UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE PSICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOBIOLOGIA

JEANNE RAMOS DE MELO MONTEIRO

*ANÁLISE DA LINHA NEONATAL NO ESMALTE DE DENTIÇÃO DECÍDUA DE
CRIANÇAS NASCIDAS A TERMO E PREMATURAS*

RIBEIRÃO PRETO-SP

2020

JEANNE RAMOS DE MELO MONTEIRO

***ANÁLISE DA LINHA NEONATAL NO ESMALTE DE DENTIÇÃO DECÍDUA DE
CRIANÇAS NASCIDAS A TERMO E PREMATURAS***

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FFCLRP/USP), como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Psicobiologia.

Orientadora: Profa. Dra. Raquel Fernanda Gerlach

**RIBEIRÃO PRETO-SP
2020**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO DO TEOR TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central do Campus USP - Ribeirão Preto

Monteiro, Jeanne Ramos De Melo

“Análise da linha neonatal no esmalte de dentição decídua de crianças prematuras e a termo”. Ribeirão Preto, 2020.

67p.: il.; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciência e Letras de Ribeirão Preto/USP. Área de Concentração: Psicobiologia.

Orientadora: Gerlach, R. F.

1. Linha Neonatal 2. Idade Gestacional 3. Peso ao Nascer. 4. Dente decíduo

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Jeanne Ramos De Melo Monteiro

Título: “Análise da linha neonatal no esmalte de dentição decídua de crianças nascidas a termo e prematuras ”

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo (FFCLRP), para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Psicobiologia

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora:

Orientador: Profa. Dra. Raquel Fernanda Gerlach

Instituição: Faculdade de Odontologia - USP

Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Agda e Diogenes que sempre, com seus cuidados e alegria fazem com que eu me sinta forte e amada na caminhada da vida;

Aos meus tios Aidê e Jair, que sempre me cercaram de carinho e cuidados, espero poder retribuir como merecem;

Aos meus avós Virginia e Francisco (in memoriam) vocês são a minha melhor parte;

Aos meus filhos por serem a minha motivação para novas conquistas.

Dedico todas minhas vitórias a vocês, porque são a razão do meu esforço!

Amo a todos intensamente!

AGRADECIMENTOS

Nesta caminhada muitas foram as dificuldades encontradas e barreiras transpostas. Foram tempos de reflexão, ressignificação e aprendizagem intensa.

Sou grata a:

Profa. Dra. Raquel Fernanda Gerlach, pelos conhecimentos transmitidos;

Júnia Ramos, por sua colaboração na execução deste trabalho e sua amizade;

Rodrigo Mazzei, por seu auxílio e incentivo;

A Profa. Dra. Christie Leite Panissi, por seu apoio e confiança;

À técnica do laboratório Patrícia Adriana Basile, por seu auxílio técnico durante a experimentação deste estudo;

Renata Beatriz Vicentini, por seu profissionalismo e humanidade;

Aos membros da banca, pelo tempo e atenção dispensados para leitura de minha dissertação;

A CAPES, PROEX e FAPESP, pelo apoio financeiro.

Muito obrigada a todos!

“Bem aventurado o homem que acha a sabedoria, e o homem que adquire conhecimento.”

Provérbio 3:13

RESUMO

MONTEIRO, J.R.M. **Análise da linha neonatal no esmalte de dentição decídua de crianças nascidas a termo e prematuras.** Dissertação (Mestrado em Psicobiologia – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2020).

A linha neonatal (LNN) é uma linha evidente em cortes de dentes preparados por desgaste e há relatos de que ela existe na maior parte do esmalte e dentina dos dentes decíduos. Ela surge como um registro imutável, que marca os eventos pelos quais passaram as células que estavam secretando os tecidos mineralizados do dente no momento do nascimento. O estresse no momento do nascimento acarreta alterações no padrão de secreção das proteínas e que mais tarde se revelam como uma modificação morfológica claramente identificável como linha neonatal nesse tecido mineralizado dos dentes decíduos. As crianças nascidas prematuras apresentam números maiores de distúrbios de desenvolvimento em relação às crianças nascidas a termo. Logo, detectar a LNN que é um parâmetro claro dos períodos peri e pós natal, pode contribuir para exames diagnósticos visto que os eventos nocivos ficam gravados no esmalte decíduo. Este estudo teve por objetivo verificar se há associação entre a presença e ausência da linha neonatal no esmalte dentário e variáveis antropométricas de recém nascidos, como peso ao nascer (PN) e idade gestacional (IG). Foram usados 11 dentes decíduos de crianças nascidas com idade gestacional >37 semanas e o seu peso ao nascer (a termo), e 11 dentes decíduos de crianças nascidas com idade gestacional < 37 semanas e seu peso ao nascer (prematuros). Os dentes foram fixados, cortados e lixados até 80 μm . Em seguida, foram analisados em microscópios de luz polarizada em campo claro para detectar a presença ou ausência da LNN. Para analisar a associação da LNN com o Peso ao Nascer e a Idade Gestacional, usou-se o Teste Exato de Fisher, que apontou não existir associação estatisticamente significativa dessas variáveis com a presença ou a ausência da LNN. No Teste de Razão de Prevalência, com intervalo de confiança de 95% (IC95%), também não encontrou diferenças estatisticamente significativas para PN e IG e LNN.

Comparou-se a Razão de Prevalência (RP), que parecia ser iguais para os dois grupos no IC95%, cujo valor encontrado foi de $p=0,99$, sem diferenças estatisticamente significativas e $RP=1,00$. Este estudo, com número ainda pequeno de dentes em cada grupo, demonstrou não existir uma associação da LNN com PN e com a IG. No entanto, estudo futuro com uma

maior quantidade de dentes pode contribuir com maior robustez aos dados encontrados. Em cada grupo analisado n=11, 10 apresentaram a LNN.

Palavras chaves: Linha neonatal, Idade gestacional, Peso ao nascer, Dente decíduo.

ABSTRACT

MONTEIRO, J. R.M. Analysis of the neonatal line in the primary dentition enamel of children born at term and premature. Dissertation (Master degree in Phychobiology) - Faculty of Philosophy, Sciences and Letters of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

The neonatal line (NNL) is an evident line in sections of teeth made by wear and there are reports that it exists in great part of the enamel and dentin of primary teeth. It appears as an immutable record, which marks the events cells were going through when producing the mineralized tissues of the tooth at the time of birth. Stress at the time of birth causes alterations in the protein secretion pattern that later are seen as a morphological modification clearly identifiable as a neonatal line in that mineralized tissue of deciduous teeth. Preterm babies show higher numbers of developmental disorders compared to those babies born at term. Therefore, detecting the NNL, which is a clear parameter of the peri- and postnatal periods, can contribute to diagnostic tests since the harmful events are marked in deciduous tooth enamel. This study aimed to verify whether there is an association between the presence and absence of the neonatal line in the dental enamel and anthropometric variables of newborns, such as birth weight (BW) and gestational age (GA). It was used 11 primary teeth from children born at gestational age >37 weeks and their birth weight (at term), and 11 primary teeth from children born at gestational age <37 weeks and their birth weight (preterm). The teeth were fixed, cut and sanded to 80 μm . Then, they were analyzed using bright field and polarized light microscopes to detect the presence or absence of NNL. The Fisher's Exact Test was used to analyze the association of NNL with Birth Weight and Gestational Age, which pointed out that there is no statistically significant association of those variables with the presence or absence of NNL. The Prevalence Ratio Test, with a 95% confidence interval (95% CI), also pointed out that there are no statistically significant differences between BW, GA and NNL. The Prevalence Ratio (PR) was compared, which seems to be the same for both groups in the 95% CI, whose value found was $p=0.99$, with no statistically significant differences and $PR=1.00$. This study, conducted with a small number of teeth in each group, showed that there is no association between NNL and BW nor GA. However, a future study conducted using a larger number of teeth might contribute to greater robustness to the data found. In each group analyzed $n = 11$, 10 presented LNN.

Keywords: Neonatal line, gestational age, birth weight, deciduous teeth.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Classificação dos primeiros 10 países em parto prematuro	18
Tabela 2: Classificação dos países no mundo com maiores números de cesarianas	19
Tabela 3: Dados de nascimento prematuro por região em todo o país	22
Tabela 4: Características do grupo termo suas respectivas amostras em microscopia de luz polarizada e luz branca	33
Tabela 5: Características do grupo prematuros, suas respectivas amostras em microscopia de Luz Polarizada e Luz Branca	33
Tabela 6: Exibe os tipos de dentes, a frequência e percentual usados para o estudo	36
Tabela 7: Exibe os resultados de frequência e percentual do peso nas amostras estudadas	36
Tabela 8: Exibe o modo como nasceram os doadores de dentes e como estão distribuídos	36
Tabela 9: Descrição dos dados dos dois grupos estudados	36
Tabela 10: Medidas quantitativas das variáveis IG (em dias e semanas) e PN dos grupos de crianças nascidas a termo e prematuras quanto a presença e ausência da LNN	37
Tabela 11: Descrição das medidas quantitativas dos grupos de crianças nascidas a termo e prematuras quanto à presença e à ausência da LNN, das variáveis IG (em dias e semanas) e PN	37
Tabela 12: A frequência e o percentual obtidos da análise dos cortes em Luz Polarizada e Campo Claro quanto a ausência ou presença da LNN	37
Tabela 13: Demonstra números amostral e percentuais da ausência e presença da LNN e o valores de p	38
Tabela 14: Exibe os percentuais, número amostral da ausência e presença da LNN e o valores de p	38
Tabela 15: Exibe os percentuais, número amostral da ausência e presença da LNN e o valores de p	39
Tabela 16: Estimativa de frequência e Intervalo de Confiança de 95% (IC95%) associação entre PN e LNN	39
Tabela 17: Razões de Prevalência (RP) da presença da LNN com as variáveis PN e IG e intervalo de confiança (IC) de 95%.	40

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Fatores de riscos para o parto prematuro	20
Quadro 2 - Consequências a longo prazo nos nascidos prematuros	24

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Dente incisivo inferior com hipoplasia na porção incisal	23
FIGURA 2. Ultra estrutura do esmalte	24
FIGURA 3. Amelogênese: processo de formação do esmalte e seus três estágios	25
FIGURA 4. Corte longitudinal por desgaste que mostra a disposição das estrias Retzius.	27
FIGURA 5. Corte histológico de dente observado em microscópio de luz branca com aumento de 5X.	28
FIGURA 6. Parte da coleção de 524 dentes decíduos de escolares nascidos nos anos 2010 e 2011 na cidade de Ribeirão Preto	32
FIGURA 7. Doador: PCS, amostra 53D, Canino	32
FIGURA 8. Matrizes de silicone para inclusão dos dentes, cortadeira de dentes e microscópio	34
FIGURA 9. Média da IG dos grupos estudados	35
FIGURA 10. Média de peso ao nascer dos grupos estudados	35

LISTA DE ABREVIATURAS

BPN	Baixo Peso ao Nascer
C	Canino
cm	Centímetros
EBP	Extremo Baixo Peso
FORP	Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto
g	gramas
LNN	Linha Neonatal
IC	Intervalo de Confiança
IC	Incisivo Central
ICS	Incisivo Central Superior
IS	Incisivo Superior
IL	Incisivo Lateral
ILS	Incisivo Lateral Superior
IG	Idade Gestacional
MBP	Muito Baixo peso
MM	Milímetros
NI	Não Informado
NP	Nascidos Prematuros
NT	Nascidos a Termo
PN	Peso ao Nascer
RP	Razões de Prevalência
µm	Micrômetros

SUMÁRIO

1.0. INTRODUÇÃO	17
1.1. IDADE GESTACIONAL E PESO AO NASCER	17
1.2. ESMALTE	23
1.3. LINHA NEONATAL	28
2.0. OBJETIVOS	30
2.1. OBJETIVO GERAL	30
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
3.0. MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1. PROCEDIMENTO DE COLETA	31
3.2. GRUPOS	31
3.3. PREPARO DAS AMOSTRAS	33
3.4. ANÁLISE DOS CORTES	34
3.5. PARA ANÁLISE DOS RESULTADOS	34
4.0. RESULTADOS	35
5.0. DISCUSSÃO	40
6.0. CONCLUSÃO	43
7.0. REFERÊNCIAS	44
8.0. APÊNDICES	50
9.0. ANEXOS	56

1.0. INTRODUÇÃO

1.1. IDADE GESTACIONAL E PESO AO NASCER

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a idade gestacional (IG) é usada para classificar o recém-nascido como prematuro, a termo ou pós-termo. O primeiro dia do último ciclo menstrual normal da mulher seria o marco do início da gravidez. Os bebês nascidos antes de completar 37 semanas de gestação ou 259 dias de gestação são denominados de prematuros, sendo classificados em subcategorias como: prematuro extremo (menos de 28 semanas, <196 dias), muito prematuro (menos de 28 a 32 semanas 196-224 dias), prematuro moderado a tardio (32 a 37 semanas 224-259 dias). Já os bebês nascidos com idade gestacional superior a 37 semanas ou 260 dias são chamados nascidos a termo (WHO, 2018).

De acordo com Bastek et al. (2008), a IG definida como prematuro (< 37 semanas) é arbitrária, visto que não coincide com a maturidade funcional de um ou mais órgãos do neonato. Há evidências do aumento da mortalidade e morbidade de bebês nascidos entre 37 a 38 semanas, quando comparada com bebês de 39 a 40 semanas. Dessa maneira, quanto menor a idade IG, maiores os riscos de morte para o neonato.

Do mesmo modo a OMS (WHO,1977), também determina como baixo peso, independente da IG, bebês com peso inferior a 2500 gramas (g) (BPN), embora esta característica, geralmente, seja observada em neonatos prematuros. Outras terminações quanto ao peso como: muito baixo peso (MBP), o recém-nascido com menos de 1500g; de extremo baixo peso (EBP) o recém-nascido com menos de 1000g, e recém-nascido imaturo, aquele com menos de 750g. É possível também que o neonato tenha um peso menor que o esperado para sua IG, devido à desnutrição intrauterina. Nesse caso, o bebê é denominado como pequeno para idade gestacional. Portanto, a etiologia do nascimento com baixo peso está intimamente relacionada à desnutrição uterina e à IG curta e/ou uma combinação de ambos os fatores. Evidências de dados epidemiológicos apontam que crianças que nascem com baixo peso têm maior risco de morte, (WHO,2012), maior probabilidade de apresentarem problemas de desenvolvimento quando comparadas às nascidas com peso considerado adequado (LINHARES et al.,2000). Quanto mais baixo o peso de nascimento, maiores poderão ser as sequelas e a dificuldade de reversão desses efeitos deletérios. Logo, a prematuridade e o baixo peso são fatores de risco para o recém nascido (LINHARES et al.,

2000; SAIGAL e DOYLE, 2008) Para este estudo, adotamos a classificação de idade gestacional e peso ao nascer determinada pela OMS.

De acordo com o relatório da OMS (WHO,2018), há um aumento global de nascimentos prematuros estimado em, aproximadamente, 14,9 milhões de bebês nascidos antes de completar 37 semanas de gestação em todo o mundo. O parto prematuro está associado à alta morbidade e mortalidade, a curto, médio e longo prazos.

Embora haja uma dificuldade na estimativa dos dados, não há uma adoção mundial dos parâmetros estabelecidos pela OMS para definições de idade gestacional, prematuridade e até mesmo a coleta de dados (VOGEL et al., 2018). O trabalho de Chawanpaiboon et al. (2019), apontou que as nações mais pobres, localizadas principalmente no Sul da Ásia e África Subsaariana, são detentoras de grande parte dos bebês prematuros, cerca de 80%.

A prematuridade é um problema de saúde pública mundial e ocorre independentemente do nível de desenvolvimento dos países, porém com taxas diferentes entre as nações. Blencowe et al.(2012), estimaram que, em níveis nacionais, os neonatos prematuros apresentaram uma variação aproximada de 5% em países da Europa, chegando a 18% em países pobres como o Malawi. Os EUA e o Brasil aparecem listados entre os dez países com maiores números de partos prematuros em todo o mundo.

Tabela 1- Os 10 primeiros países no mundo em parto prematuro

País	Posição para o número de nascimento prematuros	Nº de partos (% do total global)
Índia	1	3.519.947 (23,4%)
China	2	1.168.126 (7,8%)
Nigéria	3	803.178 (5,3%)
Bangladesh	4	603.698 (4,0%)
Indonésia	5	527.672 (3,5%)
Paquistão	6	454.104 (3,0%)
EUA	7	382.257 (2,6%)
Etiópia	8	376.730 (2,5%)

continuação

término

País	Posição para o número de nascimento prematuros	Nº de partos (% do total global)
Brasil	9	339.239 (2,3%)
Tanzânia	10	279.256 (2.2%)

Fonte: adaptada de Chawanpaiboon et al. (2019).

A prevalência de parto prematuro é de, aproximadamente, 12 a 13% nos EUA e 5 a 9% em outros países desenvolvidos (GOLDENBERG ET AL., 2008).

O parto prematuro pode ocorrer de forma espontânea ou induzida por medicamento. O primeiro pode ser precedido por trabalho de parto e/ou ruptura prematura de membranas. O segundo acontece por indicações maternas ou fetais (como pré-eclâmpsia, descolamento prematuro da placenta, sofrimento fetal etc.), onde a indução é feita por medicamento ou ocorre a realização da cesariana sem trabalho de parto (VOGEL et al., 2018; GOLDENBERG et al., 2008). As cesarianas são realizadas de forma eletiva, sem que haja um risco iminente para a mãe ou o bebê e contribuem para o aumento das taxas de nascimento de bebês prematuros. Betrán et al. (2016), realizaram um estudo com dados de 150 países e revelaram ser 18,6% a média de partos cesarianas realizados, variando de 6% em regiões menos desenvolvidas a 27, 2% nas mais desenvolvidas.

Tabela 2- Os dados organizados abaixo são os resultados deste estudo que apontam os países com maior número de partos cesarianas por região do mundo

Regiões	País	Nº de parto cesariana
Caribe	República Dominicana	56,4%
América Latina	Brasil	55,6%
África	Egito	51,8%
Europa	Itália	38,1%
Oceânia	Nova Zelândia	33,4%
América do Norte	E.U.A	32,8%

Fonte: tabela adaptada de Betrán et al. (2016).

Segundo a ONU Brasil (NAÇÕES UNIDAS BRASIL, 2017) o Brasil ultrapassou o percentual de 57% de parto do tipo cesariana, enquanto o recomendado pela OMS é de 15%. Essa taxa elevada colocou o país em segundo lugar no mundo em número de cesarianas.

Conforme dados do Ministério da Saúde Brasileira, no ano de 2017 ocorreram 2,7 milhões de partos no país. Destes, 58,1% dos partos realizados nos serviços de saúde públicos foram de partos normais, visto que 41,9% foram de parto cesariana. Nos hospitais particulares, elas abrangem 84% dos partos realizados.

As causas do nascimento prematuro são multifatoriais e mal compreendidas, sendo este resultante de fatores que se inter-relacionam como problemas sociais, ambientais, intercorrências gestacionais e altos índices de cesarianas antes da maturidade fetal (VOGEL et al., 2018, BLENCOWE et al.2013). Os fatores de risco para o nascimento prematuro descritos na tabela abaixo ocorrem em nível mundial, e são similares àqueles descritos em estudos feitos no Brasil (GOLDENBERG et al., 2008; LEAL et al. 2016; TEIXEIRA et al., 2018).

No **quadro 1** - Fatores de riscos para o parto prematuro.

Ginecológicos <ul style="list-style-type: none"> • Alterações anatômicas do colo uterino • História de amputação do colo uterino • Malformações uterinas • Miomatose
Epidemiológicos <ul style="list-style-type: none"> • Baixo nível socioeconômico • Ambientais • Nutrição inadequada • Idade materna • Estresse físico e psicológico • Fumo • Drogas
Obstétricos <ul style="list-style-type: none"> • Alterações hormonais • Incompetência cervical • Sangramentos de primeiro e segundo trimestres • Placenta prévia • Descolamento prematuro de placenta • Polidrâmnio ou oligodrâmnio • Gemelidade • Amniorrexe prematura • Doença hipertensiva específica da gestação • Malformações fetais • Restrição do crescimento fetal • Partos prematuros anteriores
Genéticos <ul style="list-style-type: none"> • Fetal ou/e materna.
Iatrogênicos <ul style="list-style-type: none"> • Desconhecidos.

Fonte: adaptada de Bittar, Pereira e Liao. (2008).

Em um mesmo país, pode haver variações de taxas de prematuridade nas diferentes regiões (SILVEIRA et al., 2008). O estudo de Leal et al. (2016), no qual foi utilizada uma amostra de base nacional com 23.940 mulheres e 24.061 nascidos vivos, apontou uma taxa de 11,5 % de nascimentos prematuros no Brasil, com diferentes variações nas cinco regiões do país. Dos 2771 partos prematuros, 1.062 aconteceram na região sudeste, correspondendo a 38,3 % do total de bebês nascidos prematuros.

Tabela 3 -Nascimento prematuros por região do Brasil

	Norte	Nordeste	Sudeste	Sul	Centro Oeste	Total
N	300	901	1,062	336	172	2771
%	10.9	32.5	38,3	12,1	6,2	100
Taxa	13	12,9	10,4	11,2	11	11,5
95% IC	(8.5 a 19,5)	(10.1-16.4)	(8-9-12.1)	(9.6-12.9)	(8.5-14.0)	(10.3-12.9)

Fonte: adaptada de Leal et al. (2016).

Segundo Leal et al. (2016), 60,7% dos partos prematuros são espontâneos ou com ruptura prematura de membrana. Já 39,3% são iniciados por intervenção médica, com mais de 90% dos casos sendo cesariana pré-parto, o qual aparece relacionado à idade materna de 35 anos ou mais, com maiores níveis de escolaridade e renda e ao parto privado. Fatores sociodemográficos associados à prematuridade espontânea foram a gravidez na adolescência, o baixo nível de escolaridade e a inadequação do pré-natal.

O aumento da sobrevivência dos neonatos prematuros deve-se à contribuição dos avanços tecnológicos (BEHRMAN; BUTLER, 2007; SAIGAL; DOYLE, 2008; WHO, 2012). No entanto, de modo paralelo, com a redução das mortes, surgem as consequências ocasionadas pela prematuridade. Como os bebês prematuros possuem órgãos imaturos, eles são biologicamente mais propensos a apresentar problemas de saúde nos primeiros dias de vida, com maiores taxas de problemas respiratórios, apneia, instabilidade térmica etc.

Segundo Saigal e Doyle (2008), os problemas frequentes de saúde e deficiências do desenvolvimento neurológico acarretam um impacto negativo na primeira infância.

A dificuldade escolar e problemas comportamentais também são observados em outros períodos do desenvolvimento. Por fim, os prematuros podem apresentar uma série de complicações a longo prazo ou até complicações vitalícias, além de repercussões econômicas, sociais e emocionais (BLENCOWE et al. 2013; ROGERS; VELTEN, 2011; SAIGAL; DOYLE, 2008).

Quadro 2 - Consequências a longo prazo nos nascidos prematuros.

Resultados a longo prazo do parto prematuros		Exemplos
Efeitos físicos específicos	Deficiência visual	<ul style="list-style-type: none"> • Cegueira ou alta miopia após retinopatia da prematuridade • Hipermetropia e miopia aumentadas
	Deficiência auditiva	<ul style="list-style-type: none"> • Transtorno do processamento auditivo
	Doença pulmonar crônica da prematuridade	<ul style="list-style-type: none"> • Da tolerância ao exercício reduzida à necessidade de oxigênio domiciliar • Aumento das internações hospitalares na infância.
	Doença cardiovascular prolongada e doença não transmissível	<ul style="list-style-type: none"> • Aumento da pressão arterial • Função pulmonar reduzida • Aumento das taxas de asma • Falha de crescimento na infância, acelerado ganho de peso na adolescência
Resultados a longo prazo do parto prematuros		Exemplos
Efeitos no neurodesenvolvimento /comportamentais	Suave Distúrbios do executivo Funcionamento	<ul style="list-style-type: none"> • Dificuldades específicas de aprendizagem, dislexia, redução do desempenho acadêmico
	Moderado a grave Atraso no desenvolvimento global	<ul style="list-style-type: none"> • Comprometimento cognitivo moderado / grave • Comprometimento motor • Paralisia cerebral
	Sequelas psiquiátricas/ comportamentais	<ul style="list-style-type: none"> • Transtorno do déficit de atenção e hiperatividade • Aumento da ansiedade e depressão
Efeitos familiares, econômicos e sociais	Impacto na família Impacto no serviço de saúde Intergeracional	<ul style="list-style-type: none"> • Psicossocial, emocional e econômico • Custo dos cuidados contínuos • Risco de parto prematuro na prole

Fonte: Adaptado de Blencowe et al. (2013).

Estudos brasileiros sobre a trajetória dos nascidos prematuramente como o de Fernandes et al.(2012), avaliaram 58 crianças com IG inferior a 37 semanas e peso inferior a 1500 gramas. Esses estudiosos verificaram que houve alterações no comportamento

adaptativo em 22 crianças (37,9%), enquanto que quatro delas (6,9%) apresentaram alterações cognitivas. 17 crianças (29,3%) apresentaram distúrbio de linguagem, 16 crianças (27, 6%) apresentaram distúrbios socioemocionais, 4 crianças (6,9%) apresentaram distúrbio motor.

Estudo de Maggi et al. (2014), comparou o desempenho motor, cognitivo e funcional de dois grupos de crianças, um grupo com IG ≥ 37 semanas e peso ≥ 2500 gramas e outro grupo com IG ≤ 34 semanas e peso ao nascimento ≤ 1500 gramas. Em todas as avaliações, as crianças prematuras apresentaram desempenho inferior em relação aos seus pares nascidos a termo. Já Linhares et al.(2000), avaliaram crianças nascidas com peso 1500 gramas e 34 semanas ≤ 34 semanas e estas apresentaram maior agitação, inquietude em comparação a crianças a termo.

Alterações bucais também são relatadas na literatura como consequência do nascimento prematuro e baixo peso. Há, por exemplo, maior incidência de hipoplasia, hipocalcemia do esmalte e cáries, erupção tardia da dentição decídua e mal formação do palato (DINIZ et al. 2011; BARBOSA et al. 2008; SEOW,1997). De acordo com a intensidade e extensão dessas lesões, podem surgir na superfície do esmalte estes sulcos discretos até depressões profundas (SABEL, 2012), como demonstra a figura 1.

Figura 1- Dente incisivo inferior com hipoplasia de esmalte na porção incisal.

Fonte: reprodução da imagem de SABEL (2012).

Mudanças na cronologia da erupção dos dentes decíduos foram demonstradas no trabalho de Viscardi, Romberg e Abrams (1994), onde a média da erupção dos dentes em crianças prematuras foi de 39 semanas após o nascimento, já em crianças nascidas a termo o irrompimento ocorreu em média na 30ª semana após o nascimento. De maneira semelhante, crianças com muito baixo peso ao nascer apresentam um número pequeno de dentes decíduos erupcionados entre 6 e 11 meses de idade e 12 a 17 meses, quando comparados às crianças nascidas com baixo peso ou peso normal no nascimento (SEOW et al. 1988).

Vello et al.(2010), analisaram os dentes decíduos de 102 crianças, sendo estes de crianças nascidas a termo (n=52) e com peso >2500g e prematuras (N=50) nascidas com peso <2500g. O estudo demonstrou uma correlação da prevalência de 56% de hipoplasia de esmalte dentário de crianças com baixo peso contra 16% das crianças nascidas a termo e peso considerado normal. Ainda no mesmo estudo, os autores sustentaram que o peso ao nascer e idade gestacional possuem influência significativa no aparecimento de defeitos no esmalte de dentes decíduos.

1.2. ESMALTE

O esmalte dentário consiste no tecido mais duro e resistente do corpo humano (NANCI, 2008). O esmalte recobre a coroa dental e fica exposto à cavidade bucal, protegendo os tecidos mais profundos do dente. Devido a seu alto teor de mineralização e consequente conservação, ele pode ser útil na obtenção de importantes informações no ramo das ciências forenses, bem como antropológicas, paleontológicas, e até mesmo sociais, por meio do estudo químico de seus componentes (PORTO et al. 2011). Quando comparado a outros tecidos mineralizados que contém entre 65% e 70% de material inorgânico, o esmalte se destaca por possuir 85% de seu volume e 95% de seu peso compostos de cristais de hidroxiapatita, dispostos de forma altamente organizada. Compõem também o esmalte 4% de água e 1% de proteínas (NANCI, 1998). Parece que três fatores principais respondem pela altíssima dureza do esmalte, sendo eles: o alto grau de mineralização, a organização dos cristais em bastões, com cristais em diferentes orientações e, finalmente, um entrelaçamento entre feixes de bastões, que formam as chamadas bandas de Hunter-Schreger, também muito características do esmalte espesso de mamíferos (GERLACH; LINE, 2005). O esmalte apresenta altíssima dureza, aproximadamente 340 de dureza Knoop, que é a maior dos tecidos de mamíferos (DONASSOLLO et al.2007), sendo por exemplo, comparável a estruturas de rochas.

De acordo Nanci (1998), a parte orgânica do esmalte se constitui majoritariamente por proteínas, sendo 90% destas as amelogeninas (que são um grupo heterogêneo de proteínas) e os 10% restantes são constituídos por outras proteínas do esmalte, como ameloblastina, enamelina e proteases específicas do esmalte, como a MMP-20 e KLK-4. Todas as proteínas do esmalte auxiliam no processo de formação do esmalte, sendo consideradas essenciais para que o esmalte atinja o seu altíssimo grau de mineralização.

Já a parte mineral do esmalte é formada por cristais de hidroxiapatita, que se iniciam na junção amelodentinária (JAD) e, teoricamente, acabam na superfície da coroa. Esses

cristais têm uma orientação bastante específica, que é decorrência do processo de secreção das proteínas, uma vez que estas organizam a matriz mineral. A presença de cristais com orientações distintas gera uma imagem, quando a luz passa por um corte de esmalte preparado por desgaste, que permite identificar bastões de esmalte, que são muito longos e finos, indo da JAD até a superfície do esmalte. A diferente orientação dos cristais, que gera a imagem de prismas ou bastões de esmalte, pode ser vista num esquema clássico para representar o esmalte, que está reproduzido na figura 2.

Figura 2 - Ultra estrutura do esmalte.

Fonte: reprodução da figura 11.6 (NANCI, 1998, p. 209).

A. Desenho com esquema ilustrativo da ultra estrutura do esmalte, mostrando os bastões de esmalte e a posição dos cristais de hidroxiapatita nas diferentes regiões dos bastões em um bloco cúbico com 3 faces A amelogenese é o processo de formação do esmalte e possui três estágios: secreção, transição e maturação (Figura 3).

Figura 3 - Amelogenese: o processo de formação do esmalte e seus três estágios

Fonte: reprodução da figura (10. 23), (NANCI, 1998, p.203).

Nas regiões de cúspides do germe dentário, inicia-se a formação do esmalte na décima semana de gestação (HURNANEN et al. 2017).

Os ameloblastos são as células que secretam o esmalte. No estágio de secreção, após sofrerem diferenciação, os ameloblastos iniciam a secreção da matriz orgânica do esmalte sobre a dentina, formando assim a junção amelodentinária (JAD). Assim que a primeira camada de esmalte é secretada, surge um cone apical em cada um dos ameloblastos (como pode ser visto no ameloblasto 4 da Figura 3).

Esse cone apical se chama processo de Tomes e sua presença é determinante para a orientação dos cristais de esmalte, uma vez que é por este processo que os ameloblastos secretam as proteínas, e as proteínas justamente são agregados hidrofóbicos que protegem os cristais de uma maciça deposição lateral (GERLACH; LINE, 2005). Em outras palavras, os cristais inicialmente presentes durante a fase secretória não crescem lateralmente pois estão recobertos por proteínas. Desta forma, durante a fase secretória, já há 30% de mineral no esmalte, mas esse mineral está na forma de cristais muito finos e longos, mergulhados em matriz com muita água e proteínas. As proteínas estruturais do esmalte, principalmente amelogeninas, passam a sofrer proteólise pela MMP-20 já durante a fase secretória, cedendo espaço para o crescimento em comprimento e espessura dos cristais (SIMMER; BARTLETT, 1999).

Depois que toda a espessura do esmalte de um determinado dente foi secretada, os ameloblastos não mais apresentam o processo de Tomes, secretando uma fina camada de esmalte com cristais sem a disposição do esmalte prismático (ou seja, com cristais que estão todos paralelos entre si, disposição típica do esmalte aprismático). A seguir os ameloblastos cessam a secreção e inicia-se a fase de transição, quando 50% dos ameloblastos morrem por apoptose (SMITH, 2004). A fase de transição é assim chamada porque está entre as fases secretória e de maturação. Importante notar que, em esmaltes espessos, a fase secretória é bem mais curta do que a fase de maturação, que é a fase em que a matriz, inicialmente calcificada em 30%, passa a adquirir todo o seu volume mineral. Em incisivos centrais superiores permanentes em humanos, por exemplo, a fase secretória leva em torno de um ano, enquanto a fase de maturação chega a quatro anos (SMITH, 2006).

Durante as fases finais da amelogênese (transição e maturação), a enzima KLK-4 continua com sua ação proteolítica, que é mais inespecífica do que a da MMP-20. Sob a ação da KLK-4, as proteínas ainda presentes no esmalte da fase de maturação diminuem muito de tamanho e deixam o esmalte. Desta forma, num processo bem longo e muito organizado, o esmalte atinge a porcentagem de matéria orgânica e inorgânica ideal, de 1% e 96%, em peso, respectivamente, o que ocorre quando se dá o crescimento máximo dos cristais de hidroxiapatita em largura e espessura (LU et al. 2008). No final da amelogênese, há um declínio da quantidade e funcionalidade dos ameloblastos. Quando ocorre o irrompimento do dente, o esmalte está completamente formado e não existe mais ameloblasto (GERLACH; LINE, 2005).

Esta matriz orgânica do esmalte é substituída, quase completamente, por uma matriz inorgânica altamente organizada, que se caracteriza por possuir feixes ou unidades estruturais fundamentais vistas quando se olha o esmalte com auxílio de microscópios. Estes feixes ou unidades básicas são muito longos e finos e são conhecidos como bastões de esmalte (anteriormente chamados de prismas de esmalte). Estes feixes ou unidades básicas não estão presentes em todas as espécies animais, mas são muito evidentes em mamíferos, que têm o esmalte mais espesso (NANCI, 1998). Os bastões de esmalte são vistos no esmalte "prismático" dos mamíferos pelo fato de haver uma orientação distinta dos cristais dispostos no centro que são orientados no mesmo sentido do longo eixo dos prismas, e na periferia dos prismas os cristais são encontrados dispostos em ângulo de 45°.

Além da formação dos prismas, outras marcações também são encontradas em secções histológicas do esmalte como, por exemplo, linha neonatal, laminações, bandas de Hunter Schreger e estrias de Retzius (FITZGERALD, 1998). Estas últimas, em especial, têm sua formação relacionada a um ritmo biológico, apresentado pelos ameloblastos secretores, podendo estar associados a fatores intrínsecos e extrínsecos ao organismo. Assim como mudanças de ritmo de secreção de esmalte, a sua composição química e o seu grau de desenvolvimento são somados, a fim de estabelecer recursos incrementais presentes no esmalte como acontece com as estrias de Retzius (Figura 4). Essas aparecem como uma proeminência longa em formato de anéis concêntricos, com orientação oblíqua aos bastões de esmalte, devido à sua provável origem na borda lateral do ameloblasto (SMITH, 2006).

Figura 4 - Corte longitudinal por desgaste que mostra a disposição das estrias de Retzius

Fonte: reprodução da figura (11.11) NINCI, 1998, p. 203).

O ritmo circadiano dos ameloblastos interfere diretamente na periodicidade de secreção e mineralização do esmalte dentário, por meio de variações nos níveis de carbonato e de cálcio, assim como alterações na disponibilidade de gás carbônico, sendo então, manifestados morfológicamente através das estrias transversais (SMITH, 2006).

A descoberta de ritmos biológicos, relacionados à formação do esmalte, da dentina e do cemento (tecidos duros e com alta resistência a exposição de intempéries ao longo dos anos), deu margem a um amplo campo de estudos antropológicos, que permitiram análises cronológicas, reconstruindo ambientes do passado e permitindo, assim, a criação de documentos que registra mudanças ocorridas em milhões de anos (KUREK et al 2015; SMITH, 2004).

1.3. LINHA NEONATAL

A linha neonatal (LNN) é encontrada nos dentes decíduos e em 10% dos primeiros molares permanentes, se apresentando na forma de um anel (em corte transversal por desgaste), tanto no esmalte quanto na dentina, sendo assim classificada como uma linha proeminente, acentuada em ambos os tecidos (SCHOUR, 1936). Em cortes longitudinais por desgaste, a linha neonatal aparece no sentido do longo eixo do dente, entre a junção amelodentinária (JAD) e a superfície do esmalte, como pode ser visto na Figura 5.

Figura 5 - Corte histológico de dente observado em microscópio de luz branca com aumento de 5X

Seta amarela: linha neonatal. A. Esmalte pré-natal. B.Esmalte pós-natal. C.Dentina.

A LNN surge devido a distúrbios dos ameloblastos na fase secretória, refletindo de forma direta o estresse fisiológico experimentado pela criança no momento do nascimento, na passagem da vida intrauterina para a extrauterina (BEHIE; MISZKIEWICZ, 2019). Esse estresse se relaciona intimamente a alterações externas, como as nutricionais, envolvendo tanto qualidade, disponibilidade e forma da captação de alimentos e de oxigênio atmosférico. Também se pode levar em conta alterações internas, como disponibilidade de íons cálcio e de vitamina D3 (calcitrol), importantes e indispensáveis para o processo mineralizante do esmalte (KUREK et al. 2015). Outros fatores como desnutrição, carência de vitamina A e uso de medicamentos durante a gravidez como, por exemplo, tetraciclina, antimaláricos ou antiepiléticos, também podem afetar o processo de amelogênese, promovendo variações da linha neonatal (JACOBSEN et al. 2013). Segundo Skinner (1992), a linha neonatal se apresenta como a primeira camada hipomineralizada formada após o nascimento,

assemelhando-se a uma estria de Retzius acentuada. Já Smith (2004) acredita que essa linha é mais semelhante ao que chama de linhas patológicas, já que as linhas de Retzius aparecem devido a ciclos de secreção de esmalte.

Estudos iniciais sobre a linha neonatal sugerem que o aparecimento da linha esteja relacionado com traumas fisiológicos durante o parto (SCHOUR, 1936). Mais tarde, Eli, Sarna e Talmi (1989) sugeriram que a presença da linha seja devida a alguma dificuldade no processo de nascimento e ambientes neonatais deficientes, por exemplo, em nutrientes e/ou oxigênio. Nóren (1984) apontou como causa do surgimento da linha uma redução de cálcio plasmático no período perinatal, acentuando-se esta redução de cálcio plasmático ainda mais em casos de mães que apresentavam diabetes durante a gravidez. Esses fatos, de acordo com Norén (1984), mostraram que o estado de saúde da gestante é uma forte influência para o aparecimento e variações da linha neonatal. Já conforme discutido nos trabalhos de Behie e Miskiewicz (2019), Hurnanen et al. (2017) e Zanolli et al. (2011), a espessura das linhas neonatais também está relacionada a outros fatores, como hábitos maternos, duração da gravidez e dinâmica do nascimento (por exemplo, tipo de parto, uso de fórceps, entre outros).

Por conseguinte, essa linha apresenta-se como um marcador “*in vivo*” do nascimento de uma criança e sua sobrevivência no período perinatal e, a partir dela, se pode analisar o desenvolvimento do indivíduo pré e pós-natal.

Frequentemente usada para fins forenses, essa linha colabora na determinação da idade de uma criança no momento de sua morte, podendo diferenciar uma criança natimorta de uma vítima de infanticídio, devido a observação do esmalte formado acima dessa marcação (JANARDHANAN et al. 2011; KUREK et al. 2015).

Segundo Smith e Avisha (2005), é necessário que o recém-nascido sobreviva entre 7 a 10 dias para haver a formação do esmalte pós-natal e, por consequência, a observação da linha com uma faixa demarcante do esmalte pré e pós-natal. Outro aspecto passível de análise da linha neonatal é a sua espessura, a qual pode apresentar informações sobre as condições de nascimento do indivíduo, e também possibilitar uma avaliação ambiental pré e pós-natal dele, fundamental em pesquisas bio arqueológicas e antropológicas (KUREK et al. 2015).

Já está bem estabelecido que a linha neonatal surge como consequência de estresses celulares, conforme discutiram os vários autores citados nos parágrafos anteriores. Segundo Zanolli et al. (2011), ainda não estão claramente definidas as alterações químicas do esmalte da região da linha neonatal, em relação ao restante do esmalte.

Um recente estudo de Dantas (2018) encontrou as primeiras evidências volumétricas da linha neonatal, a quantidade mineral foi estimada em (85,88%), a orgânica (6,44%) e a de água (7,68%). As regiões circunjacentes do esmalte (pré e pós-natal) apresentaram volume mineral diminuído, à medida que se aproxima da linha neonatal. Essas regiões apresentam uma maior quantidade de matéria orgânica, comparada ao restante do esmalte.

Quando o bebê nasce, muitos de seus dentes ainda estão em formação e o esmalte dentário está parcialmente mineralizado (ANTOINE; HILLSON; DEAN, 2009). O esmalte do dente decíduo não apresenta praticamente nenhuma mudança depois do seu aparecimento na boca, diferente de outros órgãos e tecidos do corpo (GERLACH; LINE, 2005; SABEL, 2012). Diante do discutido nos parágrafos anteriores, a investigação da presença ou ausência da linha neonatal em dentes de leite de crianças de idade gestacional diferentes e seu peso ao nascimento pode permitir a reconstrução da história do desenvolvimento do indivíduo.

2.0. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi avaliar a presença ou a ausência da linha neonatal em dentes decíduos de crianças com idade gestacional e peso conhecido, por meio de microscopia óptica de luz branca e luz polarizada.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a presença ou a ausência da linha neonatal em dentes decíduos de crianças com idade gestacional > 37 semanas (nascimento a termo).
- Analisar a presença ou a ausência da linha neonatal em dentes decíduos de crianças com idade gestacional < 36 semanas e 6 dias (258 dias) (nascimento prematuro).
- Analisar se há associação entre a presença ou a ausência da linha neonatal e a variável peso ao nascer, nos grupos de crianças nascidas a termo e prematuras.

3.0. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. PROCEDIMENTO DE COLETA

Os dentes decíduos usados neste trabalho foram provenientes da campanha “Doe seu dentinho”, realizada no município de Ribeirão Preto, durante o ano de 2018. Esta campanha foi divulgada nas redes sociais, rádio e TV, solicitando que dentes decíduos fossem entregues

às escolas. Estas foram visitadas, mediante agendamento prévio, para esclarecimento da pesquisa e entrega de material de coleta e da campanha, folders e cartaz (anexo). Cada criança recebeu um eppendorf etiquetado para identificação (nome, data de nascimento, nome da mãe e escola), onde foi depositado o(s) dentes(s) doado(s). Também foi enviado ao responsável pela criança um termo de doação de dentes, um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), um folder e um formulário para preenchimento com informações básicas da criança doadora e da sua genitora. Quanto à criança doadora, as informações solicitadas foram: idade gestacional, tipo de parto, Apgar, peso ao nascer, se foi internada logo ao nascer, foi hospitalizada no primeiro ano e por fim, se a criança apresenta doença crônica. As informações solicitadas para a genitora foram: realização do pré-natal, realização de cirurgia durante a gravidez, se apresentou doenças infecciosas ou crônicas durante a gravidez (Anexos).

Todos os procedimentos adotados neste estudo respeitaram as normas e diretrizes estabelecidas para pesquisas que envolvem seres humanos (Resolução número 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde). O estudo foi submetido ao Comitê de Ética da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP-USP), sendo aprovado sob o número CAAE 81119917.80000.5419. Recebemos autorização da Secretaria Estadual e Municipal de Ensino para a realização desta pesquisa. Todos os documentos estão anexos.

3.2. GRUPOS

Ao fim da campanha, foram coletados 524 dentes de leite de crianças nascidas nos anos de 2010 e 2011 (Figura 6). Todos os dentes foram catalogados e em seguida fotografados um a um (Figura 7). Os dentes desta coleção colaboraram para este e outros trabalhos do laboratório.

Para fotografia, primeiro os dentes foram colados com fita face transparente 3m Scotch sob uma placa de vidro transparente (10mm) medindo 60cm x 45cm, posteriormente foram fotografados com câmera Canon EOS Rebel T6i e lente acoplada Canon MP-E 65mm f/2.8 1-5x Macro Photo Lens.

Figura 6 - Parte da coleção de 524 dentes decíduos de escolares nascidos nos anos 2010 e 2011 na cidade de Ribeirão Preto

Fonte: arquivo pessoal

Figura 7 - Doador: PCS, amostra 53D, Canino

Fonte:arquivo pessoal.

A partir do formulário respondido pelo responsável das crianças doadoras, foi possível identificar na amostra a idade gestacional (IG) de 22 crianças doadoras. Estas crianças doaram 36 dentes decíduos esfoliados.

A IG do doador foi usada como critério para a formação de dois grupos: o primeiro contendo 11 dentes de crianças nascidas a termo e o segundo grupo também composto por 11 dentes de crianças prematuras. Assim, das 22 crianças doadoras, foram selecionados 19 incisivos e 3 caninos, sendo todos decíduos.

Tabela 4 - Características do Grupo de crianças nascidas a Termo, suas respectivas amostras em microscopia de Luz Polarizada e Luz Branca

Doadores Nascidos a Termo	Amostra	Tipo de dente	IG semanas	IG dias	Peso ao nascer	Tipo de parto	LNN Luz polarizada	LNN Luz branca
NT1	43 A	ICS	39	273	3695	Cesárea	Presente	Ausente
NT2	46A	ICSD	38	266	3800	Cesárea	Presente	Presente
NT3	48A	ICSE	39	276	3000	Cesárea	Presente	Presente
NT4	49A	IS	40	280	3950	Cesárea	Presente	Presente
NT5	51A	ILSD	40	280	2800	Normal	Presente	Presente
NT6	53D	C	39	273	3280	Normal	Presente	Presente
NT7	54D	ILSD	39	273	3025	Cesárea	Presente	Presente
NT8	55A	ILS	40	280	3000	Cesárea	Presente	Presente
NT9	103A	ICS	38	266	3715	Cesárea	Ausente	Presente
NT10	105F	ISL	40	284	3695	Cesárea	Presente	Presente
NT11	107	C	38	269	3400	Cesárea	Presente	Presente

Fonte: elaborada pela autora. Legenda: Nascidas a termo; IL: Incisivo Lateral, IC: Incisivo Central, ICS: Incisivo Central Superior, ILS: Incisivo Lateral Superior, C:Canino, IS: Incisivo Superior; ICSD: Incisivo Central Superior Direito, ILSD: Incisivo Lateral Superior Direito.N.I: Não Informado.

Tabela 5- Características do Grupo de Crianças Nascidas Prematuras, suas respectivas amostras em microscopia de Luz Polarizada e Luz Branca

Doadores Prematuros	Amostra	Tipo de dente	IG semanas	IG dias	Peso ao nascer	Tipo de parto	LNN luz polarizada	LNN Luz Branca
NP1	10C	IF	35	245	2330	Cesária	Presente	Presente
NP2	11A	IF	34	245	1615	Cesária	Presente	Presente
NP3	30A	ISC	36	245	1800	N.I	Presente	Presente
NP4	52	IC	28	196	1490	N.I	Presente	Presente
NP5	95A	ICSE	36	253	2790	N.I	Presente	Presente
NP6	126	IFCE	36	253	2240	N.I	Presente	Presente
NP7	140	ISC	32	230	2175	N.I	Presente	Presente
NP8	144A	ILS	31	222	1475	N.I	Presente	Ausente
NP9	149A	ILS	34	220	1285	N.I	Presente	Presente

término

NP10	152C	C	30	215	1250	N.I	Ausente	Presente
NP11	172	ILSD	35	251	1855	N.I	Presente	Presente

Fonte: elaborado pela autora. Legenda: NP:Nascidas Prematuras, IL: Incisivo Lateral, IC: Incisivo Central, ICS:Incisivo central superior ILS: incisivo lateral superior, C:Canino, IS: Incisivo Superior, IF: Incisivo inferior; IC:incisivo Central , Incisivo Inferior Central Esquerdo. NI :Não informado.

3.3. PREPARO DAS AMOSTRAS

Os dentes foram lavados em água corrente e secos, em seguida foram colocados em matrizes de silicone e incluídos em resina acrílica autopolimerizável transparente, formando pequenos blocos. Os blocos com os dentes foram cortados na cortadeira equipada com disco diamantado com as seguintes especificações: rebolo DTDO, tipo de corte 1A1R liga metálica, de diâmetro 103 X 0,38 X 4 mm, H=12,7mm (Figura 8).

Inicialmente, os blocos foram cortados no sentido longitudinal, na direção vestibulo-lingual do dente. Depois foram feitos outros cortes, para retirada de fatias de uma banda do bloco. Posteriormente, os cortes foram reduzidos até a espessura aproximada de 80 µm, por desgaste manual com lixas d'água de granulação decrescente (320-2400). A aferição da espessura do corte foi realizada em microscópio óptico (Coleman modelo: N101B), com lente reticulada milimetrada acoplada.

Usando uma gota de água, os cortes foram colocados, verticalmente, junto à borda de uma lâmina de vidro. Desta forma, foi possível medir diretamente a espessura dos cortes. As medidas foram feitas observando-se os espécimes com a objetiva de 5x. Quando era alcançada a espessura desejada, os cortes entravam no último passo de preparo, que é o polimento com disco de feltro, para eliminação de ranhuras. Em seguida, os cortes foram colocados dentro de eppendorfs com água milli-Q e lavados em ultrassom. Este procedimento se fez em 3 ciclos de 15 minutos com troca da água.

3.4. ANÁLISE DOS CORTES

As amostras foram fotografadas e analisadas em microscópio de luz polarizada em campo claro (Axion MacroM ZEISS) e software de imagem Axiovision Release 4.8.2.4 SP3 e fotografadas com câmera AxionCamMRC com objetiva de aumento 2,5x e 20x em diferentes campos e posições.

Figura 8 -.Matrizes de silicone para inclusão dos dentes, cortadeira de dentes e microscópio

Fonte: elaborada pela autora

3.5. PARA ANÁLISE DOS RESULTADOS

Inicialmente, os dados foram descritos através de frequência absoluta e percentuais (variáveis qualitativas) e por meio de medida como média, mediana, desvio e erro padrão, mínimo e máximo (medidas quantitativas). Para verificar a associação entre as variáveis (peso e idade gestacional) de interesse e da linha neonatal, foi utilizado o teste exato de Fisher.

Para estimar a Razão de Prevalência (RP), foi utilizado o modelo de regressão log-binomial simples (WACHOLDER, 1986), dado que a resposta era binária (Linha Neonatal=presente ou ausente). Para todas as comparações adotou-se um nível de significância de 5%. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do software SAS 9.2.

4.0. RESULTADOS

Figura 9- Média da IG dos grupos estudados

Fonte: dados da pesquisa

Nos dois grupos investigados, no grupo de crianças nascidas a termo (n=11), a média da IG em semanas foi $39,09 \pm 0,25$ semanas. No grupo de crianças nascidas prematuras (n=11), a IG em semanas foi de $33,36 \pm 0,82$, conforme observado na Figura 9.

Figura 10- Média de peso ao nascer dos grupos estudados

Fonte: dados da pesquisa

O peso ao nascer do grupo de crianças nascidas a termo foi $3396,36g \pm 119,49$ gramas. Já no grupo de nascidas prematuras, o peso ao nascer foi $1845,91 g \pm 147,05g$, conforme apresentado na Figura 10.

Tabela 6 - Exibe os tipos de dentes, a frequência e percentual usados para o estudo

Tipo de dente	Frequência	Percentual (%)
C	3	13,6
IC	1	4,6
ICS	2	9,1
ICSD	1	4,6
ICSE	2	9,1
IF	2	9,1
IFCE	1	4,6
ILS	3	13,6
ILSD	3	13,6
IS	1	4,6

ISC	2	9,1
ISLD	1	4,6

Fonte: dados da pesquisa.. Legenda: IL: Incisivo lateral, IC: Incisivo Central, ICS: Incisivo Central Superior, ILS: Incisivo Lateral Superior, C:Canino, IS: Incisivo Superior .Os dentes desse estudo são predominantemente do tipo incisivo.IF: Incisivo Inferior, ICS: Incisivo Central Superior ICSE: Incisivo Central Superior Esquerdo; IFCE: Incisivo Inferior Central Esquerdo; ILSD: Incisivo Lateral Superior Direito.

Tabela 7- Exibe os resultados de frequência e percentual do peso nas amostras estudadas

Variável	Frequência	Percentual (%)
Peso ao Nascer		
Menos de 1500g	4	18,2
Menos de 2500g	6	27,3
Acima de 2500g	12	54,6

Fonte: dados da pesquisa.

Das 22 amostras 12 doadores demonstraram peso ao nascer > que 2500g, conforme observado na Tabela 7

Tabela 8- Exibe o modo como nasceram os doadores de dentes e como estão distribuídos

Tipo de parto	Frequência	Percentual (%)
Cesária	11	50,0
N.I	9	40,9
Normal	2	9,1

Fonte:dados da pesquisa .Legenda N.I: Não informado.

De acordo com a Tabela 8, 11 dentes entre as amostras estudadas foram de doadores nascidos de parto do tipo cesárea.

Tabela 9 - Descrição dos dados dos dois grupos estudados

Variáveis	n	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
I.G Semanas	22	36,23	3,53	37	28	40
Peso ao nascer	22	2621, 14	904,25	279,5	1250	3950

Fonte:dados da pesquisa.

A idade gestacional dos grupos estudados foi de 28-40 semanas. O peso ao nascer variou entre 1295-3950g (Tabela 9)

Tabela 10- Medidas quantitativas das variáveis IG (em semanas) e PN (gramas) dos grupos de crianças nascidas a termo e prematuras quanto a presença e ausência da LNN

Variáveis	Linha Neonatal (Luz Polarizada)	n	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
I.G. Semanas	Ausente	2	34	5,66	34	30	38
	Presente	20	36,45	3,39	37	28	40
Peso ao nascer	Ausente	2	2482,5	1743,02	2482,5	1250	3715
	Presente	20	2635	861,17	2795	1285	3950

Fonte: dados da pesquisa.

Em (n=2) amostras em luz polarizada onde não foram detectadas a presença da LNN, a média da IG foi (34±5,66) semanas e do PN foi (2482,5±1743,02), conforme apresentado na Tabela 10.

Tabela 11- Descrição das medidas quantitativas dos grupos de crianças nascidas a termo e prematuras quanto à presença e à ausência da LNN, das variáveis IG (semanas) e PN (gramas)

Variáveis	Linha Neonatal (Luz Branca)	n	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
I.G Semanas	Ausente	2	35	5,66	35	31	39
	Presente	20	36,35	3,45	37	28	40
Peso ao nascer	Ausente	2	2585	1569,78	2585	1475	3695
	Presente	20	2624,75	879,71	2795	1250	3950

Fonte: dados da pesquisa

Entre as amostras (n=2) em que a LNN não esteve presente a IG foi (35 ±5,66), e PN foi (2585± 1569,78) (Tabela 11).

Tabela 12- A frequência e o percentual obtidos da análise dos cortes em Luz Polarizada e Luz Branca quanto a ausência ou presença da LNN

Linha Neonatal(Luz Polarizada)	Frequência	Percentual (%)
Ausente	2	9,1
Presente	20	90,9
Linha Neonatal (Luz Branca)		
Ausente	2	9,1
Presente	20	90,9

Fonte: dados da pesquisa

A LNN foi detectada em 20 das 22 amostras, alcançando o percentual de 90,9% dos dentes estudados. Os resultados se mostraram iguais nas duas técnicas usadas (Tabela 12)

Por se tratar de um número amostral pequeno, usou-se o Teste Exato de Fisher para analisar a associação existente entre as variáveis do PN e a IG com a presença e a ausência da LNN (Tabela 13).

Tabela 13- Demonstra números amostral e percentuais da ausência e presença da LNN e o valores de p.

Associações - Teste exato de Fisher				
Variáveis		LNN X Polarizada		Valor <i>p</i>
		Ausente (n=2)	Presente (n=20)	
Peso ao nascer	Menos de 1500g	1 (25%)	3 (75%)	0,40
	Menos de 2500g	0 (0%)	6 (100%)	
	Acima de 2500g	1 (8,33%)	11 (91,67%)	
Grupo	Nascidos Prematuros	1 (9,09%)	10 (90,91%)	0,99
	Nascidos a Termo	1 (9,09%)	10 (90,91%)	

Fonte: dados obtidos da pesquisa.

Diferentes valores do PN foram testados e demonstraram que em n=11 os doadores apresentaram peso superior a 2500g e a LNN estava presente, porém não teve valor estatístico significativo quando relacionadas as variáveis PN e presença/ausência da linha neonatal sendo o valor de $p=0,40$. A ausência da LNN obteve o mesmo percentual (9,09%) nos dois grupos (crianças nascidas a termo e nascidas prematuras).

Tabela 14- Exibe os percentuais, número amostral da ausência e presença da LNN e o valores de p.

Variáveis		Linha Neonatal Luz Branca		Valor <i>p</i>
		Ausente (n=2)	Presente (n=20)	
Peso ao nascer	Menos de 1500g	1 (25%)	3 (75%)	0,40
	Menos de 2500g	0 (0%)	6 (100%)	
	Acima de 2500g	1 (8,33%)	11 (91,67%)	
Grupo	Nascidos Prematuros	1 (9,09%)	10 (90,91%)	0,99
	Nascidos Termo	1 (9,09%)	10 (90,91%)	

Fonte: dados da pesquisa.

A presença e ausência da LNN neonatal foi analisada em diferentes valores de peso ao nascimento e não apresentou valor estatístico significativo ($p=0,40$). Quando analisadas a presença e a ausência da LNN nos dois grupos, o valor de p também não tem valor estatístico significativo ($= 0,99$) (Tabela 14).

Nas duas técnicas, luz branca e luz polarizada, foi possível observar que não houve associação de peso e idade gestacional com a presença ou a ausência da LNN. Entre os nascidos prematuros, o peso não apresenta associação com a LNN. No grupo de crianças nascidas a termo, não foi possível testar a associação, pois não foi encontrado variação de peso dentro do grupo.

Tabela 15- Exibe os percentuais, número amostral da ausência e presença da LNN e o valores de p .

Associações - Teste Exato de Fisher				
Variáveis		LNN X Polarizada		Valor p
		Ausente (n=2)	Presente (n=20)	
I.Gestacional	Muito prematuro	1 (33,3%)	2 (66,7%)	0,38
	Nascidos a termo	1 (9,1%)	10 (90,9%)	
	Prematuro moderado a tardio	0 (0%)	8 (100%)	
Variáveis		LNN X Luz Branca		Valor p
		Ausente (n=2)	Presente (n=20)	
I.Gestacional	Muito prematuro	1 (33,3%)	2 (66,7%)	0,38
	Nascidos a termo	1 (9,1%)	10 (90,9%)	
	Prematuro moderado a tardio	0 (0%)	8 (100%)	

Fonte: dados da pesquisa.

Analisou-se associação entre a idade gestacional e a presença e ausência da LNN e esta foi detectada em $n=8$ (100%) com IG 32 a 36 semanas e 6 dias. Já os nascidos muito prematuros $n=3$ a LNN foi observada em $n=2$ (66,7%). O valor de $p=0,38$ não tem significância estatística (Tabela 15).

Tabela 16- Estimativa de frequência e Intervalo de Confiança de 95% (IC95%) associação entre PN e LNN

Variáveis		Presente (n=20)		
		n (%)	IC 95%	
Peso Ao Nascer	Menos de 1500g	3 (75%)	32,57	100,00
	Menos de 2500g	6 (100%)	-	-
	Acima de 2500g	11 (91,67%)	76,03	100,00
Grupo	Prematuros	10 (90,91%)	73,92	100,00
	Nascidos a Termo	10 (90,91%)	73,92	100,00

Fonte: dados da pesquisa.

Encontrou-se percentual de 90,91%, quanto à presença da LNN nos dois grupos. Em amostras de seis doadores, cujo peso era menor que 2500g, a LNN foi detectada em 100%. Em três amostras cujo seus doadores tiveram peso ao nascer menor que 1500g sendo o percentual de 75% apresentaram a LNN. Por fim em 11 amostras de doadores nascidos com peso acima de 2500g a LNN teve 91,67% de detecção e intervalo de confiança de 95% (Tabela 16)

Como este estudo foi realizado corte transversal e desfecho binário, coube o uso do teste de Razão de Prevalência (RP), com intuito de mensurar a associação do PN (a cada 500 g,) e a IG (a cada semana) com a presença e ausência da LNN nos grupos. Por fim, foi realizada a comparação entre os grupos, conforme apresentado na Tabela 17.

Tabela 17- Razões de Prevalência (RP) da presença da LNN com as variáveis PN e IG e intervalo de confiança (IC) de 95%

Razões de Prevalência - Modelo de regressão log-binomial				
Linha Neonatal Polarizada='Presente'				
Comparações	RP	IC 95%		Valor P
P N. (a cada aumento de 500g).	1,005	0,951	1,061	0,87
I.G semanas (a cada aumento de semana)	1,021	0,964	1,083	0,48
Grupos (Nascidos a Termo vs Nascidos Prematuros)	1,000	0,768	1,303	0,99
Linha Neonatal Luz Branca= 'Presente'				
Comparações	RP	IC 95%		Valor P

Continuação

Término

Linha Neonatal Luz Branca= 'Presente'				
Comparações	RP	IC 95%		Valor <i>P</i>
IG semanas (a cada aumento de semana)	1,009	0,970	1,048	0,66
Grupo (Nascidos a Termo vs Nascidas Prematuros)	1,000	0,768	1,303	0,99

Fonte: dados da pesquisa.

A cada aumento do peso ao nascimento em 500 g, não ficou demonstrado haver associação com aumento da prevalência da presença da LNN (RP=1,005; IC95%:0,951-1,061) e valor de $p=0,87$. De maneira semelhante, o aumento da IG (semanas) não interferiu na prevalência da LNN, (RP=1,021; IC 95%: 0,964-1,083) e valor de $p=0,48$. Quando realizada a comparação entre crianças nascidas a termos e prematuras e a prevalência da presença da LNN, os grupos demonstraram ser iguais, (RP=1,000; IC 95%:0,768-1,303) e valor de $p=0,99$ (Tabela 16).

Quanto ao resultados da análise em luz branca o aumento de peso em 500g, não demonstrou associação com aumento da prevalência da LNN (RP=1,002; IC95%: 0,94-1,063) ($p=0,96$), nem mesmo aumento da IG com $p=0,66$ interferiu na prevalência da presença da LNN. Feita a comparação entre os grupos na luz branca obteve-se (RP=1,000; IC 95%:0,768-1,303) e o valor de $p=0,99$ iguais para os dois grupos.

5.0. DISCUSSÃO

A idade gestacional insuficiente e o baixo peso ao nascer são, normalmente, características dos neonatos prematuros, que apresentam, a longo prazo, diferenças no desenvolvimento, quando comparados à população normal. Por conseguinte, o interesse em analisar o esmalte de dentes decíduos surgiu de questionamentos quanto à presença ou não da LNN no esmalte de dentes de leite de crianças prematuras e a possibilidade de investigação a partir dessa “cicatriz”, as marcas que resultaram em distúrbio de desenvolvimento no indivíduo prematuro.

No grupo dos prematuros, houve 4 doadores com MBP (< que 1500g), 6 doadores com BPN (> que 1500g e < que 2500g) e 1 doador com peso > 2500g. Entre os que nasceram com MPB, 1(25%) e outro com peso > 2500 g, não foi detectada a LNN, não existindo diferença

estaticamente significativa entre PN e presença/ausência de LNN ($p=0,40$) (Tabela 14). Nos 11 dentes analisados, dos dois grupos de amostras, 10 apresentaram a LNN. A Razão de Prevalência, mesmo quando foi analisado o aumento do peso ao nascimento em 500g, para o intervalo de confiança de 95%, (IC95; 0,951-1061), verificou-se que não houve diferença estaticamente significativa entre PN e LNN ($p=0,87$) (Tabela 17). Dessa maneira, a partir dos resultados obtidos, foi possível inferir que a variável antropométrica peso ao nascer denota não estar associada com a presença ou ausência da LNN no esmalte de dentes de leite. Os resultados obtidos demonstraram que a variável antropométrica “peso ao nascer”, tanto no grupo termo, como no grupo prematuro, parece não ter associação com a presença da LNN no esmalte de dente de decíduos.

Corroborando com os nossos achados, de que a linha neonatal pode ser encontrada em quase totalidade dos dentes decíduos, Norén (1983), objetivando estudar a estrutura do esmalte pré e pós natal de dentes decíduos de crianças com baixo peso ao nascer ($< 2000g$), examinou amostras de 64 dentes em luz polarizada e constatou a presença da LNN em 61 dentes. A partir da presença da LNN, e usando-a como referência, foi possível a identificação da qualidade do esmalte pós natal, sendo esse mais poroso em 5 dentes de criança com baixo tempo ao nascimento. Neste mesmo trabalho, a LNN mostrou-se mais proeminente no esmalte de crianças com menor peso ao nascimento.

Além das relações entre PN e LNN, neste estudo analisou se o esmalte decíduo apresentava ou não LNN nos dois grupos com idades gestacionais diferentes. Os prematuros apresentaram valores em semanas ($33,36 \pm 0,82$) (Figura 9), dos 11 dentes pertencentes a esse grupo amostral, em cada técnica, 10 apresentaram a LNN. No grupo de nascidos a termo, a idade gestacional em semanas foi de ($39,09 \pm 0,25$) (Figura 9), do mesmo modo, nas 11 amostras analisadas, pertencentes a esse grupo, 10 apresentaram a LNN.

Para analisar a associação da IG com a presença da LNN, o Teste Exato de Fisher exibiu valores iguais para os dois grupos estudados, sem significância estatística ($p=0,99$), conforme apresentado nas Tabelas 13 e 14.

Há vários trabalhos que consideraram a relação de parâmetros fisiológicos, como a diminuição de cálcio plasmático (hipocalcemia) nas primeiras 24-72 horas após o nascimento (NORÉN 1983; NORÉN 1984, SABEL 2012; SEOW 1997), com o surgimento da LNN. No entanto, de maneira relativamente frequente, a hipocalcemia é detectada em bebês logo após o nascimento (JAIN et al. 2010; LISE et al.2017). Por seguinte, podemos então conjecturar,

como fizeram os autores (NORÉN 1983; NORÉN 1984, SABEL 2012) que a LNN possa ser uma resposta no esmalte a esse distúrbio metabólico do cálcio.

Nos achados de Sabel et al.(2008), onde foram estudados o esmalte de dentes decíduos inferiores centrais, a LNN foi descrita como hipomineralizada, em comparação ao esmalte adjacente, os prismas do esmalte teriam menor quantidade de material inorgânico, conferindo à LNN aparência de uma linha escura, quando observada em microrradiografia.

Os ameloblastos são células muito sensíveis e mudança no ritmo da secreção da matriz do esmalte pode ocorrer ocasionada por eventos estressores de origem interna ou externa. Portanto, a LNN seria uma resposta metabólica, ocasionada pelo processo do nascimento, que causaria a interrupção e/ou descompasso desse ritmo (ELI; SARNA; TALMI;1989).

Witzel et al. (2008) cunharam o princípio de que a intensidade e a duração do evento estressante acarretam distúrbio na amelogênese: num evento estressor fraco, os ameloblastos secretores reduzem a atividade secretora. Já sob o estresse mais forte, forma-se o esmalte aprismático e um evento estressor mais forte do que os dois primeiros causam a interrupção da atividade secretora dos ameloblastos de maneira temporária ou total.

A mineralização do esmalte tem início na décima semana de gestação, visto que, ao nascer, o esmalte não está totalmente depositado e mineralizado e a espessura do esmalte continua a ser depositada pelos ameloblastos e só termina quando o dente erupciona na boca. Entretanto, os dentes decíduos apresentam, no seu esmalte, os registros de ocorrências fisiológicas ocorridas durante o período pré-natal e primeiro ano de vida (SABEL,2012).

Hassett et al. (2020) estudaram a LNN de dentes de crianças prematuras. Estas geralmente atravessam maiores dificuldades de desenvolvimento perinatal e pós nascimento, e demonstraram uma linha mais proeminente quando comparada a de crianças nascidas a termo e pós termo ($\geq$ a 40 semanas ou 280 dias).

A localização da LNN pode variar de acordo com o tempo de gestação e classe de dente. Em incisivos centrais de crianças nascidas a termo ou pós termo, a LNN iniciava-se na junção amelodentinária na região mais cervical, em direção à superfície do esmalte, já nos incisivos laterais e caninos, a LNN foi detectada em direção à parte incisal dos dentes (Schour 1936; Skinner 1992).

No presente estudo, os resultados de doadores que não informaram o tipo de parto alcançaram o percentual de 40,9%, já o parto cesariana alcançou 50%, o que demonstra uma maior quantidade deste tipo de parto entre os doadores. Embora neste trabalho não se pode

confirmar o parto cesariana como o mais frequente entre os prematuros, porém é o mais comum entre o total de amostras (22/11) (Tabela 8). Cabe lembrar que a cesariana eletiva é apontada como fator de causa do nascimento prematuro (BITTAR; PEREIRA; LIAO, 2008).

Os resultados deste estudo, considerando os valores percentuais iguais (90,91%) da presença da LNN nos dois grupos analisados, (11/10) em cada, os valores de p nos testes não apontaram significância estatística, sugerindo não existir associação entre o Peso ao Nascer e Idade Gestacional independente das técnicas usadas para análise microscópica (Tabela 16). Estes resultados convergem para os achados de Schour (1936), considerado pioneiro em pesquisas acerca das causas e topografia da LNN, que afirmou ter detectado o percentual de 90% da presença desta linha nos dentes decíduos e 10 % em primeiros molares. Tempos mais tarde, Hurnanen et al.(2017), analisaram 129 dentes de leite de crianças finlandesas, realizando cortes histológicos e estudando sobre a microscópio de luz e, com êxito detectaram 98% da presença da LNN em suas amostras.

No mesmo sentido, o presente trabalho, diante dos resultados encontrados nos Teste Exato de Fisher e Razões de Prevalência, os valores de p mostraram-se sem significância estatística, sugerindo que as medidas antropométricas Idade Gestacional e Peso ao Nascer não estão associados com a presença ou ausência da LNN.

Segundo Behie e Miskiewicz (2019), o desenvolvimento humano, quanto sofre interrupções fisiológicas de maneira precoce, acarreta consequências futuras na saúde do indivíduo (Bannerman-Gyamfi et al. 2011), como é o caso dos nascidos prematuros. Examinando microscopicamente o esmalte decíduo, Levine, Turner e Dubbing.(1979), demonstraram o momento em que um evento nocivo ocorreu, usando a LNN como marcador e a taxa de deposição do esmalte, que segundo Antoine, Hillson e Dean. (2009) obedece ao ritmo circadiano de aproximadamente 4-5 micrômetro diários. Posteriormente, Judes et al. (1985), encontrou resultados de associação estatística significativa entre casos conhecidos de crianças com lesão cerebral e histologia do esmalte.

De modo semelhante, com estudo de crianças com paralisia cerebral e portadores da Síndrome de Down, Keinan, Smith e Zilberman (2006) demonstraram que as agruras sofridas, mesmo de diferentes etiologias, deixam impressões no esmalte decíduo, sendo possível, a partir da identificação da LNN, reconstruir o período do desenvolvimento que tais insultos aconteceram.

O exame microscópico do esmalte de leite de crianças especialmente as nascidas prematuras podem auxiliar e/ou diagnosticar distúrbio de desenvolvimento, visto que os dados apresentados pela OMS (NAÇÕES UNIDAS BRASIL, 2018) apontam que anualmente em todo o mundo nascem 30 milhões de bebês prematuros e/ou de baixo peso.

6.0. CONCLUSÃO

A presença ou a ausência da LNN, como ressaltado neste presente estudo, é multicausal.

Em suma, podemos concluir que a LNN aparece na maioria dos dentes decíduos, neste estudo em 90,9 %, e que não houve associação entre PN e IG.

Mesmo sem significância estatística, o peso ao nascer teve maior relação com a ausência da linha neonatal nos dentes analisados e, por isso, esta variável pode ser considerada um melhor preditor, quando comparada à variável idade gestacional, sobre a presença ou ausência da LNN.

Este trabalho encontrou limitações em sua construção: foi exitoso no número de amostras coletadas, porém uma quantidade relativamente pequena de participantes atenderam aos parâmetros adotados para o estudo, por exemplo, como informar o tipo de parto do doador, etc. Desse modo, estudos longitudinais, empregando um maior tamanho amostral com registros de história conhecidas (peso, idade gestacional, tipo de parto, hábitos maternos etc.) podem vir a demonstrar resultados mais robustos, para responder o/os questionamento(s) que motivaram este estudo, visto que não há ainda um entendimento de todos os fatores que acarretam a formação da LNN.

7.0. REFERÊNCIAS

- ANTOINE, D.; HILLSON, S.; DEAN, M. C. The developmental clock of dental enamel: a test for the periodicity of prism cross-striations in modern humans and an evaluation of the most likely sources of error in histological studies of this kind. **J. Anat.**, London, n. 214, n. 1, p. :45–55, 2009.
- BANNERMAN-GYAMFI, C.; FUCHS, K. M.; YOUNG, O. M.; HOFFMAN, M. K. Nonspontaneous late preterm birth: etiology and outcomes. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v. 205, n. 5, p. ; 456 e1–6, 2011.
- BARBOSA, D. M.; LEMOS, L. V. BANZI, E. C.; MYAKI, S. I. Prevalência de hipoplasia do esmalte em dentes decíduos de crianças nascidas prematuras. **Rev. Rev. Odontol. Unesp**, São José dos Campos, n.7, p. :261-265, 2008.
- BASTEK, J.; SAMMEL, M. D.; PARÉ, E.; SRINIVAS, S. K.; POSENGH, M. A.; ELOVITZ, M. A. Adverse neonatal outcomes: examining the risks between preterm, late preterm, and term infants. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, n. 199, p. :367.e1-8, 2008.
- BEHIE, A. M.; MISZKIEWICZ, J. J. Enamel neonatal line thickness in deciduous teeth of Australian children from known maternal health and pregnancy conditions. **Early Hum. Dev.**, Amsterdam, n. 137, p. :104821, 2019.
- BEHRMAN, R. E.; BUTLER, A. S. (ed.). **Preterm birth**: causes, consequences, and prevention. Washington, DC: The National Academies Press, 2007.
- BETRAN, A. P.; YE, J.; MOLLER, A. B.; ZHANG, J.; GULMEZOGLU, A. M.; TORLONI, M. R. The increasing trend in caesarean section rates: global, regional and national estimates: 1990-2014. **PLoS One**, San Francisco, v. 11, n. 2, p. :e0148343, 2016.
- BITTAR, R. E.; PEREIRA, P. P.; LIAO, A. W. Indicadores de risco para o parto prematuro. Prematuridade. In: ZUGAIB, M. (ed.). **Obstetria**. São Paulo: Manole, 2008.;
- BLENCOWE, H.; COUSENS, S.; OESTERGAARD, M. Z.; CHOU, D.; MOLLER, A. B.; NARWAL, R.; ADLER, A.; VERA GARCIA, C.; ROHDE, S.; SAY, L.; LAWN, J. E. National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: a systematic analysis and implications. **Lancet**, London, v. 379, n. 9832, p. :2162-2172, Jun. 2012
- BLENCOWE, H.; COUSENS, S.; CHOU, D.; OESTERGAARD, M.; SAY, L.; MOLLER, A. B.; KINNEY, M.; LAWN, J.; The Born Too Soon Preterm Birth Action Group. Born too soon: the global epidemiology of 15 million preterm births. **Reprod. health**, London, v. 10, p. S2, 2013. Supplement 1.

CHAWANPAIBOON, S. *et al.* Global, regional, and national estimates of level of preterm births in 2014: a systematic review and modelling analysis. **Lancet Glob. Health**, London, ;v. 7, n. 1, p. e37 e46, 2019..

DANTAS, A. L. E. **Análise dos componentes volumétricos da linha neonatal e esmalte adjacente**. 2018. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Odontologia, . Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018.

DINIZ, M. B.; COLDEBELLA, C. R.; ZUANON, A. C. C.; CORDEIRO, R. ,C. L. Oral abnormalities in preterm and low birth weight infants: the importance of the relationship between pediatricians and pediatric dentists. **Rev. Paul. Pediatr.**, São Paulo, v. 29, n. (3, p. 449-55, 2011.

DONASSOLLO, T. A.; ROMANO, A.; DEMARCO, F.; DELLA-BONA, ,A. Surface microhardness evaluation of enamel and dentin in bovine and human teeth (permanent and deciduous). **Rev. Odonto Ciênc.**, Porto Alegre, v. 58, p. 311-316, 2007.

ELI, I.; SARNA, T. H.; TALMI, E. Effect of the birth process on the neonatal line in primary tooth enamel. **Pediatr. Denti.**, Chicago, v. 11, p. 220-223, 1989.

FERNANDES, L. V.; GOULART A. L.; SANTOS, A. M. N. BARROS, M. C. M. GUERRA, C. C. KOPELMAN, B. I. Avaliação do neurodesenvolvimento de prematuros de muito baixo peso ao nascer entre 18 e 24 meses de idade corrigida pelas escalas Bayley III. **J. Pediatr.**, Porto Alegre, v. 88, n. 6, p. 471-478, 2012.

FILHO, U.D. Introdução à Bioestatística para simples mortais. 5ª ed. Rio de Janeiro (R.J): **Negócio**, p.98, 2005.

FITZGERALD, C. M. Do enamel microstructures have regular time dependency? Conclusions from the literature and a large-scale study. **J. Human Evol.**, London, v. 3, p. 371-386, 1998

GERLACH, R. F.; LINE, S. R. P. Ameloblastos. *In*: CARVALHO, H. F. COLLARES -BUZATO, C. B. (ed.). **Células**: uma abordagem multidisciplinar. Barueri: Manole; 2005. p. 95-106.

GOLDENBERG, R. L.; CULHANE, R. L.; IAMS, J. D.; ROMERO, R. Epidemiology and causes of preterm birth. **Lancet**, London, v. 371, n. 9606, p. :75-84, 2008.

HASSETT, B. R.; DEAN, M. C.; RING, S.; ATKINSON, C.; NESS, A. R.; HUMPHREY, L. Effects of maternal, gestational, and perinatal variables on neonatal line width observed in a modern UK birth cohort. **Am. J. Phys. Anthropol.**, Hoboken, v. 172, n. 2, p. 314-332, 2020.

HURNANEN, J. J.; VISNAPU, V.; SILLANPAA, M.; LOYTTYNIEMI, E.; RAUTAVA, J. Deciduous neonatal line: width is associated with duration of delivery. **Forensic Sci. Inter.**, Lausanne, v. 271, p. 87-91, 2017

JAIN, A.; AGARWAL, R.; SANKAR, M. J.; DEORARI, A.; PAU, V. K. Hypocalcemia in the newborn. **Indian J. Pediatr.**, New Delhi, v. 77, n. 10, p. :1123–1128, 2010. DOI: 10.1007/s12098-010-0176-0.

JACOBSEN, P. E.; HERINKSENT, T. B.; HAUBEK, D.; ØSTERGAARD, J. R.; Developmental enamel defects in children prenatally exposed to anti-epileptic drugs. **Plos One**, San Francisco, p. 58213, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0058213>. Acesso: 21 abril 2020

JANARDHANAN, M.; UMADETHAN, B.; BINIRA, J., K. R.; KUMAR, V.; RAKESH, S. Neonatal line as a linear evidence of live birth: estimation of postnatal survival of a newborn from primary tooth germs. **J. Forensic Dent. Sci.**, Mumbai, v. 3, n. 1, p., 8–13, 2011.

JUDES, H.; ELI, I.; JAFFE, M.; ATTIAS, D.; JAGERMA, K. The histological examination of primary enamel as a possible diagnostic tool in developmental disturbances. **J. Pedod.**, Birmimgham, v. 10, n. 1, p. 68-75, 1985.

KEINAN, D.; SMITH, P.; ZILBERMAN, U. Microstructure and chemical composition of primary teeth in children with Down syndrome and cerebral palsy. **Arch. Oral Biology.**, Oxford, .v. 51, n. Issue 10, p. 836-843, 2006.

KUREK, M.; ZADZINSKA, E.; SITEK, A.; BOROWSKA-STRUGINSKA, B.; ROSSET, I.; LORKIEWICZ, W. Prenatal factors associated with the neonatal line thickness in human deciduous incisors. **HOMO**, Stuttgart, v. 66, n. 3:, p. 251-263, 2015.

LEAL, M. C.; ESTEVES-PEREIRA, A. P.; NAKAMURA-PEREIRA, M.; TORRES, J. A.; THEME-FILHA, M.; DOMINGUES, M. S. M. R.; DIAS, B. A. M.; MOREIRA, E. M.; GAMA, G. S. Prevalence and risk factors related to preterm birth in Brazil. **Reprod. Health**, London, v. 13, p. 3:127, 2016.

LEVINE, R. S.; TURNER, E. P.; DUBBING, J. Deciduous teeth contain histories of developmental disturbances. **Early Hum. Dev.**, Amsterdam, v. 3, p. 211-20, 1979

LINHARES, M. B. M.; CARVALHO, V. E. A.; BORDIN, M. B. M. CHIMELLO, T. J.; MARTINEZ, E. F.; UORGE, M. S. Prematuridade e muito baixo peso como fatores de risco ao desenvolvimento da criança. **Paidéia** (Ribeirão Preto), Ribeirão Preto, v. 10, n. 18, p. 60-69, jul. 2000.

LISE, F.; SANTOS, B. P.; SCHWARTZ, E. SANTOS. Distúrbios metabólicos no recém nascido. **Rev. Espaço Ciênc. Saúde**, Cruz Alta, .v. 5, n. 1, jul. 2017.

LU, Y.; PAPAGERAKIS, P.; YAMAKOSHI, Y.; H.U, J. C-C.; BARLETT, J. D.; SIMMER, J. P. Functions of KLK4 and MMP-20 in dental enamel formation. **Biol. Chem.**, Berlin, v. 389, n. , p. 695–700, 2008.

MAGGI, F. E.; MAGALHÃES, C. L.; CAMPOS, F. A.; BOUZADAD, C. M. Preterm children have unfavorable motor, cognitive, and functional performance when compared to term children of preschool age. **J. Pediatr.**, Porto Alegre, v. 90, n. 4, p:377-383, 2014.

NAÇÕES UNIDAS BRASIL. **OMS**: cerca de 30 milhões de bebês nascem prematuros por ano no mundo. 2018. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/oms-cerca-de-30-milhoes-de-bebes-nascem-prematuros-por-ano-no-mundo>. Acesso em: 16 abr. 2020.

NAÇÕES UNIDAS BRASIL. **UNICEF alerta para elevado número de cesarianas no Brasil**. 2017. Disponível em : <https://nacoesunidas.org/unicef-alerta-para-elevado-numero-de-cesarianas-no-brasil/>. Acesso em: 29 jun. 2019.

NANCI, A. Esmalte: composição, formação e estrutura. *In: Histologia oral de Ten Cate*. 3.^a ed. Rio de Janeiro, Elsevier, p. 200-249,1998.

NANCI, A. Esmalte: composição, formação e estrutura. *In: Histologia oral de Ten Cate*. 7.^a ed. traduzida para o português por Danielle Pereira de Oliveira ,Rio de Janeiro, Elsevier p.141, 2008.

NORÉN, J. G. Enamel structure in deciduous teeth from low-birth-weights infants. **Odontol. Scandal.**, Stockholm, v. 41, n. 6, p. 355-362, Dec. ,1983.

NORÉN, J. G. Microscopic study of enamel defects in deciduous teeth of infants of diabetic mothers. **Odontol. Scandal.**, Stockholm, v. 42, n. 3, p. 153-156, Jun. 1984.

PORTO, I. M.; LAURE, H. J.; TYKOT, R. H.; SOUSA, F. B.; ROSA, J. C; GERLACH, R. F. Recovery and identification of mature enamel proteins in ancient teeth. **Eur. J. Oral Sci.**, Copenhagen, v. 119, p. : 1–8, 2011. Supplement 1.

ROGERS, L. K.; VELTEN, M. Maternal inflammation, growth retardation, and preterm birth: insights into adult cardiovascular. **Life Sci.**, Amsterdam, v. 89, n. 13/14, p.:417-421, 2011.

SABEL. N. Enamel of primary teeth--morphological and chemical aspects. **Swed. Dent. J. Suppl.**, Malmo, n.222, p.:1–77, 2012.

SABEL, N. et al. Neonatal lines in the enamel of primary teeth-A morphological and scanning electron microscopic investigation. **Arch. Oral Biol.**, Oxford, v. 53, n. 10, 954-963, 2008.

SAIGAL, S.; DOYLE, L.W. An overview of mortality and sequelae of preterm birth from infancy to adulthood. **Lancet**.37 n 9608, 261-269, 2008.

SCHOUR, I. The neonatal line in the enamel and dentin of human deciduous teeth and first permanent molar. **J. Amer. Dental Assoc.**, Chicago, v. 23, n. 10, p. 1946-1955, 1936.

SEOW, W. K Effects of preterm birth on oral growth and development. **Aust. Dent. J.**, Sydney v. 42, n.2, p. 85-91. 1997.

SEOW, W. K. et al. Dental eruption in low birth-weight prematurely born-children: a controlled study. **Pediatr. Dent.**, Chicago, v. 10, n. 1, p. 39-42, Mar. 1988.

SILVEIRA, M. F. SANTOS I. S.; BARROS, A. J. D.; MATIJASEVICH, A.; SANTOS, S. I.; BARROS, C. F. VICTORA, G. C. Aumento da prematuridade no Brasil: revisão de estudos de base populacional. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 42, n. 5, p. 957-964, 2008.

SIMMER, J. P.; BARTLETT, J. D.. Proteinases in developing dental enamel. **Crit. Rev. Oral Biol. Med.**, Boca Raton, v. 10, n. 4, p. 425-441, 1999.

SKINNER, M. M. Gestation length and location of the neonatal line in human enamel. *In*: GOODMAN, A. H.; CAPASSO, L. L. (ed.). **Recent contributions to the study of enamel developmental defects**. Chieti: National Archaeological Museum, 1992. p. 41–50. (Journal of Paleopathology. Monographic publications, v. 2).

SKOV, T.; DEDDENS, J.; PETERSEN, M. R.; ENDAHL, L. Prevalence proportion ratios: estimation and hypothesis testing. **Int. J. Epidemiol.**, London, v. 27, p. 91-95, 1998.

SMITH, P.; AVISHA, I. G. The use of dental criteria for estimating postnatal survival in skeletal remains of infants. **J. Archaeol. Sci.**, London., v. 32, p. 83–89, 2005.

SMITH, T. M. Experimental determination of the periodicity of incremental features in enamel. **J. Anat.**, London, v. 208, n. 1, p. 99-113, 2006.

SMITH, T. M. **Incremental development of primate dental enamel**. New York: Stony Brook University, 2004.

TEIXEIRA, A. G.; CARVALHO, L. B. J.; ROCHA, G. B.; PEREIRA, A. S.; ENDERS, C. B. Perfil de mães e o desfecho do nascimento prematuro ou a termo. **Cogitare Enferm.**, Curitiba, n. 23, p. 51409, 2018.

VELLO, M. A. ; *et al.* Prenatal and neonatal risk factors for the development of enamel defects in low birth weight children. **Oral Dis.**, Basingstoke, v. 16, p. 257-262, 2010.

VISCARDI, R. M.; ROMBERG, E.; ABRAMS, R. G. Delayed primary tooth eruption in premature infants: relationship to neonatal factors. **Pediatr. Dent.**, Chicago, v. 16, p. :23-28, 1994.

VOGEL, J. P. et al.; The global epidemiology of preterm birth.” Best practice & research. **Clinical obstetrics & gynaecology** v. 52,p: 3-12, 2018.

WACHOLDER.S. Binomial regression in GLIM: estimating risk ratios and risk differences. **Am J Epidemiol.** v.123(1):p.174-84,1986.

WHO. Recommended Definitions, Terminology and Format for Statistical Tables Perinatal Deaths. **Acta Obstet Gynecol Scand.**, Copenhagen, v. 56, n. 3, p. 247-253, 1977.

WHO. **Born too soon**: the global action report on preterm birth. Geneva;2012.Disponível em: <http://www.who.int/maternal_child_adolescent/documents/born_too_soon/en/>Acesso em: 09 de maio, 2019.

WHO.**Preterm birth**. Geneva:19 February 2018. Disponível em <<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/preterm-birth>>.Acesso em: 02 de abril, 2019.

WITZEL, C.; KIERDORF, U.; SCHULTZ, M.; KIERDORF.; H. Insights from the inside: histological analysis of abnormal enamel microstructure associated with hypoplastic enamel defects in human teeth. **Am. J. Phys. Anthropol.**, Hoboken, v. 136, n. 4, p. 400–414, 2008. DOI: 10.1002/ajpa.20822.

ZANOLLI, C.; BONDIOLI, L.; MANNI F.; ROSSI, P.; MACCHIARELLI, R. Gestation length, mode of delivery, and neonatal line-thickness variation. **Human Biol.**, Detroit, v. 83, n. 6, p. 695-713, 2011.

8.0. APÊNDICE

Crianças Nascidas a Termo - Luz Polarizada

43A 2,5X

43A 20X

NT1
TEMPO - 273 DIAS
PARTO - CESAREA
PESO - 3695 Kg
LNN-PRESENTE
43A- INCISIVO CENTRAL SUPERIOR

46A 2,5X

46A 20X

NT2
TEMPO - 266 DIAS
PARTO - CESAREA
PESO - 3800 Kg
LNN -PRESENTE
46A - INCISIVO CENTRAL
SUPERIOR DIREITO

51A 2,5X

51A 20X

NT5
 TEMPO - 280 DIAS
 PARTO - NORMAL
 1º APGAR / 2º APGAR
 PESO - 2500 Kg
 LNN - PRESENTE
 51A - INCISIVO LATERAL
 SUPERIOR DIREITO

53 D -2,5X

53 D-20X

NT6
 TEMPO - 273 DIAS
 PARTO - NORMAL
 PESO - 3280 Kg
 LNN - PRESENTE
 53D - CANINO

54 D 2,5X

54 D 20X

NT7
GEMELAR
TEMPO - 273 DIAS
PARTO - CESAREA
PESO - 3025 Kg
LNN - PRESENTE
54 - INCISIVO LATERAL SUPERIOR

55A 2,5X

55A 20X

NT8
TEMPO - 280 DIAS
PARTO - CESAREA
PESO - 3000Kg
LNN - PRESENTE
55A - INCISIVO LATERAL SUPERIOR

103A 2,5X

103 20X

NT9
TEMPO - 266 DIAS
PARTO - CESAREA
PESO - 3715 Kg
LNN - AUSENTE
103A - INCISIVO CENTRAL
SUPERIOR

105F 2,5X

105F 20X

NT10
TEMPO - 384 DIAS
PARTO - NORMAL
PESO - 3695 Kg
LNN - PRESENTE
105F - INCISIVO SUPERIOR
LATERAL DIREITO

107 2,5X

107 2,5X

NT11
TEMPO - 369 DIAS
PARTO - CESAREA
PESO - 3400 Kg
LNN - PRESENTE
107 - CANINO

30A 2,5X

30A-20X

NP3
TEMPO - 245 DIAS
PARTO - NÃO INFORMADO
LNN - PRESENTE
PESO - 1800 Kg
30A - INCISIVO SUPERIOR CENTRAL

52 2,5X

52-20X

NP4
TEMPO - 196 DIAS
PARTO - NÃO INFORMADO
LNN - PRESENTE
PESO - 1490 Kg
52 - INCISIVO CENTRAL

NP5
TEMPO - 253 DIAS
PARTO- NÃO INFORMADO
LNN - PRESENTE
PESO - 2790 Kg
95 - INCISIVO CENTRAL SUPERIOR
ESQUERDO

NP6
TEMPO - 253 DIAS
PARTO- NÃO INFORMADO
LNN - PRESENTE
PESO - 2240 Kg
126 - INCISIVO INFERIOR CENTRAL
ESQUERDO

149 A 2,5X

149A 20X

NP9
TEMPO - 220 DIAS
PARTO - NÃO INFORMADO
PESO - 1285 Kg
LNN - PRESENTE
149A - INCISIVO LATERAL SUPERIOR

152 2,5X

152 20X

NP10
TEMPO - 215 DIAS
PARTO - NÃO INFORMADO
LNN - AUSENTE
PESO - 1250 Kg
152 - CANINO

9.0. ANEXOS

Anexo A

Material elaborado para campanha de arrecadação dos dentes (cartaz e folder).

Campanha Doe Seu Dentinho

**Precisamos de dentes de
leite de crianças nascidas
em 2010 e 2011**

**Precisamos de uma grande
quantidade de dentes de leite
e da colaboração de todos os
PAIS, PROFESSORES E
CRIANÇAS, para nossas
pesquisas!**

**Departamento de Psicobiologia da FFCLRP/USP em Parceria com a
FORP/USP e FMRP/USP**

Anexo B- Termo de doação de dentes***TERMO DE DOAÇÃO DE DENTES DE LEITE***

Eu, _____, responsável por
 _____, nascido em _____,
 sou ciente da doação de _____ dentes de leite para o Biobanco de dentes humanos da FORP/USP para a
 utilização da pesquisa “Avaliação do estresse celular ao nascer a partir da análise da linha neonatal do
 dente de leite de crianças e sua correlação com diferentes índices de Apgar” realizada pelo
 Departamento de Psicobiologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
 (FCLRP/USP) em parceria com a Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP/USP).
 _____, _____ de _____ de 2018.

 Nome e assinatura do responsável

 Pesquisadora Jeanne Ramos de Melo Monteiro (assinatura e CPF)

 Prof. Dra. Raquel Fernanda Gerlach (assinatura e CPF)

Anexo C -Termo de Livre Consentimento e Esclarecimento

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Os pesquisadores responsáveis por esta pesquisa convidam _____
 _____ (nome da criança) filho de
 _____ (nome da mãe) a participar do estudo "Avaliação do estresse celular ao nascer a partir da análise da linha neonatal no esmalte de dentes de leite de crianças e sua correlação com diferentes índices de Apgar". Assino este termo de consentimento livre e esclarecido como responsável pela criança sendo _____ (pai, mãe, avô, guardião, etc), e desta forma autorizo que o menor sob minha responsabilidade participe da pesquisa.

Justificativa: Para haver melhora no desenvolvimento das crianças, médicos, biólogos, dentistas, psicólogos, fonoaudiólogos, entre outros profissionais da saúde, realizam pesquisas sobre a saúde infantil desde a gestação até os primeiros anos. Esse é o caso de nossa pesquisa, que visa saber a que agentes tóxicos a criança estava exposta no período pré-natal e nos primeiros anos da infância. Esta pesquisa é muito importante e se justifica porque se conhecermos os metais que podem influenciar no desenvolvimento nesses períodos, será possível atuar para proteger as crianças, prevenindo várias doenças que podem afetar seu aprendizado e seu bom desenvolvimento.

Objetivo: Avaliar os dentes de leite quanto a sua composição e a presença de metais, comparando mais tarde os dados obtidos no dente com o desenvolvimento infantil verificado no estudo da coorte Brisa de 2010 da Faculdade de Medicina da USP de Ribeirão Preto.

Procedimento: Já no início desse estudo os pais e as crianças serão convidados a guardar os dentes de leite que forem perdidos naturalmente pela criança e posteriormente doá-los mediante um Termo de Doação de Dentes. Toda criança perde 20 dentes de leite a partir dos cinco anos de idade. No lugar dos dentes de leite nascem outros dentes, chamados permanentes. Os dentes doados para o nosso estudo serão analisados para ver a presença de metais considerados tóxicos. **Riscos:** Não haverá utilização de qualquer tipo de procedimento que traga riscos aos participantes, pois pedimos a doação de dentes de leite que caem "sozinhos" (naturalmente, sem interferência de um profissional) ou seja, anula qualquer possível risco à saúde do doador participante.

Benefícios: Os benefícios aos participantes do estudo serão saber se eles, crianças, foram expostos a níveis altos de metais durante o período de gestação e nos primeiros anos de vida. Se isso tiver ocorrido, poderemos fazer orientações sobre como lidar melhor com a situação e, se necessário, fazer encaminhamentos a profissionais que possam ajudar.

Esclarecimentos antes e durante a pesquisa sobre a metodologia: os pesquisadores prestam todos os esclarecimentos antes do início da pesquisa e podem ser chamados a qualquer momento, por telefone, e-mail ou pessoalmente, para prestar esclarecimentos.

Liberdade de recusar ou retirar consentimento sem penalização: a criança e/ou seu responsável tem total liberdade para a qualquer momento DEIXAR de participar da pesquisa. Não há nenhuma punição para quem não quiser mais participar.

Garantia de sigilo e privacidade: esta pesquisa é científica e poderá ser publicada em jornais, revistas ou em congressos científicos no país e no exterior, mantendo-se o SIGILO e respeitando-se o código de Defesa do Menor e do Adolescente. Isso quer dizer que o nome da criança ou o de seus responsáveis não será divulgado. Por se tratar de doação de dentes de leite já caídos não haverá nenhum gasto do participante, portanto não se faz necessário nenhum tipo de ressarcimento, uma vez que os sujeitos da pesquisa só doaram seus dentes e os pais/responsáveis deram autorização para uso dos dentes e dos dados de nascimento e seguimento da criança, que foram coletados no estudo

BRISA, da FMRP no ano de 2010. No entanto se o participante/responsável obtiver qualquer gasto para contribuir com esta pesquisa poderá então ser ressarcido pelos pesquisadores. Por se tratar da coleta de dentes de leite já caídos sem riscos à saúde, a possibilidade de danos ao doador participante é muito baixa, porém há possibilidade de **indenização** diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa.

Estou ciente de que esta pesquisa tem como responsável a Profa. Dra. Raquel Fernanda Gerlach (rferlach@fop.usp.br) telefone (16)3315 4014 (FORP USP) e a pesquisadora Jeanne R. D. Melo Monteiro (jeannemelo@usp.br) telefone (16) 981274053 (FFCLRP /USP). Em caso de **insatisfações ou reclamações**, o participante poderá entrar em contato com o CEP (Comitê de Ética em Pesquisa) da Faculdade de Odontologia da USP – Ribeirão Preto, sendo que seu nome será mantido em anonimato através do endereço: Av. do Café, S/N, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP, bairro Monte Alegre, Ribeirão Preto, CEP: 14.040-904 ou telefones (16) 3315-0493 ou E-mail: cep@forp.usp.br. Horários de atendimento: segunda à sexta-feira das 13:30h as 17:30h (exceto feriados e pontos facultativos)

Assino este documento de livre e espontânea vontade, estando ciente do seu conteúdo e as dúvidas que tive foram respondidas pelos pesquisadores.

Este termo possui duas vias de igual teor, sendo que uma ficará sob a posse do doador participante.

_____, _____ de _____ de 2018.

Nome do pai/mãe /responsáveis

Pesquisadora Jeanne R. D. Melo Monteiro (assinatura, nome e CPF)

Prof. Dra. Raquel F. Gerlach (assinatura, nome e CPF)

Anexo D-Questionário

I. Nome da criança:

Nº Formulário:

Data de nascimento:

Idade:

Escolaridade:

Nome do responsável:

Tipo de parto:

() Natural () Cesário () Fórceps

A termo () Prematuro ()

Quantas semanas de gestação? _____ Peso ao nascer: _____

Nota de Apgar aos 1º minuto _____ 5º minutos: _____

Internação logo ao nascer? Sim () Não ()

Se. Sim, qual a causa: _____

Teve febre alta por vários dias no primeiro ano () ou no segundo ano (). Quantos dias? _____

Foi hospitalizada no primeiro () ou no segundo ano de vida (). Quantos dias? _____

A criança apresenta alguma doença crônica? Sim () Não () Qual? _____

II. Antecedentes da mãe

Fez acompanhamento pré-natal?

Sim () Não ()

Realizou alguma cirurgia durante a gravidez? Sim () Não ()

Qual/ Quando? _____

Sofreu algum trauma (acidente) durante a gestação? Sim () Não ()

.Quando? _____

Doenças infecciosas na gravidez (Rubéola, Sífilis, Tuberculose, Zika, Chikungunia, Dengue)

Sim () Não (). Quando? _____

Doenças crônicas na gravidez (Diabete, Hipertensão, Depressão).

Sim () Não (). Quando? _____

Anexo E- Comitê de Ética em Pesquisa

Continuação do Parecer: 2.520.694

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1056715.pdf	15/02/2018 15:25:39		Aceito
Outros	Anexo.docx	15/02/2018 15:20:37	Raquel Fernanda Gerlach	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	15/02/2018 15:18:36	Raquel Fernanda Gerlach	Aceito
Outros	citacao.pdf	01/01/2018 21:28:23	Raquel Fernanda Gerlach	Aceito
Declaração de Pesquisadores	anuencia.docx	01/01/2018 21:25:42	Raquel Fernanda Gerlach	Aceito
Cronograma	cronograma.docx	01/01/2018 10:56:16	Raquel Fernanda Gerlach	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	infra.docx	01/01/2018 10:53:39	Raquel Fernanda Gerlach	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Declaracaobiobanco.pdf	22/12/2017 23:08:02	Raquel Fernanda Gerlach	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetoCEP.docx	22/12/2017 21:09:49	Raquel Fernanda Gerlach	Aceito
Folha de Rosto	FolhadeROSTO.pdf	22/12/2017 12:52:49	Raquel Fernanda Gerlach	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIBEIRAO PRETO, 01 de Março de 2018

Assinado por:
Simone Cecílio Hallak Regalo
(Coordenador)

Endereço: Avenida do Café s/nº

Bairro: Monte Alegre

CEP: 14 040-904

UF: SP

Município: RIBEIRAO PRETO

Telefone: (16)3315-0493

Fax: (16)3315-4102

E-mail: cep@forp.usp.br

Anexo F- Autorização para pesquisa