de esmalte pode inibir a proteólise, interferindo na amelogenese (formação do esmalte) (Gerlach et al., 2000; Cleymaet et al. , 1991b). Na saliva, encontrou-se no biofilme, a presença de cádmio e outros metais pesados, em brinquedos infantis (Kawamura et al., 2009).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a exposição crônica à metais pesados em crianças residentes em áreas contaminadas por indústrias na região estuarina, nas cidades: Santos; Cubatão (Centro); Cubatão (Pilões/Água Fria); São Vicente e Bertioga.

2.2 Objetivos Específicos

- Medir os níveis de chumbo, cádmio e manganês nas amostras de esmalte dentário das crianças das áreas acima, utilizando o esmalte dentário como biomarcador por sexo e faixa etária;
- Comparar os níveis desses metais e verificar os possíveis danos no desenvolvimento dentário.

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 Tipo do estudo

Trata-se de um estudo epidemiológico do tipo observacional e transversal, utilizando dados primários.

3.2 Área do estudo

A pesquisa realizada no Estuário de Santos e São Vicente nas áreas de Cubatão Centro, Cubatão Pilões/Água Fria e São Vicente, reconhecidamente consideradas como áreas contaminadas por metais pesados de acordo com a CETESB (Companhia de Tecnologia e Saneamento Básico do Estado de São Paulo – 2001), e numa quarta área chamada Bertioga, que não é considerada contaminada pela Agência citada acima (Figura 1). Todas as áreas são compostas por comunidades densas em população em condições socioeconômicas desfavoráveis (Figura 2).

A Região do Estuário de Santos e São Vicente possui diversas indústrias instaladas, que são fontes de poluição ambiental e diversas vezes sofreram punições legislativas devido ao elevado potencial de contaminação do meio ambiente. As indústrias são petroquímicas, metalúrgicas, fertilizantes, terminais portuários, aterros sanitários, lixões, esgotos domésticos, representando um risco potencial de poluição.

As áreas definidas foram as seguintes (Figura 1):

- **Cubatão Centro** – Formada por diferentes bairros ou comunidades, não contíguos:

a) Vila Esperança, localizada no cruzamento entre a pista Sul da Rodovia dos Imigrantes e a Rodovia Manoel da Nóbrega, é uma ocupação da área de mangue;

b) Jardim Nova República, localizada na pista norte da interligação entre as Rodovias Anchieta e Imigrantes na Baixada Santista, formada por casas e apartamentos que receberam, entre outros moradores, os antigos habitantes da Vila Parisi, em Cubatão;

c) Costa Muniz e d) Vila Natal, bairros localizadas em um triângulo formado entre as Rodovias Padre Manoel da Nóbrega (a noroeste) e Anchieta (a nordeste) e a área de mangue (ao sul);

e) Centro, área delimitada a oeste pela Avenida Nove de Abril, a norte e nordeste pelo Rio Cubatão e a sul-sudeste por região de mangue. Formam esta área os bairros Vila Santa Tereza, Jardim Anchieta, Jardim São Francisco, Parque Fernando Jorge, Jardim Costa e Silva, Jardim das Indústrias e Conjunto Marechal Rondon;

f) Jardim São Marcos, comunidade localizada no Pólo Industrial de Cubatão, área cercada por indústrias de diferentes áreas de atividade; e g) Mantiqueira, grupo de casas localizadas na encosta de morro ao longo do Rodovia Cônego Domênico Rangoni, em frente à Companhia Siderúrgica Paulista (COSIPA), no Polo Industrial;

- **Cubatão Pilões/Água Fria** – Formada pelas comunidades Pilões e Água Fria, situadas às margens do Rio Cubatão, entre as rodovias Imigrantes e Anchieta, na encosta do Morro Marzagão, ao longo das vias Estrada Para Itutinga e Rua Elias Zarzur e nos Bairros Fabril e Pinheiro Miranda;

- **São Vicente** – Região continental de São Vicente, compreendendo as áreas do Conjunto Residencial Humaitá, Vila Nova Mariana, Parque Continental, Gleba II, Parque das Bandeiras, Samaritá, Vila Iolanda, Vila Ema e Vila Matias, Jardim Rio Branco e Vila Ponte Nova;

- **Bertioga** – Inclui as seguintes comunidades de Bertioga: Jardim Vicente de Carvalho II, Jd Albatroz II, Vista Linda, Projeto Condomínio Social e a área de assentamento do Jardim Indaiá 2ª Gleba.

Figura 1 – Áreas do estudo

Fonte: Google Maps, disponível em <<http://maps.google.com.br>>

Figura 2 – Foto da comunidade mostrando perfil socioeconômico*

* A foto tem a tarja preta para proteção da identidade

3.3 Amostra do estudo

A subamostra foi calculada considerando-se a prevalência de problemas dentários de 20% (Cleymaet, 1991a), um delta de 10%, ou seja, a prevalência pode variar entre 10% e 30%, um nível de significância de 5%, um poder de 80% e acrescentando-se 10% devido a possíveis perdas, seriam necessárias 120 crianças, divididas entre quatro áreas, totalizando 30 crianças por área. As famílias residentes nas áreas foram cadastradas durante a execução de um projeto mais amplo, desenvolvido pelo Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva na Universidade Católica de Santos, intitulado “Estudo Epidemiológico na População Residente na Baixada Santista – Estuário de Santos: Avaliação de Indicadores de Efeito e de Exposição a Contaminantes Ambientais”, coordenado pelo Prof. Dr. Alfésio Luís Ferreira Braga, aprovado no edital CNPq 50/2005 e cadastrado sob nº CNPq (Auxílio Pesquisa) Processo 402663/2005-5.

Com base nesse cadastro foram sorteadas famílias com crianças na faixa etária de interesse no período de estudo de 2006 a 2009.

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi assinado pelos responsáveis legais de cada criança e foi coletada a amostra de esmalte dentário de cada criança no dente 11 (incisivo central superior permanente direito). É importante ressaltar que a aderência na participação desse estudo foi de 100%, fato raro em estudos epidemiológicos.

3.4 Concentração de metais no esmalte

O nível de metais no esmalte foi estimado em microgramas por grama de tecido, conforme os procedimentos laboratoriais descritos a seguir. Foi colhida uma amostra por criança, sendo esta realizada no dente 11 (incisivo central superior direito permanente).

3.5 Procedimentos técnicos

As crianças foram examinadas individualmente, em decúbito dorsal, sob iluminação artificial em locais próximos às moradias. Os dentes foram escovados com creme dental sem flúor, para que não ocorresse nenhuma interferência no teste. As escovas e pastas dentais foram ofertadas pelos pesquisadores. O exame foi iniciado pela observação das coroas dentárias, sendo registradas as condições relativas aos defeitos de desenvolvimento do esmalte. Em seguida, foi efetuado o teste em esmalte.

Uma examinadora foi treinada para a aplicação das medidas de aferição. Para a execução do teste, a examinadora recebeu treinamento específico com duração de 15 horas empregando dentes decíduos no Laboratório de Proteínas da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

3.5.1 Teste de esmalte

Após o exame da coroa dentária (Figura 3), a examinadora trocou de luvas evitando todo e qualquer contato com metais. Todos os instrumentos e os tubos usados para coleta durante o procedimento foram preparados previamente, passando por higienização e limpeza em solução de ácido nítrico a 10%.

Em seguida, os incisivos centrais permanentes superiores foram isolados com roletes de algodão e secos com algodão e gaze. A coleta do material foi iniciada pelo incisivo central permanente superior direito. Colocou-se um adesivo (Magic Tape, 810 Scotch – 3M) com *microbrush*, na região central do dente (face vestibular), delimitando o local do teste (Figuras 4 e 5). Usando uma pipeta, colocou-se 5 µL 1,6 mol/L HCl a 70% glicerol, sendo aplicado sobre a área por 20 segundos, durante os quais se realizaram movimentos circulares com a ponta da pipeta (Figura 6). A solução do teste foi então aspirada pela própria pipeta e transferido 0,2 ml para o tubo de coleta contendo 200µl de água purificada. A face de esmalte do dente foi irrigada durante 10 segundos com água ultra purificada e aspirada para o tubo, fazendo com que o volume final do tubo chegasse a 210 µL, de acordo com o Protocolo estabelecido por Gerlach et al., 2000 (Figura 7).

A obtenção de valores dos metais seguiu a padronização em torno de 3 a 5 micras de profundidade.

Após a coleta do material, o algodão foi removido e os dentes lavados com água por 30 segundos. Então, foi aplicada uma solução tópica de fluoreto de sódio a 2%.

Todos os testes foram realizados e transportados pelo examinador, o qual tomou os devidos cuidados de conservação para a remoção, mantendo os tubos bem fechados, atentando para um aspecto importante que é a evaporação esperada.

Figura 3 – Foto do início do procedimento técnico *
* A foto tem a tarja preta para proteção da identidade

Figura 4 – Foto do procedimento técnico

Figura 5 – Foto do procedimento técnico

Figura 6 – Foto do procedimento técnico

Figura 7 – Foto do procedimento técnico

3.5.2 Procedimentos laboratoriais

As amostras foram enviadas para o laboratório e as análises foram desidratadas sob vácuo com cloreto de cálcio anidratado por 36 horas. Para medi-las, as amostras foram reidratadas com 210 μ L de água ultra purificada, agitada e dividida em 2 alíquotas, uma para o metal (chumbo, cádmio, manganês) e outra para fósforo.

A determinação de chumbo e demais metais foi efetuada no Laboratório de Proteínas na Faculdade de Odontologia na Universidade de São Paulo (USP) em Ribeirão Preto, empregando-se um espectrômetro de absorção com forno de grafite. Padrões de osso bovino com concentrações conhecidas de chumbo foram utilizados entre 10 amostras para a certificação das análises e as curvas preparadas com reagentes ultrapuros.

As dosagens de fósforo foram feitas em triplicada pelo método colorimétrico, conforme descrito por Almeida et al. (2007), em um aparelho de Leitura de Placas de Elisa, no Laboratório de Proteínas da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da USP. Os reagentes utilizados para a curva foram de alta pureza e as biópsias de controles foram obtidas através do branco na superfície do balcão descartável ou sobre as tampas dos racks para colocar-se a ponta da pipeta com o objetivo de observar-se a contaminação por chumbo no ambiente de trabalho durante os procedimentos.

Os frascos e pipetas usadas no procedimento foram molhados durante a noite no ácido nítrico (HNO_3) a 10% e lavadas com água ultrapurificada antes de usar.

3.6 Análises Químicas

Para determinar a massa do esmalte obtida em cada procedimento de micro biópsia foi usada a concentração de fósforo determinada em tríplice pelo método colorimétrico de Fiske e Subbaroux em 1925, como descrito em

Almeida et al. (2009), obtendo uma densidade de esmalte de $2,95\text{g cm}^3$ e um conteúdo de fósforo de 17,4% (Koo; Cury, 1998 ; Weidmann et al., 1967) .

Níveis de chumbo foram determinados no laboratório de metais da Universidade de São Paulo em Ribeirão Preto (BRASIL) através do Espectrômetro de Massa por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-MS).

3.7 Análise dos dados

Os resultados foram obtidos através da análise descritiva de todas as variáveis do estudo. As variáveis categóricas foram apresentadas tanto em valores absolutos quanto relativos e as numéricas em valores de tendência central e dispersão. O teste de Qui-quadrado e/ou teste de Fisher foi usado para avaliar as associações entre as variáveis categóricas e as áreas estudadas. As porcentagens foram comparadas utilizando o Teste de Comparação entre duas porcentagens (Callegari-Jacques, 2003). Os testes de Levene e Kolmogorov-Smirnov foram usados para verificar as variáveis numéricas e a homogeneidade das variâncias e a aderência à curva normal respectivamente (Callegari-Jacques, 2003). As variáveis que não apresentaram distribuição normal, foram transferidas para uma planilha eletrônica utilizando-se testes não paramétricos, ou seja, teste de Mann-Whitney e teste de Kruskal-Wallis com um nível de significância de 5%, 80% de intervalo de confiança e delta de 10% e 30% de um total de 30 crianças em cada área. Os resultados foram submetidos a análise estatística usando software SPSS 17.0 para Windows.

3.8 Dados demográficos e socioeconômicos

Informações foram coletadas sobre as características demográficas, socioeconômicas, hábitos alimentares e doenças autorreferidas relativas à

população residente na área do estudo (Figura 1). A partir dessa base de dados foi possível controlar algumas variáveis intervenientes relativas ao tempo de residência (medido em anos), consumo de alimentos, bebidas e outros elementos relevantes para a rota de contaminação e comparação entre os grupos.

3.9 Aspectos éticos

O delineamento do projeto foi construído de modo a assegurar os princípios da ética em pesquisa com seres humanos descritos na Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Cuidados especiais foram adotados para atender as exigências de pesquisa envolvendo os sujeitos e a comunidade, incluindo previsão de recursos materiais para atender todas as crianças selecionadas.

Conforme mencionado no item 3.5, as características da intervenção têm por base procedimentos clínicos descritos na literatura científica, constando de exames bucais e testes de esmalte de profundidade e invasividade mínimas. Foi efetuada a aplicação de substâncias durante 20 segundos e logo após aspiradas. A profundidade alcançada, de 3 a 5 micras, não causa nenhum risco às crianças.

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), cujo conteúdo foi dirigido aos representantes legais dos menores de idade, redigido em linguagem acessível, foi preparado em duas vias ficando uma com o sujeito da pesquisa e outra arquivada pelo pesquisador responsável (Anexo B). Além disso, a privacidade, a confidencialidade dos dados e o anonimato dos sujeitos da pesquisa foram garantidos.

O projeto foi submetido ao exame de Comitê de Ética em Pesquisa (COMET) da Universidade Católica de Santos, sendo o processo aprovado sob o nº 3193.15.2008 em 23 de setembro de 2008 (Anexo C). Este contou com a colaboração da Universidade Católica de Santos, com apoio técnico e administrativo, inserido na linha de avaliação de exposição e riscos; e do

Laboratório de Proteína da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (Anexo D).

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, sob protocolo de pesquisa nº 510/13 (Anexo E).

Os dados socioeconômicos fazem parte do projeto “Estudo Epidemiológico na População Residente na Baixada Santista – Estuário de Santos: Avaliação de Indicadores de Efeito e de Exposição a Contaminantes Ambientais”, Projeto 402663/2005-5 (Anexo F).

4 RESULTADOS

Na execução do estudo foram coletados dados onde essa amostra de crianças está inserida. Dos domicílios investigados 90,1% foram declarados como sendo de alvenaria, 84% tinham paredes de madeira, 67% com pisos de cimento e 61,1% telhados de amianto. Os moradores (53%) residiam nas áreas há mais de vinte anos. O revestimento das ruas era em sua maioria de areia (40%) e num raio de 500 metros foram citadas a existência de oficinas de funilaria e pintura (53,1%). O teste Qui-quadrado não apresentou diferenças significativas entre as áreas e as condições de moradia.

A água consumida em todas as áreas pesquisadas provém da SABESP-Saneamento Básico de São Paulo, 83,2% em sua maioria consumida há no mínimo cinco anos e esta água é filtrada em 53% dos domicílios. O esgoto das residências constitui-se de fossa e rede de esgoto em 43% e o lixo é predominantemente coletado (92,1%). O teste Qui-quadrado não tem diferença significativa em relação ao consumo de água entre as áreas.

Notou-se também a presença de estabelecimentos comerciais como de revestimentos para metais (94,1%), armazenamento de fertilizantes e produtos químicos (96%) e sítios de aterros industriais ou domésticos (97,1%) todos na área de São Vicente.

Os legumes e verduras consumidos originam-se em sua maioria de quitandas, mercados e sacolões (93%).

Cerca de 52% dos moradores apresentaram doenças respiratórias, sendo as comorbidades mais encontradas a bronquite crônica (7%) e asma (4%).

Todos os dados foram coletados através de um questionário aplicado aos pais e parentes das crianças.

De acordo com as áreas analisadas Cubatão Pilões/Água Fria, Cubatão Centro, São Vicente e Bertioga foram examinadas 125 crianças (Gráfico 1), distribuídas em porcentagens similares em relação ao sexo; sendo que Cubatão Centro mostrou a maior diferença entre os sexos (63,3% feminino e 36,7% masculino), indicadas no Gráfico 2.

Gráfico 1 – Crianças examinadas segundo as áreas analisadas **Gráfico 2 – Distribuição por sexo de acordo com as áreas analisadas**

4.1 Aspectos gerais ambientais das áreas: condições de moradias

O teste Qui-Quadrado não apresenta diferenças significantes entre as áreas e as condições de moradia, nem mesmo em relação ao consumo de

água entre as áreas. Os moradores das residências apresentaram doenças respiratórias e as comorbidades mais encontradas foram bronquite crônica (7%) e asma (4%). Testes não paramétricos de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis foram também usados devido à distribuição das variáveis.

4.2 Condições Dentárias

A área de Cubatão Pilões/Água Fria apresentou índice de 91,38% de dentes decíduos normais, superando as outras áreas. Diferenças (9,36%) foram encontradas nos dentes decíduos cariados na área de Bertioga.

As condições dos permanentes revelaram um percentual estatisticamente significativo 99,24% de dentes normais na área Cubatão Centro.

A área de São Vicente apresentou a maior proporção (2,25%) em relação à doença cárie.

4.3 Defeitos de esmalte

De acordo com o Índice de DDE de 1992 (Índice de Desenvolvimento de Esmalte) observou-se que dos 2206 dentes permanentes, 1770 (80,24%) não apresentaram defeitos de esmalte nas áreas analisadas. Dentre os Defeitos, a Opacidade Delimitada não mostrou diferenças significativas entre as áreas. No entanto, a Opacidade Difusa apresentou a maior porcentagem (11,20%) nas crianças de Cubatão Centro. A Hipoplasia de Esmalte não apresentou diferença significativa entre as áreas. A Opacidade Difusa e Delimitada só foi significativa nas áreas Bertioga com 0,51% e São Vicente com índices de 1,57%. Essas três condições dentárias não apresentaram diferenças percentuais nos dentes examinados.

4.4 Metais Pesados

Chumbo foi o metal pesado mais encontrado na área de São Vicente 213,52µg/g, comparado às outras áreas. Uma diferença significativa foi encontrada no chumbo na área de Bertioga apresentando um valor de mediana mais baixo de 96,90µg/g. O valor médio para o cádmio foi de 14,57 µg/g e para o manganês foi de 42µg/g (valor ligeiramente alto) em Bertioga e não houveram diferenças das medianas entre as áreas no cádmio e manganês (Tabela 1).

Tabela 1 – Concentração e distribuição no esmalte dental de acordo com áreas em µg/g.

	Cubatão (Pilões / Água Fria)	Cubatão (Centro)	São Vicente	Bertioga
Chumbo				
Média	139,48	170,45	213,52	151,89
Mínimo	13,20	27,60	23,70	11,10
Máximo	364,20	464,40	690,60	625,20
Percentil 25%	70,35	79,87	66,90	40,07
Mediana	*102,20	*146,80	*149,30	*96,90
Percentil 75%	*202,10	*254,22	*300,90	202,60
Desvio padrão	98,49	113,36	186,65	155,89
Cádmio				
Média	10,83	12,58	10,92	14,57
Mínimo	1,60	0,00	0,00	0,00
Máximo	28,70	81,10	41,00	175,20
Percentil 25%	4,17	5,60	4,20	5,00
Mediana	*10,25	*9,60	7,20	*8,25
Percentil 75%	15,40	13,82	18,47	13,57
Desvio padrão	7,46	14,75	9,76	30,96
Manganês				
Média	23,49	30,90	41,46	42,00
Mínimo	0,20	7,40	1,40	7,50
Máximo	71,10	138,40	190,20	328,70
Percentil 25%	13,15	12,72	12,60	13,80
Mediana	*23,45	*23,60	*26,70	*26,90
Percentil 75%	*31,72	32,52	*49,30	*50,10
Desvio padrão	14,76	28,56	47,19	59,26

Teste de Kruskal-Wallis

*p ≤ 0.05

O Gráfico 3 destaca as áreas estudadas que apresentaram medianas com valores significativos de contaminação pelos metais.

Gráfico 3 – Concentrações significativas de metais no esmalte dental ($p \leq 0.05$) de acordo com áreas estudadas, Teste de Kruskal-Wallis.

De acordo com quartil 3, o manganês apresenta uma diferença significativa entre Cubatão Pilões/Água Fria ($23,45\mu\text{g/g}$) e São Vicente ($26,70\mu\text{g/g}$). Assim como em Cubatão Pilões/Água Fria ($23,45\mu\text{g/g}$); Bertioga ($26,90\mu\text{g/g}$); Cubatão Centro ($23,60\mu\text{g/g}$) e São Vicente ($26,70\mu\text{g/g}$) (Figura 8).

Figura 8 – Contaminação por manganês no esmalte dentário / quartil 3.
Teste de MANN-WHITNEY: $p \leq 0.05$

De acordo com o quartil 4, manganês apresentou uma diferença significativa entre Cubatão Pilões/Água Fria de 31,72µg/g e São Vicente 49,30µg/g, Cubatão Pilões/Água Fria de 31,72µg/g e Bertioga 50,10µg/g (Figura 9).

Figura 9 – Contaminação por manganês no esmalte dentário / quartil 4.
Teste de MANN-WHITNEY: $p \leq 0.05$

Cádmio, em relação ao quartil 3, também apresentou uma diferença significativa entre Cubatão Pilões/Água Fria de 10,25µg/g e Cubatão Centro 9,60µg/g, Cubatão Pilões/Água Fria 10,25µg/g e 8,25µg/g em Bertioga (Figura 10).

Figura 10 – Contaminação por cádmio no esmalte dentário / quartil 3.
Teste de MANN-WHITNEY: $p \leq 0.05$

No quartil 3, as alterações significantes no chumbo ocorreram entre Cubatão Pilões/Água Fria (102,20µg/g) e São Vicente (149,30µg/g); Cubatão Pilões/Água Fria e Cubatão Centro (146,80µg/g); São Vicente (149,30µg/g) e Bertioga (96,90µg/g); Cubatão Centro 146,80µg/g e Bertioga (96,90µg/g) (Figura 11).

Figura 11 – Contaminação por chumbo no esmalte dentário / quartil 3.
 Teste de MANN-WHITNEY: $p \leq 0.05$

Em relação ao quartil 4, o chumbo comparado a Cubatão Pilões/Água Fria 202,10µg/g e São Vicente 300,90µg/g; Cubatão Centro 254,22µg/g e São Vicente 300,90µg/g onde as diferenças significantes foram encontradas (Figura 12).

Figura 12 – Contaminação por chumbo no esmalte dentário / quartil 4
 Teste de MANN-WHITNEY: $p \leq 0.05$

A Tabela 2 mostra a análise da contaminação em ambos os sexos, onde não foi encontrada nenhuma diferença significativa.

Tabela 2 – Contaminação no esmalte dental de acordo com o sexo e cada metal pesado em µg/g.

	CHUMBO	CÁDMIO	MANGANÊS
FEMININO			
Mínimo	17,10	0,00	0,20
Máximo	690,60	175,20	328,78
Média	178,45	12,90	40,77
MASCULINO			
Mínimo	11,10	0,00	0,20
Máximo	690,60	175,20	328,78
Média	171,85	12,16	34,70

Teste de Mann-Whitney

* $p \leq 0.05$

5 DISCUSSÃO

5.1 Alto risco de metais pesados e seus efeitos

A região do Estuário de Santos e São Vicente é ambientalmente contaminada por metais pesados (CETESB, 2001). O nosso estudo verificou a presença de chumbo, cádmio e manganês no esmalte dentário mostrando-se consistente com a literatura.

A contaminação altera o crescimento e desenvolvimento das crianças, pois os metais pesados cruzam a barreira placentária e são secretados no leite materno. O chumbo é desnecessário nos processos metabólicos do organismo, sabe-se que o chumbo, há muitos anos, é o metal não ferroso mais importante usado na indústria além de ser que mais causa contaminação ambiental, contribuindo para um excessivo impacto na saúde através da ingestão e inalação. A população adulta absorve dez por cento (10%) de chumbo na ingestão, enquanto as crianças podem absorver cinquenta por cento (50%), sendo que sua absorção é mais rápida e fácil em todos os tecidos (Capitani, 2009). As crianças são mais sensíveis aos efeitos do chumbo acumulados e estocados nos ossos e dentes, seu maior sítio (Moreira; Moreira, 2004a).

A vulnerabilidade mais alta da absorção do chumbo acontece devido aos hábitos comuns na infância, tais como levar a mão à boca facilitando a entrada da poeira. Um estudo sobre as crianças residentes no sudoeste da Polônia, usando o espectrômetro de absorção atômica (Método AAS), mostrou uma diminuição significativa na concentração de muitos metais pesados em dentes decíduos de crianças com mais idade comparada às mais jovens (Fischer et al., 2009; Fischer et al., 2013; Fischer; Wiechula, 2016).

Kim et al. (1996) concluíram que a exposição ao chumbo durante a infância pode ser usada para prever o seu acúmulo até trinta anos mais tarde. Os mecanismos de ação em relação à absorção, distribuição e eliminação (excretado através da urina e fezes) nos processos fisiológicos ainda continuam desconhecidos (Gulson et al., 1999).

O estudo dos efeitos tóxicos das substâncias químicas começou no século XIX, tornando-se uma ciência chamada Toxicologia. Esta auxilia no entendimento da interação com os organismos vivos, contribuindo nas avaliações de risco e estabelecendo medidas de segurança (Ruppenthal, 2013).

A absorção do chumbo gastrointestinal é também cinco vezes maior que na população adulta, assim como a do sistema nervoso central (Flores-Ramírez et al., 2012). O sistema nervoso central é muito mais sensível à contaminação de chumbo, como os efeitos permanentes na infância, além dos sistemas endócrino, renal, reprodutivo, gastrointestinal e hepático. Há também indicações de que o crescimento pode ser alterado quando o chumbo ultrapassa a placenta, causando alterações fetais (Moreira; Moreira, 2004b).

Reafirmando os efeitos adversos à saúde, especialmente o chumbo, pode causar impactos negativos no desenvolvimento infantil e fetal. A pesquisa de Ikegami et al. (2016) foi realizada utilizando unhas de mulheres grávidas do Paquistão como biomarcador, para estimar a exposição ao chumbo. Os testes feitos em cosméticos de vários países do Oriente revelaram que algumas amostras continham mais que 96% de chumbo, o que leva a um risco aumentado de exposição a este metal.

Recentemente, alguns estudos mostram problemas cognitivos de atenção e alterações comportamentais nas crianças com altas concentrações de chumbo, além de problemas antissociais e de agressividade (Olympio et al., 2010b).

De acordo com Karri, Schuhmacher e Kumar (2016), ao realizarem uma revisão sobre a exposição concorrente de metais pesados, tais como chumbo, cádmio, arsênico e metilmercúrio, concluíram que estes representam relevante importância nos efeitos a longo prazo no cérebro, levando a fatores de riscos para disfunção cognitiva.

Concentrações de chumbo foram também encontradas em crianças estudadas através de uma pesquisa sobre Transtorno do Déficit de Atenção com Hiperatividade (TDAH), no qual a presença de chumbo estava associada com este tipo de comportamento, mostrando seu papel significativo neste transtorno (Chan et al., 2015).

Vimercati et al (2016) avaliaram a exposição a metais pesados em áreas ocupadas por indústrias na região sudoeste da Itália, através de técnicas de monitoramento biológico. Foram recolhidas amostras de urina de 279 indivíduos e verificou-se a presença de altas concentrações de metais pesados (cádmio, chumbo, manganês e demais metais).

No México, López-Rodríguez et al. (2017) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar a relação da anemia com contaminação por metais em crianças de 6 a 12 anos de idade e concluíram que os metais pesados nocivos à saúde (silicone, cromo, titânio, níquel, arsênico, chumbo, manganês e cádmio) foram detectados no sangue seco e estão relacionados à anemia.

No estudo de Dehghani et al. (2017) foi analisada a poeira das ruas no distrito central de Teerã, mostrando que continha vários tipos de metais pesados e que as indústrias localizadas a sudoeste da cidade intensificam a poluição das poeiras nas ruas. Com isso, sugere-se a ingestão como a via mais importante para a contaminação em crianças e contato dérmico como a principal via de exposição para adultos. O chumbo é o elemento mais importante para o risco da saúde em potencial na poeira das ruas e na superfície do solo, nessa região.

O estudo de Yu et al. (2016) comprovou que o risco à saúde das crianças é superior ao dos adultos, no que diz respeito à inalação de poeira urbana.

Tavakkoli e Khanjani (2016), em estudo de revisão, identificaram que o cádmio foi o metal pesado encontrado em níveis mais altos entre os trabalhadores industriais fumantes e em pessoas com exposição ambiental que vivem em áreas industriais, mostrando os efeitos nocivos do tabagismo entre as mulheres grávidas. Os autores sugerem que as indústrias deveriam manter uma distância segura das áreas residenciais.

O estudo de Bari e Kindzierski (2017) levantou a preocupação dos níveis de poluentes na região de Alberta, no Canadá, mostrando que os níveis alterados vinham do tráfego de veículos locais e da combustão de combustível fóssil e também da emissão de poluentes das indústrias, prejudicando potencialmente a saúde humana.

Os metais pesados distribuem-se de forma heterogênea no solo, tornando difícil e complexa a sua correta avaliação. Sendo assim, Scarciglia e Barca

(2017) demonstraram que a utilização do espectrômetro de ablação a laser às secções finas do solo constitui uma ferramenta auxiliar poderosa para métodos analíticos bem estabelecidos com o objetivo de rastrear o comportamento e o destino dos potenciais contaminantes do solo, pois assim como visto nos dentes do nosso estudo, o que ocorre é a deposição nas camadas, sendo esta dependente da quantidade de exposição ambiental e época, processo semelhante ao que ocorre no solo.

5.2 Pesquisa no Esmalte Dentário

As concentrações de chumbo no esmalte dentário determinam o período em que a contaminação ocorre, pois a deposição é gradual, assim como o desenvolvimento dental, revelando a fase de maior ou menor absorção do metal pesado (Almeida et al, 2009).

Os elementos de traço comum revelam que os padrões da distribuição de chumbo na dentina são os mesmos quando comparados a outros metais. Uma técnica usando a dentina pode identificar várias exposições em épocas diferentes nas crianças e pode mostrar a história pregressa da exposição ao chumbo em diferentes estágios do desenvolvimento dentário (Manmee, 2013).

O cádmio é também um indicador da presença de metal pesado no esmalte dentário, o acúmulo deste é influenciado pelo tempo de exposição, sendo proporcional à idade do dente e também aos níveis de poluição ambiental (Cleymaet et al., 1991b).

No nosso estudo os dentes foram usados para avaliar os metais pesados que já tinham sido impregnados. Apesar de existir alguns estudos que relacionam meio ambiente e saúde humana, o impacto do metal pesado no sistema biológico tem sido investigado. O acúmulo no cabelo humano e dente é um processo complexo, influenciado por vários fatores como alimentação, idade, sexo, genética e sítio ambiental (Nowak; Kozlowski, 1998). Análise dos dentes é uma técnica importante para determinar a exposição de elementos tóxicos e esta mostra os efeitos danosos em humanos que vivem em áreas

poluídas. Níveis de concentração altos de chumbo são encontrados em idades precoces nas crianças e seus efeitos são cumulativos (Kamberi et al., 2011).

Existem vários metais que fazem parte da estrutura mineralizada dos dentes decíduos e permanentes. A hidroxiapatita é o mais básico e importante componente dos tecidos dentais. Durante a deposição do metal pesado, o processo recebe várias interferências, consequentemente os dentes tornam-se um excelente biomarcador. O dente é um tecido ósseo de fácil acesso para mostrar a deposição sem causar nenhum dano (Cleymaet et al., 1991a).

Uma pesquisa realizada com crianças vivendo na Jordânia investigou amostras de dentes decíduos medindo as concentrações de vários metais pesados usando um questionário sobre sexo, idade, tipo de dente, posição do mesmo dentro da boca, tipo de água consumida e área da residência. Os resultados indicaram que há uma relação clara entre as concentrações de metais pesados após análises das amostras. Nenhuma diferença significativa foi encontrada em relação ao sexo e idade, exceto quanto ao chumbo, cuja diferença diminui na idade de onze a doze anos (Alomary et al., 2013).

Apesar da dentina sofrer deposições durante toda a vida, o que a torna muito importante em processos traumáticos, é um tecido com mínima remodelação, comparada aos ossos, considerando-se que a deposição do chumbo é gradual, da mesma maneira que a formação de dentina reparadora (Almeida et al., 2011).

Em estudo demonstrando a concentração de elementos na dentina humana de pacientes japoneses, investigando sexo e idade, concluiu-se que existe uma diferença significativa entre o cobre e o chumbo encontrada no sexo e uma correlação positiva significativa foi observada entre vários metais pesados estudados em relação à dentina e idade (Kumagai et al., 2012).

Existe uma predisposição especial dos dentes da maxila a ligarem-se aos elementos tóxicos ambientais no tecido duro dos dentes. A escolha do dente incisivo central da maxila corrobora com a pesquisa feita por Fischer et al. (2009), na qual as mais altas deposições são nos dentes da maxila e não nos dentes da mandíbula.

Em São Vicente, as crianças de seis a treze anos de idade, apresentaram 213,52µg/g de chumbo e 14,57µg/g de cádmio nos incisivos centrais

permanentes da maxila, mostrando ser mais alta do que a de que Cleymaet et al. (1991b) que encontraram 177,14µg/g de chumbo; 1,41µg/g de cádmio nas crianças com sete anos de idade, enquanto que nas crianças com onze anos de idade mostraram respectivamente 267,30µg/g e 2,14µg/g.

As crianças investigadas na área do estuário nasceram de mães que viveram no mínimo quinze anos nesse sítio com o objetivo de identificar a presença de chumbo durante a gravidez, pois a formação do dente ocorre desde essa fase usando a técnica de espectrômetro de plasma acoplado. Na Austrália, Arora et al. (2006), encontraram chumbo no esmalte e na dentina de dentes decíduos através da técnica de aplicação do espectrômetro indutor de laser de massa e plasma, concluindo que os dentes decíduos humanos incorporam o chumbo durante os períodos pré e neonatal, confirmando nossa pesquisa.

Vários estudos demonstram a excelência do dente como biomarcador. Kamberi et al. (2011) acharam concentrações de chumbo em Kosovo (em Mitrovicka 22,3 mg/Kg e em Klina 3,02 mg/Kg) e na Áustria (em Graz 1,07mg/Kg). Olympio et al. (2010b) encontraram em adolescentes entre catorze e dezoito anos no Brasil, na cidade de Bauru, em seus moradores a presença de chumbo de 4,49µg/g. No estudo de Almeida et al. (2007), nas regiões de Bauru e Ribeirão Preto, encontraram na superfície de esmalte dentário das crianças de quatro a seis anos de idade um acúmulo de chumbo devido ao meio ambiente contaminado, também comprovando a efetividade desse biomarcador. As amostras revelaram a presença de 3,09µg/g em Ribeirão Preto e 3,08µg/g em Bauru.

Em Bertioga, as concentrações de manganês 42µg/g e cádmio 14,57 µg/g nos dentes, mostrou serem mais altas nos dentes incisivos. Além disso, a idade influenciou nesses resultados, evidenciando o efeito acumulativo destes metais, dependendo do tempo de exposição.

De acordo com Nowak e Chmielnicka (2000), os quais incluíram adolescentes e adultos nascidos e residentes em uma área selecionada para a pesquisa realizada na Polônia, foi encontrado um número aumentado de cárie nos dentes nos moradores onde a exposição ao chumbo era alta.

No estudo de Oliveira (2010) foram encontrados 96,9% de dentes livres de cárie e 0,9% de dentes com cárie, demonstrando que a exposição ao metal pesado não influencia neste índice.

Um estudo realizado para estimar as concentrações de metais pesados no esmalte de dentes cariados e decíduos normais, usando o espectrômetro de emissão atômica, concluiu que o manganês ocorre em baixas concentrações no esmalte, comparando à outras pesquisas e não havendo diferença estatística entre os metais pesados em relação ao sexo com respeito a dentes normais e cariados (Peediayill et al., 2014).

Concentrações de chumbo, cádmio e manganês nas cidades estuarinas, mostram um alto índice de metal pesado comparadas com outras regiões no próprio Brasil e no mundo. Na área de Bertioga também foi encontrada, uma média de 151,89µg/g de chumbo e 14,57µg/g cádmio e 42,00µg/g de manganês, apesar de a área ter sido considerada controle no início do nosso estudo, se compararmos a nossa pesquisa com a de Braga et al. (2009) onde na avaliação da poeira encontraram concentrações de chumbo e cádmio.

O chumbo encontrado na área de Cubatão Pilões/Água Fria apresentou um mínimo de 88,22 µg/g e um máximo de 717,10 µg/g. Apesar de Bertioga mostrar a mais alta contaminação 404,12 µg/g(mín) e 717,10 µg/g (máx) de cádmio, a área de Cubatão Pilões/Água Fria mostrou a maior contaminação de 10,80 µg/g (mín) e 43,00 µg/g (máx) de cádmio, embora Cubatão Centro tenha sido menos contaminada 1,80 µg/g (mín) e 2,74 µg/g (máx).

Por outro lado, as condições dentárias também foram avaliadas em uma outra pesquisa. O número de dentes livres de cárie variavam de acordo com a idade, como mostra a Pesquisa Nacional de Saúde Bucal, denominada Projeto SBBrasil/2010, evidenciando que aos cinco anos de idade 46,6% das crianças brasileiras são livres de cárie nos dentes decíduos e aos doze anos de idade 43,5% mostram as mesmas condições nos dentes permanentes (BRASIL, 2011). No Brasil, onde as regiões são muito diversificadas, a região sudeste (onde foi realizada a nossa pesquisa) aos cinco anos de idade encontramos 51,9% e 48,4% de crianças livres de cárie aos doze anos de idade.

No estado de São Paulo (local da nossa pesquisa) aos cinco anos de idade a média é de 17,94% de crianças livres de cárie, 1,6% de dentes com

cárie e aos doze anos, respectivamente, 23,4% e 0,71%. Isso mostra que no nosso estudo foi encontrado 96,89% de dentes livres de cárie e 0,94% de dentes com cárie, o que demonstra que a exposição de metal pesado não influenciou os índices. Concentrações de chumbo, cádmio e manganês mostraram que a região do estuário tem os índices de metais pesados mais altos comparados a outras regiões no mundo e mesmo a outras regiões no Brasil. Uma característica relevante neste estudo é que as crianças foram examinadas individualmente em seus próprios sítios residenciais, usando instrumentais descartáveis obedecendo às normas de biossegurança sem desperdiçar nenhuma das amostras.

6 CONCLUSÃO

Ao acharmos concentração de metais pesados em crianças há a necessidade de tomar medidas eficientes em relação a assegurar a saúde humana. O esmalte da superfície dentária pode ser usado como um eficiente biomarcador de exposição ambiental passada, quer para chumbo, cádmio e manganês, os quais estão associados a fontes bem conhecidas de contaminação por metal pesado.

Os resultados sugerem que as crianças avaliadas expostas a esses metais devem ser acompanhadas no seu desenvolvimento bio-psico-social.

Mais pesquisas são recomendadas neste campo de estudo com o objetivo de melhorar a saúde humana, além de investimentos em saúde pública possibilitando atendimento qualificado na região.

7 ANEXOS

Anexo A – Termo de concessão e aceitação de apoio financeiro a projeto (CNPq)

548883029153767

TERMO DE CONCESSÃO E ACEITAÇÃO DE APOIO FINANCEIRO A PROJETO

CONCEDENTE

Nome:
CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO
CNPQ/ME:
33.654.831/0001 36

BENEFICIÁRIO

Nome:
Luiz Alberto Amador Pereira
CPF/ME:
022.617.578 24

1. FINALIDADE

Concessão de auxílio financeiro a projeto de natureza científica, tecnológica ou de inovação.

1.1. TÍTULO DO PROJETO

Avaliação do desenvolvimento dentário em crianças expostas e não expostas aos contaminantes ambientais na região do estuário de Santos e São Vicente

1.2. IDENTIFICAÇÃO DO PROCESSO

Número do processo:
475199/2008 1
Edital/Chamada:
Edital MCT/CNPq 14/2008 Universal Faixa A Até R\$ 20.000,00

2. VALOR GLOBAL DA CONCESSÃO

AUXÍLIO FINANCEIRO

Custeio: R\$ 14.700,00

Capital: R\$ 5.000,00

Valor Global: R\$ 19.700,00

2.1. Os recursos serão liberados pelo CNPq em função de suas disponibilidades financeiras e orçamentárias.

2.2. As despesas decorrentes da execução do objeto do presente Termo, em exercício futuro, por parte do CNPq, correrão à conta de suas dotações orçamentárias do respectivo exercício, sendo objeto de apostila, a indicação dos créditos e empenhos para sua cobertura em exercício subsequente.

2.3. O pagamento das bolsas de longa duração será efetuado diretamente ao bolsista, mediante depósito em conta corrente aberta junto ao Banco do Brasil, conforme instruções do CNPq, ou na modalidade cartão, quando for o caso.

2.4. O pagamento de bolsas de curta duração será efetuado pelo BENEFICIÁRIO do auxílio, coordenador do projeto, que deverá prestar contas de acordo com as normas do CNPq e manter cópias dos recibos dos pagamentos efetuados, segundo modelo disponível na página do CNPq na Internet.

2.5. A vigência das bolsas não poderá ultrapassar a vigência do presente instrumento.

3. INSTITUIÇÃO DE VÍNCULO FUNCIONAL/EMPREGATÍCIO

Nome:
Universidade Católica de Santos/UNISANTOS SP
CNPJ:

58191008001568

4. INSTITUIÇÃO DE EXECUÇÃO DO PROJETO

Nome:

Universidade Católica de Santos

CNPJ:

58191008001568

5. DECLARAÇÃO:

Ao enviar este documento ao CNPq, o BENEFICIÁRIO DECLARA FORMALMENTE:

- a) conhecer o Protocolo de Cooperação Técnica firmado entre a instituição indicada como executora deste projeto e o CNPq e as Condições Gerais que regem o presente Termo;
- b) saber que os documentos referidos na alínea 'a' são parte integrante do presente Termo, e que foram publicados no Diário Oficial e reproduzidos na página do CNPq na Internet;
- c) subscrever e concordar integralmente com os referidos Termos;
- d) conhecer e cumprir as normas do CNPq, ora em validade, sobre a modalidade de auxílio que lhe é concedida e que também são consideradas parte integrante deste documento;
 - saber que a eventual mudança dessas normas não afeta, altera ou incide sobre o presente Termo, exceto quando proposta pelo CNPq e formalmente aceita pelo BENEFICIÁRIO.
- e) possuir anuência formal da INSTITUIÇÃO de execução do projeto, seja sob a forma de vínculo empregatício ou funcional ou, na ausência deste, sob a forma de declaração de autoridade institucional competente, segundo modelo disponível na página do CNPq na Internet, para a utilização de sua infra estrutura e facilidades pertinentes para a execução do projeto;
- f) dispor das autorizações legais cabíveis de instituições como Instituto Brasileiro de Meio Ambiente IBAMA, Fundação do Nacional do Índio FUNAI, Comitê de Ética na Pesquisa CEP, Comissão Nacional de Ética em Pesquisa CONEP, das Comissões de Ética em pesquisa com animais, Comissão Nacional de Energia Nuclear CNEN e outras, no caso em que a natureza do projeto as exigir;
- g) no caso de o projeto incluir a concessão de bolsas:
 - indicará bolsista com titulação e nível correspondentes ao da bolsa concedida, pelo tempo estipulado, por meio do formulário pertinente e que responderá integralmente pela adequação e correção desta indicação;
 - comunicará ao CNPq, por meio do formulário pertinente, a substituição do bolsista nos casos em que isso seja previsto e permitido;
 - manterá sob sua custódia, documento assinado pelo bolsista, segundo modelo disponível na página do CNPq na internet, declarando conhecer as regras da bolsa que receberá e comprometendo se a acatá las integralmente.
- h) que manterá sob sua guarda, os documentos comprobatórios referidos no item 2.4 e nas alíneas "e", "f" e "g.3" deste item, até 5 (cinco) anos após a aprovação final das contas do CNPq pelo Tribunal de Contas da União;
- i) que conferiu as informações constantes de seu currículo Lattes e as declara corretas e atualizadas;
- j) que tem ciência de que esta declaração é feita sob pena da incidência nos artigos 297 299 do Código Penal Brasileiro sobre a falsificação de documento público e falsidade ideológica, respectivamente, disponível na página do CNPq, na Internet.

6. LEGISLAÇÃO APLICÁVEL

Sujeita se o BENEFICIÁRIO às normas do CNPq, às condições contidas na Instrução Normativa nº 01, de 15 de janeiro de 1997, da Secretaria do Tesouro Nacional, nas Leis nº 8.666/93 e nº 10.973/04, nos Decretos nº 93.872/86 e nº 5.563/05 e na Lei nº 8.112/90, de 11 de dezembro de 1990, no que couber, bem como nos demais instrumentos legais pertinentes.

7. DA VIGÊNCIA e ALTERAÇÕES

7.1. O presente Termo terá vigência pelo prazo máximo constante no Edital/Chamada correspondente.

7.2. O aceite deste Termo deve ser devidamente enviado ao CNPq. O prazo para utilização dos recursos para custeio/capital e/ou bolsas começa a vigorar a partir da data da publicação, pelo CNPq, no Diário Oficial da União, do presente Termo de Concessão e Aceitação, pelo período de 24 (vinte e quatro) meses.

7.3. Este instrumento poderá ser alterado, por meio de termos aditivos, com as devidas e aceitas justificativas apresentadas no prazo mínimo de 30 (trinta) dias antes da data que se pretenda o implemento das alterações, exceto o aditamento com o intuito de alterar sua finalidade, sendo nulo de pleno direito qualquer ato nesse sentido.

8. DA NOTIFICAÇÃO E PUBLICAÇÃO

8.1. O CNPq notificará o BENEFICIÁRIO, por via eletrônica, a aprovação de seu projeto.

8.2. Por razões orçamentárias, o BENEFICIÁRIO terá o prazo estipulado na notificação eletrônica para retornar ao CNPq, presente Termo de Concessão e Aceitação.

8.3. O não cumprimento do prazo definido, exceto quando plenamente justificável a critério da Diretoria do CNPq, implica irremediavelmente no cancelamento da concessão. Não são justificativas aceitáveis: endereços errados na Plataforma Lattes; não abertura do e-mail institucional; esquecimento; viagens e problemas com o computador ou na transmissão em tempo hábil.

8.4. A publicação do extrato deste Termo no Diário Oficial da União será providenciada pelo CNPq, até o quinto dia útil do mês seguinte ao de sua assinatura, devendo ocorrer no prazo de 20 (vinte) dias daquela data.

9. ACEITE

Ao enviá-lo ao CNPq, o BENEFICIÁRIO declara que leu e aceitou integralmente os termos deste documento.

Termo de aceitação Registrado eletronicamente através da internet junto ao CNPq, pelo agente receptor 10.0.0.233(srv216.cnpq.br), mediante uso de senha pessoal do Beneficiário em 18/11/2008 13:24:23, originário do número IP 201.28.235.5(201.28.235.5) e número de controle 1790230817902308:1017521866 3313400057.

*Para visualizar este documento novamente ou o PDF assinado digitalmente, acesse:
<http://efomento.cnpq.br/efomento/termo?numeroAcesso=0548883029153767>.*

ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
(Resolução nº 196, de 10 de outubro de 1996)

PROJETO DE PESQUISA

Avaliação do desenvolvimento dentário em crianças expostas e não expostas aos contaminantes ambientais na região do estuário de Santos e São Vicente
Prezado (a) Senhor (a):

A região do Estuário de Santos e São Vicente é um grande polo industrial, concentrando vários tipos de metais pesados no solo, água e sedimentos. Investigar o grau de exposição da população a essas substâncias é de suma importância para a saúde. O objetivo deste estudo é avaliar o desenvolvimento dentário em crianças de 6 a 13 anos de idade residentes em áreas expostas e não expostas aos contaminantes ambientais nessa região. As crianças de sua família foram sorteadas para participar deste estudo. Serão realizados exames bucais para registrar os dentes com alterações de esmalte e com sinal de ataque por cárie. Além disso, serão colhidas algumas partículas do esmalte dos incisivos centrais permanentes superiores para avaliar a acumulação de chumbo. O exame é indolor. É usada uma substância para remover as partículas de esmalte que não prejudica o tecido nem causa danos às crianças. Após o exame, uma solução com flúor para proteção do esmalte dentário será aplicada. Serão adotados critérios de observação recomendados pela Organização Mundial da Saúde e condições de biossegurança recomendados pelo Ministério da Saúde. Não existem desconfortos nem riscos à saúde da criança. Os dados pessoais relativos ao meu filho (a) não serão divulgados em nenhuma hipótese, e sua participação é isenta de despesas, podendo a qualquer momento retirar o meu consentimento sem prejuízo ou perda de qualquer benefício. Maiores informações podem ser obtidas com a cirurgiã-dentista Vera Lucia Ferreira de Oliveira, aluna do Programa de Pós-Graduação (Mestrado) em Saúde Pública e profissional responsável pela realização dos exames, pelo telefone 13-9706-3812 ou 13-3205-5578. Sua colaboração é muito importante para a produção de informações científicas relacionadas à exposição da população aos contaminantes ambientais presentes na dentição.

“Eu, _____
responsável pelo (a) _____
fui suficientemente informado a respeito das características do estudo e autorizo voluntariamente a participação dele (a). A minha assinatura neste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido dará autorização ao Programa de Pós-Graduação (Mestrado) em Saúde Coletiva da UNISANTOS a utilizar os dados com finalidade científica, incluindo sua divulgação, sempre preservando minha privacidade”.

“Assino o presente documento em duas vias de igual teor e forma, ficando uma em minha posse”.

_____, de _____ de _____
(Local) (dia) (mês) (ano)

ANEXO C – Aprovação COMET – UNISANTOS**UNISANTOS**

Universidade Católica de Santos

PARECER DO COMET-UNISANTOS

Projeto de pesquisa: “Avaliação do Desenvolvimento Dentário em Crianças Expostas e Não Expostas aos Contaminantes Ambientais na Região do Estuário de Santos e São Vicente”

Pesquisador Responsável: Profa. Vera Lúcia Ferreira de Oliveira

Processo nº. 3193.15.2008

Data: 23 de setembro de 2008

Prezada Pesquisadora

A nova versão do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), referente ao projeto de pesquisa acima referido, enviada por V.Sa., foi analisada por um relator e por um revisor, na perspectiva do cumprimento das recomendações anteriormente feitas por este Comitê, que buscaram o cumprimento das exigências da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

Cumpre-me informá-la que essa análise teve como conclusão estarem sanadas as falhas, anteriormente apontadas, razão porque esse projeto de pesquisa foi avaliado como aprovado, sendo que essa avaliação foi ratificada, nesta data, pelo plenário do Comet.

Santos, 26 de novembro de 2.008

Prof. Dr. Catulo César P. B. Magalhães

Presidente do COMET- SANTOS

ANEXO D – Autorização para Utilização de Dados Processados – FOU SP

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

Ribeirão Preto, 26 de novembro de 2013.

DECLARAÇÃO

Declaro que Vera Lúcia Ferreira de Oliveira está autorizada a utilizar dados referentes a sua pesquisa, processados aqui neste laboratório, além de tê-la orientado no seu treinamento para o processo de coleta de material para a pesquisa de campo. Estaremos em contato para a continuação do processo de elaboração da tese.

Atenciosamente

A handwritten signature in blue ink, reading "Raquel Gerlach", is written over a light blue rectangular background.

Profª Drª Raquel Fernanda Gerlach
Depto. de Morfologia, Estomatologia e Fisiologia
Faculdade de Odontologia

ANEXO E – Aprovação COMET – FMUSP **APROVAÇÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de **11/12/2013**, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **510/13** intitulado: **"AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DENTÁRIO EM CRIANÇAS EXPOSTAS E NÃO EXPOSTAS AOS CONTAMINANTES AMBIENTAIS NA REGIÃO DO ESTUÁRIO DE SANTOS E SÃO VICENTE"** apresentado pelo Departamento de **PATOLOGIA**

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar ao CEP-FMUSP, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 466/12).

Pesquisador (a) Responsável: **Luiz Alberto Amador Pereira**
Pesquisador (a) Executante: **Vera Lucia Ferreira de Oliveira**

CEP-FMUSP, 12 de Dezembro de 2013.

Prof. Dr. Paulo Eurípedes Marchiori
Vice-Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa

ANEXO F – Autorização de Uso de Banco de Dados

Santos, 15 de julho de 2013.

DECLARAÇÃO

Declaro que Vera Lúcia Ferreira de Oliveira está autorizada a utilizar o banco de dados construído a partir do Estudo Epidemiológico na População Residente na Baixada Santista - Estuário de Santos: Avaliação de Indicadores de Efeito e de Exposição a Contaminantes Ambientais, financiado pelo CNPq (edital 50/2005, Número 402663/2005-5), coordenado por mim.

Atenciosamente,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Alfésio Braga'.

Prof. Dr. Alfésio Luís Ferreira Braga

Grupo de Avaliação de Exposição e Risco Ambiental

Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva

ANEXO G – Artigo publicado

*Dental enamel as biomarker for
environmental contaminants in relevant
industrialized estuary areas in São Paulo,
Brazil*

**Vera Lucia Ferreira de Oliveira, Raquel
Fernanda Gerlach, Lourdes Conceição
Martins, Carolina de Souza Guerra,
Paulo Frazão, et al.**

**Environmental Science and Pollution
Research**

ISSN 0944-1344

Environ Sci Pollut Res
DOI 10.1007/s11356-017-8878-8

Springer

8 REFERÊNCIAS

Abdullah MM, Ly AR, Goldberg WA, Clarke-Stewart KA, Dudgeon JV, Mull CG, Chan TJ, Kent EE, Mason AZ, Ericson JE. Heavy metal in children's tooth enamel: related to autism and disruptive behaviors? *J Autism Dev Disord*. 2012; Jun 42(6): 929-36.

Almeida GRC, Freitas CU, Barbosa F Jr, Tanus-Santos JE, Gerlach RF. Lead in saliva from lead-exposed and unexposed children. *Sci Total Environ*. 2009 Feb 15;407(5):1547-50.

Almeida GRC, Guerra CS, Leite GAS, Antonio RC, Barbosa Jr F, Tanus-Santos JE, Gerlach RF. Lead contents in the surface enamel of primary and permanent teeth, whole blood, serum, and saliva of 6- to 8-year-old children. *Sci Total Environ*. 2011 Apr 15;409(10):1799-805.

Almeida GRC, Saraiva MCP, Barbosa Jr F, Krug FJ, Cury JÁ, Souza MLR, Buzalaf MAR, Gerlach RF. Lead contents in the surface enamel of deciduous teeth sampled in vivo from children in uncontaminated and in lead-contaminated areas. *Environ Res*. 2007; 104(3): 337-45.

Araújo NS, Araújo VC. *Patologia Bucal*. Distúrbios de desenvolvimento. São Paulo: Artes Médicas, 1984; p. 11-37.

Alomary A, Al-Momani IF, Obeidat SM, Massadeh AM. Levels of lead, cadmium, copper, iron, and zinc in deciduous teeth of children living in Irbid, Jordan by ICP-OES: some factors affecting their concentrations. *Environmental monitoring and assessment*. 2013; 185(4):3283-95.

Arora M, Kennedy BJ, Elhlou S, Pearson NJ, Walker DM, Bayl P, Chan SW. Spatial distribution of lead in human primary teeth as a biomarker of pre- and neonatal lead exposure. *Sci Total Environ*. 2006 Dec 1;371(1-3):55-62.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. *Lead*. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry [Internet]. March 2011. [cited 2015 Jul 9]. Available from: <<http://www.atsdr.cdc.gov/substances/toxsubstance.asp?toxid=22>>.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. *Toxicological profile for cadmium*. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry. [Internet]. September 2012. [cited 2015 Jul 9]. Available from: <<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp5.pdf>>.

Bari A, Kindzierski, WB. *Concentrations, sources and human health risk of inhalation exposure to air toxics in Edmonton, Canada*. Chemosphere. 2017;173:160-171.

Bellinger DC, Stiles KM, Needleman HL. Low-level lead exposure, intelligence and academic achievement: a long-term follow-up study. *Pediatrics*. 1992 Dec;90(6):855-61.

Braga, ALF, Pereira LAA, Geraldo LP, Malm O, Celebrone G, Gomes AP. et al. *Estudo Epidemiológico na População Residente na Baixada Santista – Estuário de Santos: Avaliação de Indicadores de Efeito e de Exposição a Contaminantes Ambientais*. Projeto Estuário CNPq 2005/40266351. UNISANTOS • CEDEC • IBCCF/ UFRJ • NEEA – FMUSP • IPEN. [Internet]. 2009. [cited 2015 Aug 6]. Available from: <http://www.unisantos.br/upload/menu3niveis_1280350424329_relatorio_final_estuario_completo.pdf>.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde/Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de Atenção Básica. Coordenação Geral de Saúde Bucal. *Projeto SBBrasil - Pesquisa Nacional de Saúde Bucal – 2010*. [Internet]. Brasília (DF), 2011 [cited 2015 Nov 28]: Available from: <http://dab.saude.gov.br/CNSB/sbbrasil/arquivos/projeto_sb2010_relatorio_final.pdf>.

Bekesi JG, Anderson HA, Roboz JP, Roboz J, Fischbein A, Selikoff IJ, Holland JF. Immunologic dysfunction among PBB-exposed Michigan dairy farmers. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1979; 320: 717-728.

Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *British Medical Journal*. 1992; 305: 609-613.

Chao WY, Hsu CC, Guo YL. Middle-ear disease in children exposed prenatally to polychlorinated biphenyls and polychlorinated dibenzofurans. *Archives of Environmental Health*. 1997; 52: 257-262.

Callegari-Jacques SM. *Biostatistics: Principles and Applications*. Porto Alegre: Artmed; 2003.

Capitani EM. Metabolismo e toxicidade do chumbo na criança e no adulto. *Simpósio Chumbo e a Saúde Humana*. Medicina (Ribeirão Preto) 2009;42(3): 278-86.

CDC. Centers for disease control and prevention. U.S. Department of Health & Human Services. HHS/Open. USA. *Lead home*. [Internet]. June 2014. [cited 2015 Jul 9]. Available from: <http://www.cdc.gov/nceh/lead/ACCLPP/blood_lead_levels.htm>.

CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Secretaria de Estado do Meio Ambiente. Governo do Estado de São Paulo. *Sistema Estuarino de Santos e São Vicente*. Relatório Técnico. Agosto de 2001.

Chan TJ, Gutierrez C, Ogunseitan OA. Metallic burden of deciduous teeth and childhood behavioral deficits. *International journal of environmental research and public health*. 2015;12(6):6771-87.

Clarkson TW. Mercury: an element of mystery. *N. Engl. J. Med.* 1990; 323:1137-9.

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.* 1991a;25(4):256-63.

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.* 1991b Apr;19(2):107-11.

Davies K. Concentrations and Dietary Intake of Selected Organochlorines, including PCBs, PCDDs and PCDFs in Fresh Food Composites grown in Ontario, Canada. *Chemosphere*. 1988; Vol. 17, N° 2. p. 163-276.

Dehghani S, Moore F, Keshavarzi B, Hale BA. Health risk implications of potentially toxic metals in street dust and surface soil of Tehran, Iran. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2017 Feb;136:92-103.

Élson DM. *Atmospheric pollution: causes, effects, and control policies*. 1987; Chapter 1: pg 1-73. Oxford; Basel Blackwel LTD.

Emsley J. *Nature's Building Blocks: An A-Z Guide to the Elements*. Chapter: Manganese. Oxford, UK: Oxford University Press. 2001; 249-253.

Erickson JD, Mulinare J, McClain PW, Fitch TG, James LM, McClearn AB, Adams MJ. Vietnam veterans risks for fathering babies with birth defects. *Journal of the American Medical Association*. 1984; 252: 903-912.

Ericson JE, Rinderknecht A, Gonzalez EJ, Crinella FM, Kleinman MT. Measurements of manganese with respect to calcium in histological enamel cross sections: toward a new manganese biomarker. *Environmental Research* 2001; 86(1):46-50.

Evans GR, Webb KB, Knutsen AP, Roodman ST, Roberts DW, Garrett WA. A medical follow-up of the health effects of long-term exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Archives of Environmental Health*. 1988; 43: 273-278.

Ferner DJ. Toxicity, heavy metals. *eMed. J*. 2001 May 25; 2(5):1.

Fischer A, Wiechuła D. Age-Dependent Changes in Pb Concentration in Human Teeth. *Biol Trace Elem Res*. 2016 Sep;173(1):47-54.

Fischer A, Wiechuła D, Postek-Stefańska L, Kwapuliński J. Concentrations of metals in maxilla and mandible deciduous and permanent human teeth. *Biol Trace Elem Res*. 2009 Dec;132(1-3):19-26.

Fischer A, Wiechula D, Przybyla-Mistela C. Changes of concentrations of elements in deciduous teeth with age. *Biological trace element research*. 2013;154(3):427-32.

Flores-Ramírez R, Rico-Escobar E, Núñez-Monreal J, García-Nieto E, Carrizales L, Ilizaliturri-Hernández C et al . Exposición infantil al plomo en sitios contaminados. *Salud pública Méx* [Internet]. 2012 Ago [citado 2015 Ago 27]; 54(4):383-392. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342012000400008>.

Frank G. Catástrofe ecológica no Reno. *Deutsche Welle*, 1986 [online]. Disponível em: <<http://www.dw.com/pt-br/1986-cat%C3%A1strofe-ecol%C3%B3gica-no-reno/a-666757>>

Gerber GB, Léonard A, Hantson P. Carcinogenicity, mutagenicity and teratogenicity of manganese compounds. *Crit Rev Oncol Hematol* 2002 Apr; 42 (1): 25-34.

Gerlach RF, Souza AP, Cury JA, Line SR. Effect of lead, cadmium and zinc on the activity of enamel matrix proteinases in vitro. *Eur J Oral Sci.* 2000 Aug;108(4): 327-34.

Greenpeace. *Crimes ambientais corporativos no Brasil*. 2002 [online]. Disponível em: <https://pdfdocumento.com/crimes-ambientais-corporativos_59f69ceb1723dd55eedbc6be.html>.

Gulson BL, Mizon KJ, Davis JD, Palmer JM, Vimpani G. Identification of sources of lead in children in a primary zinc-lead smelter environment. *Environ Health Perspect.* 2004 Jan; 112(1): 52–60.

Gulson BL, Pounds JG, Mushak P, Thomas BJ, Grav B, Korsch MJ. Estimation of cumulative lead releases (lead flux) from the maternal skeleton during pregnancy and lactation. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine.* 1999;134(6):631-640.

Gurer H, Ercal N. Can antioxidants be beneficial in the treatment of lead poisoning? *Free Radical Biology & Medicine.* 29 (10): 927-945, 2000.

Halberg GR. Pesticide Pollution of Groundwater in the Humid U.S. *Agr Ecosystem Environ.* 1989; 26: 299-368 p 228.

Hoar ZS, Blair A et al. Agricultural Herbicide use and risk of lymphoma and soft tissue sarcoma. *JAMA.* 1986; 256, 1141-47.

Ikegami A, Takagi M, Fatmi Z, Kobayashi Y, Ohtsu M, Cui X et al. External lead contamination of women's nails by surma in Pakistan: Is the biomarker reliable? *Environ Pollut.* 2016 Nov;218:723-727.

Irvine D. Falling sperm quality. *British Medical Journal*. August 13, 1994; 309: 476.

Jennings AM, Wild G, Ward JD, Ward AM. Immunologic abnormalities 17 years after accidental exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *British Journal of Industrial Medicine*. 1988; 45: 701-704.

Kamberi B, Kqiku L, Hoxha V, Dragusha E. Lead concentrations in teeth from people living in Kosovo and Austria. *Coll Antropol*. 2011 Mar;35(1):79-82.

Karri V, Schuhmacher M, Kumar V. Heavy metals (Pb, Cd, As and MeHg) as risk factors for cognitive dysfunction: A general review of metal mixture mechanism in brain. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2016 Dec;48:203-213.

Kawamura Y, Mutsuga M, Yamauchi T, Ueda S, Tanamoto K. Migration tests of cadmium and lead from paint film of baby toys. *Shokhin Eiseigaku Zasshi*. 2009 Apr; 50(2): 93-6.

Kim R, Hu H, Rotnitzky A, Bellinger D, Needleman H. Longitudinal relationship between dentin lead levels in childhood and bone lead levels in young adulthood. *Archives of Environmental Health*. 1996;51(5):375-382.

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

Koopman-Esseboom C, Weisglas-Kuperus N, Ridder MA, Van der Paauw CG, Tuinstra LG, Sauer PJ. Effects of polychlorinated biphenyl/dioxin exposure and feeding type on infants' mental and psychomotor development. *Pediatrics*. 1996; 97 (5): 700-706.

Kumagai A, Fujita Y, Endo S, Itai K. Concentrations of trace element in human dentin by sex and age. *Forensic science international*. 2012;219(1):29-32.

López-Rodríguez G, Galván M, González-Unzaga M, Hernández Ávila J, Pérez-Labra M. Blood toxic metals and hemoglobin levels in Mexican children. *Environ Monit Assess*. 2017 Apr;189(4):179.

Manmee C. *Lead levels in teeth as measure of life-time lead exposure in children*. [Ph.D. thesis (Doctor of Philosophy)]. England: Newcastle University; 2013.

Lu YC, Wu YC. Clinical findings and immunological abnormalities in Yu-Cheng patients. *Environmental Health Perspectives*. 1985; 59: 17-29.

Marcus S. Toxicity, lead. *eMed. J*. 2001 Jun 4; 2(6):7.

Mello-da-Silva CA, Fruchtengarten L. Riscos químicos ambientais à saúde da criança. *J Pediatr* (Rio J). 2005;81(5 Supl):S205-S211.

Moreira FR, Moreira JC. A cinética do chumbo no organismo humano e sua importância para a saúde. *Ciênc. saúde coletiva* [Internet]. 2004a [cited 2015 Aug 27]; 9(1):167-181. Available from: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-81232004000100017&script=sci_arttext>.

Moreira FR, Moreira JC. Os efeitos do chumbo sobre o organismo humano e seu significado para a saúde. *Rev Panam Salud Publica* [Internet]. 2004b Feb [cited 2015 Aug 27]; 15(2):119-129. Available from: <<http://www.scielosp.org/pdf/rpsp/v15n2/20821.pdf>>.

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

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

Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. *Patologia Oral e Maxilofacial*. Anomalias dos dentes. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. p.43-92.

Nikolic R, Kalicanin B, Krstic N. The realize of zinc, copper, lead, and cadmium from the mineral tissue of teeth under the influence of soft drinks and sour-tasting food. *Connect Tissue Res*. 2012; 53(3):229-35.

Nowak B, Chmielnicka J. Relationship of lead and cadmium to essential elements in hair, teeth, and nails of environmentally exposed people. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2000 Jul;46(3):265-74.

Nowak B, Kozlowski H. Heavy metals in human hair and teeth: The correlation with metal concentration in The environment. *Biological Trace Element Research* June 1998; 62(3):213-228.

Oliveira VLF. *Avaliação do Desenvolvimento Dentário em Crianças Residentes em Diferentes Áreas na Região do Estuário de Santos e São Vicente*. Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva). Santos: Universidade Católica de Santos; 2010.

Olympio KPK, Naozuka J, Oliveira PV, Cardoso MRA, Bechara EJH, Günther WMR. Association of dental enamel lead levels with risk factors for environmental exposure. *Rev. Saúde Pública* [Internet]. 2010a [cited 2015 Aug 19]; 44(5):851-858. Available from: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102010000500010>.

Olympio KPK, Oliveira PV, Naozuka J, Cardoso MRA, Marques AF, Günther WMR, Bechara EJH. Surface dental enamel lead levels and antisocial behavior in Brazilian adolescents. *Neurotoxicology and Teratology*. 2010b; 32:273-279.

Oranskey et al. Slizures temporally associated with the use of DEET insect repellent – New York and Connecticut. *MMWR*. 1989; 38: 678-680 in Pesticides in the Diets of Infants and Children.

Osman K, Akesson A, Berglund M, Bremme K, Schütz A, Ask K, Vahter M. Toxic and essential elements in placentas of Swedish women. *Clin Biochem.* 2000 Mar; 33(2):131-8.

Patandin S, Lanting CI, Mulder PGH, Boersma ER, Sauer PJJ, Weisglas-Kuperus N. Effects of environmental exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins on cognitive abilities in Dutch children at 42 months of age. *Journal of Pediatrics*. 1999b; 134: 33-41.

Paulozzi LJ, Erickson JD, Jackson RJ. Hypospadias trends in two US surveillance systems. *Pediatrics*. 1997; 100: 831-834.

Peediayill F, Kumar K, Kottari S, Kenchamba V, Babu G, Jose D. Estimation of three microelements in primary teeth by inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy. *Journal of Research in Dentistry*. 2014;2(2):103-10.

Roberts JR. Metal toxicity in children. In: Training Manual on Pediatric Environmental Health: Putting it into Practice. *Emeryville, CA: children's Environmental Health Network*. [Internet]. 1999 Jun [cited 2015 Aug 28]: 115-131. Available from: <http://www.cehn.org/files/Manual_Full_Version.pdf>.

Roegner RH, Grubbs WD, Lustik MB, Brockman AS, Henderson SC, Williams DE, Wolfe WH, Michalek JE, Miner JC. Air Force Health Study: An epidemiological investigation of health effects in Air Force personnel 58 following exposure to herbicides. Serum dioxin analysis of 1987 examination results. NTIS# AD A-237-516 – AD A-237-524, 1991.

Ruppenthal JE. *Toxicologia*. Universidade Federal de Santa Maria/RS, Brasil. Colégio Técnico Industrial de Santa Maria, Rede e-Tec Brasil. [update 2013; cited 2015 Aug 7]. Available from: <http://estudio01.proj.ufsm.br/cadernos_seguranca/sexta_etapa/toxicologia.pdf>.

Salgado PET. Toxicologia dos metais. In: Oga S. *Fundamentos de toxicologia*. São Paulo: 1996a.; 3(2):154-172.

Salgado PET. Metais em Alimentos. In: Oga S. *Fundamentos de toxicologia*. São Paulo: 1996b; 5(2):443-460.

Scarciglia F, Barca D. A powerful tool for assessing distribution and fate of potentially toxic metals (PTMs) in soils: integration of laser ablation spectrometry (LA-ICP-MS) on thin sections with soil micromorphology and geochemistry. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2017 Apr;24(10):9776-9790.

Smith Aileen M, Smith Eugene. *Minamata*. New York: Holt, Rinehart and Winston, 1975.

Solá C, Burgos M, Plazuelo A, Toja J, Plans M, Prat N. Heavy metal bioaccumulation and macroinvertebrate community changes in a Mediterranean stream affected by acid mine drainage and an accidental spill (Guadiamar River, SW Spain). *The Science of Total Environment*, v.333, p.109-26, 2004.

Stockbauer JW, Hoffman RE, Schramm WF, Edmonds LD. Reproductive outcomes of mothers with potential exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *American Journal of Epidemiology*. 1988; 128: 410-419.

Tang J, Xiao T, Wang S, Lei J, Zhang M, Gong Y, Li H, Ning Z, He L. High cadmium concentrations in areas with endemic fluorosis: a serious hidden toxin? *Chemosphere*. 2009 Jul; 76(3): 300-5.

Tavakkoli L, Khanjani N. Environmental and occupational exposure to cadmium in Iran: a systematic review. *Rev Environ Health*. 2016 Dec 1;31(4):457-463.

Tvinnereim HM, Eide R, Riise T. Heavy metals in human primary teeth: some factors influencing the metal concentrations. *Science of The Total Environment*. 2000 June; 255(1):21-27.

Vij AG, Satija NK, Flora SJ. Lead induced disorders in hematopoietic and drug metabolizing enzyme system and their protection by ascorbic acid supplementation. *Biomed. Environ. Sci*. 1998; 11(1):7-14.

Vimercati L , Baldassarre A , Gatti MF , Gagliardi T, Serinelli M , De Maria L et al. Non-occupational exposure to heavy metals of the residents of an industrial area and biomonitoring. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2016, 188(12):673.

Warner M, Eskenazi B, Mocarelli P, Gerthoux PM, Samuels S, Needham L, Patterson D, Brambilla P. Serum dioxin concentrations and breast cancer risk in the Seveso Women's Health Study. *Environ Health Perspect*. 2002 Jul; 110(7):625-8.

Webb KB, Evans RG, Knutsen AP, Roodman ST, Roberts DW, Schramm WF, Gibson BB, Andrews JS, Needham LL, Patterson DG. Medical evaluation of subjects with know body levels of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 1989; 28:183-193.

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

West WL, Knight EM, Edwards CH, Manning M, Spurlock B, James H, Johnson AA, Oyemade UJ, Cole OJ, Westney OE, et al. Maternal low level lead and pregnancy outcomes. *J. Nutr*. 1994; 124(6): 9815-65.

WHO. World Health Organization. *Oral Health Surveys*. Basic Methods. 4.ed. Geneva, 1997.

Yu Y, Ma J, Song N, Wang X, Wei T, Yang Z, Li Y. Comparison of metal pollution and health risks of urban dust in Beijing in 2007 and 2012. *Environ Monit Assess*. 2016 Dec;188(12):657.

Yule Q, Lansdown R, Millar IB, Urbanowicz MA. The relationship between blood lead concentrations, intelligence and attainment in a school population: a pilot study. *Dev Med Child Neurol*. 1981 Oct;23(5):567-76.

Zober A, Ott MG, Messerere P. Morbidity follow up study of BASF employees exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) after a 1953 chemical reactor incident. *Occupational and Environmental Medicine*. 1994; 51: 479-486.