

KAMILLE BARBOSA PONTAROLLI

RELAÇÃO ENTRE A DOENÇA PERIODONTAL INDUZIDA E
SEUS EFEITOS SOBRE A PREENHEZ. ESTUDO
EXPERIMENTAL EM RATAS.

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do Título de Mestre em Clínica Odontológica – Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio de Toledo
Co-orientador: Prof. Dr. Antônio W. Sallum

PIRACICABA

2007

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**
Bibliotecário: Marilene Girello – CRB-8ª. / 6159

P776r Pontarolli, Kamille Barbosa.
Relação entre a doença periodontal induzida e seus efeitos sobre a prenhez. Estudo experimental em ratas. / Kamille Barbosa Pontarolli. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2007.

Orientadores: Sérgio de Toledo, Antônio Wilson Sallum.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Doença periodonta. I. Toledo, Sérgio de. II. Sallum, Antônio Wilson. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. IV. Título.
(mg/fop)

Título em Inglês: Relationship between the induced periodontal disease and your effects on pregnancy. Experimental study in rats

Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Periodontal disease

Área de Concentração: Periodontia

Titulação: Mestre em Clínica Odontológica

Banca Examinadora: Sérgio de Toledo, Vinícius Augusto Tramontina, Márcio Zaffalon Casati

Data da Defesa: 12-02-2007

Programa de Pós-Graduação: Clínica Odontológica



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de MESTRADO, em sessão pública realizada em 12 de Fevereiro de 2007, considerou a candidata KAMILLE BARBOSA PONTAROLLI aprovada.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Sérgio de Toledo".

PROF. DR. SÉRGIO DE TOLEDO

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Vinícius Augusto Tramontina".

PROF. DR. VINÍCIUS AUGUSTO TRAMONTINA

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Márcio Zaffalon Casati".

PROF. DR. MÁRCIO ZAFFALON CASATI

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu pai João, à minha mãe Cristina e ao meu noivo Diego, que foram as pessoas que desde o início me apoiaram para que este dia chegasse.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus** pela possibilidade de ter concretizado mais um sonho que era o de continuar estudando a Periodontia.

Aos meus **anjos**, todos, por terem me dado muita força para vencer a ausência e solidão imensa que senti em ficar longe da minha família. Obrigada pela força.

À Universidade Estadual de Campinas **UNICAMP**, na pessoa do seu Reitor, **José Tadeu Jorge**.

À Faculdade de odontologia de Piracicaba **FOP/UNICAMP**, na pessoa do seu Diretor, **Prof. Dr. Francisco Haiter Neto**.

Ao **Prof. Dr. Mário Alexandre Coelho Sinhoreti**, Coordenador do Curso de Pós-graduação.

Ao **Profa. Dra. Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia**, Coordenadora do Curso de Pós-graduação em Clínica Odontológica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (**CAPES**), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (**FAPESP**) e ao Fundo de Apoio ao Ensino, à Pesquisa e à Extensão (**FAEPEX**) pelo apoio financeiro durante o curso e para a realização deste trabalho.

Ao meu querido orientador, **prof. Dr. Sérgio de Toledo**, obrigada, pela confiança, amizade, ensinamentos (escolares e familiares) e, principalmente, por todo o apoio concedido na decisão mais importante da minha vida. Você é um exemplo de pessoa, de família, de conduta. Obrigada.

Ao co-orientador mais presente de todos, **prof. Dr. Antônio Wilson Sallum**, obrigada pela confiança, dedicação, auxílio na elaboração da tese. Tive o privilégio de ter dois orientadores nesta tese. Agradeço também, pela amizade e apoio nos momentos difíceis. Minha promessa é dívida, sempre estarei em contato.

Aos professores **prof. Dr. Enilson Antônio Sallum, prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Junior e prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati** pelos ensinamentos adquiridos ao longo do curso.

À professora **prof. Dra. Fernanda Klein Marcondes** pela grande disponibilidade e auxílio para a realização desta pesquisa.

Aos meus amigos do Mestrado e do Doutorado **Fernanda, Renato, Fabrícia, Mauro, Daniela, Beatriz, Liana, Wagner, Thaís, Sandro, Érica, Daiane, Bruno, Saulo, Marcelo, Gabriela, Cléverson, Roberta**, pelos bons momentos passados juntos.

À **Fernanda** e ao **Renato** pela grande ajuda dada para que este trabalho pudesse ser realizado. Vocês foram os responsáveis pelos ensinamentos de como cuidar, manipular, anestésiar as ratinhas, enfim, ensinaram tudo sobre ratas. À **Daniele** e à **Beatriz** pela ajuda ao longo desta pesquisa durante horas a fio no biotério.

À **Thais**, minha amiga querida, com quem compartilhei muito das minhas preocupações, alegrias, ansiedades. Apesar de você já estar trilhando seu novo caminho, nossa amizade será eterna.

Aos meus amigos dos outros departamentos que fiz aqui em faculdade, **Alyne, Regiane, George, Giselle, Fernanda**, obrigada, pela amizade sincera, pelos conselhos, pelos momentos de descontração.

À **Eliete** por todo empenho dispensado para esta disciplina. À **Mariana** pela ajuda sempre com os trabalhos no laboratório. Aos bioteristas **Fábio, Wanderley e Flor** pela ajuda para a realização deste trabalho.

Às **ratinhas** e aos **ratos** que deram suas vidas para que este trabalho pudesse ser realizado.

A todos os pacientes que atendi aqui em Piracicaba, obrigada pela confiança, em especial, à **Bia, Renato, Francisco, Rodrigo**, pela amizade formada.

Ao meu professor da graduação, **prof. Dr. Vinicius Augusto Tramontina**, primeiro a me incentivar a descobrir a Periodontia. Sempre serei grata a você, por

tudo, por todos os oito anos de amizade. Pela sua disponibilidade, pela sua ajuda, por me guiar pelos melhores caminhos da Periodontia. Obrigada.

Aos meus professores da Especialização de Periodontia, **prof. Dr. Gibson Pilatti**, **prof. Dr. Fábio André dos Santos** e **prof. Dr. Fábio Goiris** por toda dedicação e vontade de realmente ensinar, vocês têm o importante sentimento de humildade que faz com que sejam tão respeitados e admirados por todos aqueles que convivem com vocês. Adoro vocês, pelo respeito, pela amizade, pela ética profissional e pretendo sempre passear por Ponta Grossa para reencontrá-los. Saudades.

Aos meus amados pais, **João** e **Cris**, responsáveis pela minha preocupação e saudades constantes aqui em Piracicaba, porém sem os quais nada disso teria sido possível de ser realizado. Vocês foram fundamentais para mais este passo na minha carreira.

Ao meu noivo querido, **Diego**, que mesmo com a distância, que acabou sendo muitas vezes, meu irmão, e que teve que agüentar minha insegurança, minha impaciência, meus choros desolados pela vontade de estar em Curitiba. Porém, sempre me apoiou e me incentivou a continuar superando todos os obstáculos para chegar até aqui. Obrigada, por seu companheirismo, paciência, carinho, pelo seu amor por mim. Aonde quer que eu vá, levo você no olhar.

Ao **Simba**, meu amigo querido pra todas as horas e sempre. Jamais poderia deixar de passar em branco um agradecimento pelo seu companheirismo, alegria, paciência e amor incondicional.

Aos meus **familiares** e **amigos**, por entenderem o motivo da minha ausência quase permanente, ao longo destes dois anos de curso, e pelo grande apoio e torcida para que este dia chegasse.

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a chegada deste momento.

Obrigada a todos.

RESUMO

A infecção periodontal atua como um reservatório de microrganismos gram-negativos anaeróbicos, lipopolissacarídeos e mediadores inflamatórios como a PGE₂ e o TNF- α . Estes mediadores atuam também no trabalho de parto. O objetivo deste estudo foi avaliar, em ratas, a relação entre a doença periodontal induzida e seus efeitos sobre a prenhez. Para isto foram utilizadas ratas Wistar divididas em três grupos: o grupo prenhez (PR) (n=16); o grupo prenhez + doença periodontal (PRDP) (n=21) e o grupo doença periodontal (DP) (n=09). A indução da doença periodontal foi feita com ligaduras de fio de algodão colocadas em 06 molares, 60 dias antes da indução à reprodução. As fêmeas adultas foram sacrificadas após os nascimentos das proles para análise da evolução da doença periodontal entre os diferentes grupos de pesquisa, através de histometria das furcas dos primeiros molares inferiores. O resultado da histometria demonstrou que ambos os grupos com doença periodontal induzida, apresentaram maior perda óssea em relação ao grupo não doente (PRDP: 191,6 \pm 72,99; DP: 148,7 \pm 44,37; PR: 53,05 \pm 12,86; $p < 0.0001$). Não houve diferença entre os grupos com relação ao tempo de gestação (PR: 23,12 \pm 0,88; PRDP: 22,61 \pm 0,86 dias). Não houve diferença no peso de filhotes vivos entre os grupos (PR: 6,20g \pm 0,48; PRDP: 6,10g \pm 0,44; $p = 0.5404$). Foi identificada significância estatística entre o peso dos filhotes não-viáveis de ratas saudáveis (PR: 6,34g \pm 0,41) e de ratas doentes (PRDP: 4,96g \pm 0,52; $p = 0.0062$). De acordo com o presente estudo, a doença periodontal experimental em ratas associou-se à embriofetividade e restrição do crescimento fetal.

Palavras-chave: restrição do crescimento fetal; embriofetividade; doença periodontal; estudo experimental.

ABSTRACT

The periodontal infection is a reserve of gram-negative anaerobic microorganisms, lipopolysaccharides and inflammatory mediators like the PGE₂ and the TNF- α . These mediators also act in the childbirth. The aim of this study was to evaluate, in female rats, the relationship between the induced periodontal disease and your effects on pregnancy. To this, Wistar rats were divided in three groups: the pregnancy group (PR) (n=16); the pregnancy + periodontal disease group (PRDP) (n=21) and the periodontal disease group (DP) (n=09). The induction of the periodontal disease was made by cotton ligatures around 06 molar teeth, 60 days before the reproduction induction. Additionally, the adult females were sacrificed after the births of offsprings to analyse the evolution of the periodontal disease between the different groups of research, through histometric of furcation area of the first molars inferiors. On histometric procedure, both groups with induced periodontal disease showed a increased bone loss when compared with no-disease group (PRDP: 191,6 \pm 72,99; DP: 148,7 \pm 44,37; PR: 53,05 \pm 12,86; $p < 0.0001$). It was not found difference between groups with relation to pregnancy time (PR: 23,12 \pm 0,88; PRDP: 22,61 \pm 0,86 days). It was not found differences between the average of the weight of livings puppies between groups (PR: 6,20g \pm 0,48; PRDP: 6,10g \pm 0,44; $p = 0.5404$). It was identified significance statistic between stillborn puppies of healthful rats (PR: 6,34g \pm 0,41) and sick rats (PRDP: 4,96 \pm 0,52; $p = 0.0062$). In agreement with this study, the experimental periodontal disease in rats could be associated with the embryoletality and fetal growth restriction.

Key-words: restriction to the fetal growth; embryoletality; periodontal disease; experimental study.

LISTA DE ABREVIATURAS

CPITN	Índice Comunitário de Necessidade de Tratamento Periodontal
DMFT	Dentes Perdidos, Restaurados e Cariados
DP	Grupo Doença Periodontal
GCF	Fluido Crevicular Gengival
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IL-1	Interleucina-1
IL-1β	Interleucina-1 β
IL-6	Interleucina-6
IL-8	Interleucina-8
LPS	Lipopolissacarídeos
PCR	<i>Polimerase Chain Reaction</i>
PGE₂	Prostaglandina E ₂
PR	Grupo Prenhez
PRDP	Grupo Prenhez + Doença Periodontal
PSR	<i>Periodontal Screening and Recording</i>
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral- α

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1 Fatores Relacionados à Gravidez Adversa.....	5
2.2 O Papel das Infecções no Trabalho de Parto.....	9
2.3 Relação entre a Doença Periodontal e os Efeitos Adversos na Gravidez.....	11
2.3.1 Estudos Experimentais.....	11
2.3.2 Estudos em Humanos.....	15
3 PROPOSIÇÃO.....	38
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	39
4.1 Características da Amostra.....	39
4.2 Constituição dos Grupos.....	39
4.3 Desenho Experimental.....	40
4.4 Indução à Doença Periodontal Experimental.....	40
4.5 Indução à Reprodução e Desenvolvimento Ontogenético.....	44
4.6 Monitoramento e Coleta de Dados.....	47
4.7 Processamento Histológico.....	47
4.8 Processamento Histométrico.....	49
4.9 Análise Estatística.....	51
5 RESULTADOS.....	52
5.1 Análise da Perda Óssea	52
5.2 Tempo de Gestação.....	52

5.3 Total de Filhotes.....	53
5.3.1 Número Total de Filhotes.....	53
5.3.2 Peso Médio do Total de Filhotes.....	54
5.4 Filhotes Viáveis.....	55
5.4.1 Número de Filhotes Viáveis.....	55
5.4.2 Peso Médio dos Filhotes Viáveis.....	56
5.5 Filhotes Não-Viáveis.....	57
5.5.1 Número de Filhotes Não-Viáveis.....	57
5.5.2 Peso Médio dos Filhotes Não-Viáveis.....	58
6 DISCUSSÃO.....	60
7 CONCLUSÃO.....	68
REFERÊNCIAS.....	69
APÊNDICE.....	77
ANEXO.....	87

1 INTRODUÇÃO

A doença periodontal inicia-se pela inflamação gengival, conhecida como gengivite. Ela caracteriza-se pela alteração na gengiva marginal e é consequência do acúmulo do biofilme dental e outros fatores irritantes que podem favorecer esse processo. Quando as estruturas de suporte dos dentes são envolvidas nessa inflamação, tem-se a periodontite (AAP,1998). A doença periodontal possui vários fatores etiológicos para o seu desenvolvimento e progressão, sendo que estes podem ser locais ou sistêmicos. De acordo com Carranza & Newman (1997), entre alguns fatores locais estariam os microrganismos do biofilme dental e os fatores locais predisponentes, como o cálculo dentário, restaurações mal-adaptadas, fumo, má oclusão, entre outros. Os fatores sistêmicos são aqueles que modificam a resposta do paciente aos fatores locais, deixando-o mais susceptível à destruição dos tecidos periodontais, como por exemplo, as doenças nutricionais, endócrinas, hematológicas, imunodeficiências entre outros.

Segundo Bobetsis (2006), foi Miller (1891) quem, originalmente, publicou a teoria da infecção focal, através da qual sugeriu que microrganismos ou seus produtos poderiam entrar em partes adjacentes do corpo inclusive pela boca, concluindo que a boca seria um foco de infecção para um grande número de doenças locais e sistêmicas, como tonsilites, pneumonia, tuberculose, sífilis, osteomielite, endocardite, meningite e septicemia. Antes do desenvolvimento moderno do tratamento da doença periodontal, muitos dentes eram extraídos propositalmente devido a essa teoria.

Cerca de 100 anos mais tarde, em meados de 1990, Collins *et al* (1994a; 1994b) hipotetizaram que uma infecção oral, poderia atuar como uma reserva de bactérias e mediadores inflamatórios, e estes poderiam se disseminar sistemicamente até a unidade feto-placentária, através da circulação sangüínea, e induzir as complicações da gravidez.

Estudos epidemiológicos estabelecem a relação entre saúde periodontal e sistêmica, informando que, da mesma forma que as doenças sistêmicas influenciam na doença periodontal, a própria doença periodontal pode ser um fator de risco para várias doenças sistêmicas. Segundo seus achados, as doenças cardiovasculares e a *Diabetes mellitus* têm comprovação dessa relação através de inúmeros trabalhos publicados. Além disso, novas relações vêm sendo estudadas mais recentemente, como a influência da doença periodontal nas doenças respiratórias e no nascimento de bebês prematuros de baixo peso (Offenbacher *et al*, 1996; Lindhe, 1999).

O nascimento prematuro é um freqüente problema de morbidade e mortalidade no período perinatal nos Estados Unidos. Crianças nascidas antes da 37^a semana de gestação chegam à casa de 6% a 10% de todos os nascimentos, e ainda, 40 a 70% de todas as mortes perinatais e metade de todas as morbidades neurológicas. Evidências de associação de nascimentos prematuros e infecções sintomáticas, como as infecções urinárias e do trato respiratório já são claras. Os cuidados especiais a que estas crianças são submetidas, excedem a casa dos 5 bilhões de dólares gastos anualmente pelo governo Norte-Americano (Gibbs, 2001; McGaw, 2002).

Gibbs *et al* (1992) e Davenport *et al*, (1998) relatam que mesmo sendo conhecidos vários fatores etiológicos de indução ao parto prematuro, cerca de 25% destes partos ainda ocorrem sem a identificação das causas.

Segundo McGaw (2002) entre alguns fatores de risco já conhecidos para o parto prematuro incluem-se a idade da mãe, raça, estatus socioeconômico, cuidados pré-natais, uso de drogas, hipertensão, infecção gênito-urinária, diabetes, gravidez múltiplas, pré-eclâmpsia e eclâmpsia.

Offenbacher *et al* (1998a) e McGaw (2002), afirmam que as infecções são consideradas as maiores causas para os partos prematuros de bebês de baixo peso, sendo responsáveis por 30 a 50 % de todos os casos. Infecções bacterianas no corioâmion ou na membrana extra-placentar, são condições associadas ao rompimento de membranas e partos prematuros. Apesar disso,

vários casos de corioamniotite não são associados a infecções locais, sugerindo que produtos bacterianos de infecções à distância possam influenciar na indução de nascimento de prematuros de baixo peso.

A teoria da doença periodontal como fator potencial ao nascimento de prematuros e/ou de baixo peso, retardo do crescimento e mortalidade fetal, vem sendo suportada pelos estudos, primeiramente realizados em animais e, mais atualmente, em gestantes humanas. Offenbacher *et al* (1996) foram os precursores de estudos clínicos em humanos avaliando se a infecção periodontal poderia servir como uma reserva de bactérias gram-negativas com potencial para afetar a unidade feto-placentária. Na sua primeira pesquisa em grávidas humanas, após usarem modelos de regressão logística multivariados e controlando os outros fatores de risco conhecidos, os autores demonstraram uma correlação estatística significativa entre doença periodontal e nascimento de prematuros de baixo peso. Mães com infecção periodontal apresentaram 7,0 vezes risco maior para o nascimento de prematuros de baixo peso.

Estudos experimentais utilizando a inoculação de microrganismos ou seus subprodutos em ratas, resultaram na interferência destas substâncias na produção de restrição do crescimento fetal e de baixo peso (Collins *et al*, 1994a; Collins *et al* 1994b; Lin *et al*, 2003; Han *et al*, 2004).

Entretanto, a relação entre o efeito da doença periodontal induzida por ligaduras em ratos seria um modelo mais fiel à doença periodontal em humanos, do que a inoculação direta de uma espécie de microrganismo ou seu subproduto, como os descritos por outros autores, visto que a doença periodontal é composta por mais de 400 espécies microbianas. Porém são poucas as publicações com esse tipo de modelo experimental. Um desses trabalhos foi realizado por Galvão *et al* (2003), no qual a indução da doença periodontal por meio de ligaduras foi feita apenas nos segundos molares superiores. Neste estudo, os autores não encontraram relação entre doença periodontal e parto prematuro ou de baixo peso. Por isso, o presente estudo objetiva a indução da doença periodontal com ligaduras, em no mínimo, seis molares. Ademais, este estudo utilizando ratas

como unidades experimentais, tende a diminuir a quantidade de fatores externos que possam influenciar nos resultados finais.

Os seguintes fatores são considerados de risco para os efeitos adversos na gravidez: genético, demográfico, sócio-econômico, psico-social, obstétrico, nutricional, exposição tóxica (álcool, tabaco) e infecções, que em alguns trabalhos em humanos não são mencionados como critérios de exclusão de pacientes (Williams *et al*, 2000).

Sendo assim, este modelo justifica-se pela viabilidade de realização e pela necessidade de contribuir com a literatura a fim de avaliar a relação entre a doença periodontal e os efeitos adversos na prenhez, apresentando e discutindo os dados encontrados.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FATORES RELACIONADOS À GRAVIDEZ ADVERSA

De acordo com a Organização Mundial da Saúde – OMS (2000), o baixo peso ao nascer e a prematuridade são classificados da seguinte forma:

- baixo peso ao nascer: menos que 2.500 g;
- muito baixo peso ao nascer: menos que 1.500 g;
- extremo baixo peso ao nascer: menos que 1.000 g;
- prematuro: menos que 37 semanas de gestação;
- muito prematuro: menos que 32 semanas de gestação.

McCormick (1985) informou que nos anos 50, quase 70% das mortes infantis ocorriam no período neonatal, sendo que dessas, cerca de 2/3 acometiam bebês com peso abaixo de 2500g. Os anos 60 mantiveram estáveis esses índices, e a partir dos anos 70 uma redução das taxas de mortalidade infantil começou a acontecer principalmente devido ao avanço nos sistemas de saúde com a introdução de unidades neonatais de tratamento intensivo, para o atendimento de crianças de alto risco, além do aperfeiçoamento dos exames pré-natais, indicando quando necessário, os partos por cesariana. Entretanto, essas unidades de terapia intensiva geram altos custos aos governos, que são multiplicados quanto menor for o peso da criança. Desta forma, a prevenção do nascimento de crianças prematuras e de baixo peso ainda seria a melhor forma de se reduzir ainda mais este problema de saúde pública.

O parto prematuro e/ou de baixo peso é tido como o maior problema em vários países do mundo e mesmo com a redução da mortalidade infantil após a implementação das unidades de terapia intensiva em hospitais, os índices de partos prematuros e de nascimento de crianças com baixo peso ainda são altos. 6% dos nascimentos de bebês no Reino Unido são de prematuros de baixo peso. Nos Estados Unidos em 1995, 7,3% dos nascidos vivos eram de peso abaixo de 2500 g. No mundo todo, cerca de 16% (mais de 200 milhões) de bebês nasceram

prematturos e de baixo peso no ano de 1986 (Dasanayake, 1998; Davenport *et al*, 1998; Hill, 1998).

De acordo com o Ministério da Saúde (2001), no Brasil em 1999, o número de nascidos vivos com baixo peso ao nascer foi de 7,7% dos nascimentos ocorridos. Este índice mantém-se próximo aos índices de países desenvolvidos.

Quando comparadas às crianças normais, crianças prematuras e/ou com baixo peso apresentam problemas de desenvolvimento neurológicos, problemas respiratórios, anomalias congênitas, além de problemas psicológicos e desordem de hiperatividade no déficit de atenção. Além disso, estas crianças que não morrem na infância, estão relacionadas quando adultas, às doenças cardíacas, a diabetes e a doença pulmonar obstrutiva (Dasanayake, 1998; Davenport *et al*, 1998).

Segundo Guyton & Hall (1997) e Offenbacher *et al* (1998a), logo após o nascimento, praticamente todos os sistemas e órgãos de um prematturo são imaturos, sendo que alguns são de fundamentais importâncias:

- respiração: o sistema respiratório no prematturo é extremamente subdesenvolvido. A capacidade de volume residual e vital dos pulmões é menor do que o necessário. A secreção do surfactante encontra-se deprimida ou ausente, sendo assim, a síndrome de angústia respiratória é freqüente nesses casos, levando ao óbito;
- função gastro-intestinal: quando a criança nasce prematura em mais de dois meses, o sistema digestivo e absorativo são inadequados. Dessa forma, a absorção de gordura e cálcio é extremamente dificultada, podendo levar ao raquitismo grave;
- função dos outros órgãos: imaturidade do fígado, causando um metabolismo intermediário deficiente. Imaturidade dos rins, dificultando a excreção de ácidos. Imaturidade do mecanismo hematopoiético da medula óssea, causando anemia repentinamente;
- instabilidade da temperatura corporal: nessas crianças, a tendência é que a sua temperatura fique entre 32,2 e 26,7° C. Estudos relatam que

temperaturas corpóreas mantidas abaixo de 35,5° C estejam associadas às altas incidências de mortes;

- cegueira causada pelo uso de oxigênio: como prematuros freqüentemente desenvolvem angústia respiratória, o oxigênio é implantado freqüentemente no tratamento desses bebês. Entretanto, se usado em quantidades elevadas, ele bloqueia o crescimento de novos vasos sanguíneos na retina. Quando oxigênio é interrompido, massas de vasos espalham-se e bloqueiam a luz da pupila para a retina. Ocorre então uma fibrose e a cegueira permanente. Essa situação é chamada de fibroplasia retrolenticular. Alguns estudos relatam que um prematuro estará seguro com uma dose de até 40% de oxigênio, baixando para os níveis normais.

São várias as causas que implicam em alterações no desenvolvimento e crescimento intra-uterino do feto e na duração da gestação. Segundo Kramer (1987); Dasanayake (1998) a ausência de cuidados pré-natais, fatores médicos, maternos, sócio-demográficos, educacionais, nutricionais entre outros, estão direta ou indiretamente associados a problemas durante a gravidez.

Offenbacher *et al* (1998a) reporta que a raça é um dos fatores de risco para o nascimento de prematuros de baixo peso. Segundo seu estudo, mães afro-americanas são mais susceptíveis a dar a luz a prematuros de baixo peso. Em 1991, nos Estados Unidos, o nascimento de prematuros de baixo peso foi de 13,6% de mães afro-americanas e de 5,8% de mães caucasianas. Crianças afro-americanas constituem cerca de 17% de todos os nascimentos e 33% dos prematuros de baixo peso e ainda, 38% dos prematuros de muito baixo peso. Alguns dados multifatoriais poderiam estar associados como as diferenças demográficas, o uso do cigarro e outras drogas ou medicamentos. Durante os primeiros anos após o parto, a mortalidade das mães afro-americanas supera as caucasianas, provavelmente por apresentarem maior predisposição à hipertensão, anemia, nível sócio-econômico mais baixo que o de outros grupos.

Outros fatores foram relatados como fatores de risco para gravidez adversa, entre eles, cigarro, álcool, raça afro-americana, primeira gestação,

gravidez múltipla, gestação de meninas, baixa estatura da mãe, baixo peso da mãe, pobre nutrição materna, pouca dilatação cervical, nascimento de prematuros de baixo peso prévios, doenças maternas, estresse, infecção fetal e uma variedade de desordens genéticas e metabólicas (Butler *et al*, 1972; Kramer *et al*, 1987; Alexander & Korenbrot, 1995).

Cerca de 20 a 25% das mulheres fumam durante a gravidez. Kleinman & Madans (1985) mostraram que o fumo interfere em 20 a 30 % dos nascimentos de prematuros de baixo peso e 10% dos fetos e crianças morrem. O fumo restringe ou retarda o crescimento fetal. É de 150g a 320g menor o peso de crianças nascidas de mães fumantes, quando comparadas às mães não-fumantes. Estudos realizados com mulheres que pararam de fumar durante a gestação mostraram baixos dados de nascimentos de prematuros de baixo peso.

Lifschitz *et al* (1983) citaram que o uso de drogas ilícitas durante a gravidez como a heroína e a cocaína também estão claramente associadas às alterações durante a gravidez. Retardo no crescimento fetal, morte perinatal, complicações placentárias, pressão sangüínea elevada e pré-eclâmpsia são observadas nesses casos.

De acordo com Guyton & Hall (1997), aproximadamente 4% das grávidas sofrem um rápido aumento da pressão arterial devido à perda de grandes quantidades de proteínas pela urina nos últimos meses de gestação. A esta condição, dá-se o nome de pré-eclâmpsia ou toxemia gravídica. Outros sintomas atribuídos a esta condição são a retenção de água e sais minerais, ganho de peso e edema, além de espasmos arteriais espalhados pelo corpo. O fluxo sangüíneo renal e a filtração são diminuídos, ocorrendo o contrario de uma gravidez normal. Esses sintomas agudos normalmente regridem após o nascimento do bebê, sustentando a teoria de auto-imunidade da presença do feto. A eclâmpsia é o extremo dos mesmos sinais e sintomas da pré-eclâmpsia, caracterizada por espasmos vasculares extremos, convulsões que podem chegar ao coma, débito renal muito diminuído, disfunção hepática, hipertensão extrema e toxicidade generalizada. Pacientes que não procuram atendimento imediato, freqüentemente

morrem. Porém quando utilizados vasodilatadores de ação rápida, além do parto de emergência, por cesariana, a mortalidade materna cai para 1%. Dessa forma, essa situação pode levar ao parto prematuro.

2.2 O PAPEL DAS INFECÇÕES NO TRABALHO DE PARTO

Juntamente com a evolução de diagnóstico e equipamentos médicos, novos estudos surgiram na tentativa de observar as complicações sistêmicas que poderiam induzir ao parto prematuro, sendo que vários comprovaram a associação de prematuridade às infecções.

Os lipopolissacarídeos (LPS) são componentes estruturais da parede celular das bactérias gram-negativas, freqüentemente encontradas nas infecções, inclusive nos microrganismos da doença periodontal (Hill,1998).

As citocinas estão presentes nas infecções bacterianas devido à estimulação dos macrófagos pelos lipopolissacarídeos. Entre as principais citocinas, o Fator de Necrose Tumoral- α (TNF- α) e a Interleucina 1- β (IL-1 β) destacam-se por aumentarem a produção de prostaglandinas e esta, em grandes quantidades, pode iniciar o trabalho de parto (Hill,1998).

Gibbs *et al* (1992) resumiram o papel das prostaglandinas no parto humano como:

- a administração de prostaglandinas resulta em aborto ou parto;
- tratamentos com inibidores de prostaglandinas podem levar controle do parto prematuro;
- o parto está associado com a elevação dos fluidos amnióticos e das concentrações de prostaglandinas no plasma materno;
- concentrações elevadas do ácido aracnóide, precursor da prostaglandina, são observadas no fluido amniótico no parto;
- a administração intra-amniótica do ácido aracnóide resulta em parto.

Kent *et al* (1993) avaliaram os efeitos da IL-1 β na produção de prostaglandinas nas membranas fetais humanas, tendo demonstrado que a IL-1 β é um potente estimulador da síntese de prostaglandinas pelas células decíduais e

pelo âmnion. A IL-1 foi a primeira citocina implicada ao parto na presença de infecção. Com esse trabalho, pôde-se afirmar que:

- IL-1 é produzida pelas células decíduais humanas em resposta aos produtos bacterianos;
- em pacientes com parto prematuro e bactérias na cavidade amniótica, a concentração e a bioatividade da IL-1 no fluido amniótico foram elevadas;
- a necrose placentária e a reabsorção fetal puderam ser induzidas em ratas, por injeções de IL-1 β em 12 dias de gestação;
- IL-1 β estimula a produção de prostaglandinas no âmnion e nas células decíduais *in vitro*.

Devido à semelhança de microflora anaeróbica mista e os mecanismos fisiopatológicos desencadeados pelas infecções gênitó-urinárias e pela doença periodontal, esta surgiu nas últimas décadas como um possível fator de risco para o nascimento de bebês prematuros e de baixo peso, de acordo com Collins *et al* (1994).

Kaga *et al* (1996) ao realizar estudos em animais confirmaram a possibilidade de indução ao parto pelos níveis elevados de lipopolissacarídeos circulantes. Eles administraram pequenas e repetidas doses de lipopolissacarídeos em ratas prenhes e obtiveram como resultado final à aceleração no processo de parto.

Katsuki *et al* (1997) em seu estudo com coelhas prenhes também observaram que após a administração de doses de lipopolissacarídeos, houve um aumento na intensidade das contrações uterinas.

Segundo Hill (1998) microorganismos patogênicos oportunistas são encontrados no trato genital feminino e podem causar várias infecções pélvicas e, aparentemente, uma indução ao nascimento de prematuros. A vaginose bacteriana é uma infecção relativamente comum, que ocorre em cerca de 10% de todas as grávidas, onde se apresentam espécies predominantemente gram-negativas anaeróbias na vagina. Entre a microflora local, encontra-se a

Gardnerella vaginalis, espécies primárias de anaeróbicos como *Prevotella sp*, *Porphyromonas sp*, *Bacteroides sp*, *Peptostreptococcus sp*, *Mobiluncus*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*. Esses microrganismos e seus produtos podem ascender da vagina ao cérvix, podendo levar à inflamação das membranas materno-fetais (corioamniotite). Penetrando nas membranas, eles podem aparecer no fluido amniótico e afetar os pulmões do feto e/ou envolver os tecidos placentários e resultar em exposição fetal. Mecanismos patogênicos atuam nesse processo inflamatório com a produção de prostaglandinas e citocinas.

Porém, Gibbs (2001) informa que muitos casos confirmados histologicamente de corioamniotite não estão associados a infecções ativas do trato gênito-urinário e os resultados de culturas são negativos, ambos indicam que a infecção local não é a única causa dessa condição. Através desses achados especula-se que infecções à distância do complexo placentário ou do trato gênito-urinário possam estar relacionados ao nascimento de prematuros de baixo peso, através da ação indireta da translocação de produtos bacterianos como as endotoxinas, especialmente os lipopolissacarídeos ou da ação dos mediadores maternos produzidos por mediadores inflamatórios, ou ambos.

Avitsur & Yirmiya (1999) demonstraram que mudanças no sistema imune, com a administração de LPS e IL-1, são capazes de suprimir o desejo sexual em ratas, mas não em ratos. Efeitos sinérgicos da IL-1 e TNF- α estão envolvidos com a modulação do desejo sexual em fêmeas doentes, alterando os níveis de prostaglandinas. Os autores sugerem que a redução do desejo sexual nas fêmeas durante a doença pode servir como um mecanismo para reduzir a concepção durante a infecção, como forma de evitar a exposição da mãe e do feto aos riscos de aborto espontâneo, parto prematuro e mortalidade materna.

2.3 RELAÇÃO ENTRE A DOENÇA PERIODONTAL E OS EFEITOS ADVERSOS NA GRAVIDEZ

2.3.1 ESTUDOS EXPERIMENTAIS

O ciclo estral das ratas dura em média entre 4 a 5 dias, sendo caracterizado por quatro fases, proestro, estro, metaestro e diestro. A distinção destas fases pode ser realizada através de análise dos tipos celulares presentes no esfregaço vaginal. Além disto, as fêmeas só são receptivas aos machos quando se encontram na fase estro do seu ciclo (Champlin & Dorr, 1973; Pass & Freeth, 1993; Marcondes *et al*, 2002).

De acordo com as definições de Bernardi (2002) a teratogênese é uma má-formação induzida por agentes patológicos, químicos e ambientais ao longo do desenvolvimento dos órgãos de um animal, que pode ser de natureza estrutural e/ou funcional, manifestando-se através de um defeito físico ou bioquímico. Um agente teratogênico não gera a anomalia mas aumenta a frequência com a qual ela ocorre. Altas doses de um agente teratogênico podem levar a uma grande perda celular, podendo produzir um retardo no crescimento fetal ou a embriofetividade (natimortos ou reabsorções).

Connor & Davis (1980) observaram numa pesquisa em fêmeas de ratos Long-Evans que assim como nos partos humanos, alterações nos níveis de progesterona e estrógeno são encontradas nesses animais, estendendo-se às variações desses níveis até 24 horas após o parto.

Lanning *et al* (1983) realizaram um estudo experimental em ratas, onde se comparou um grupo teste e um controle. No grupo teste, os autores fizeram a administração de LPS de *Escherichia coli* através de injeção endovenosa em ratas no 8º dia de gestação. De acordo com os resultados, foi observada restrição do peso fetal e aumento de fetos mal-formados, provindos justamente das ratas que receberam o LPS, quando comparadas às ratas do grupo controle.

Collins *et al* (1994a) afirmaram que a *Porphyromonas gingivalis* não é considerado um membro normal da flora bucal. Na primeira parte deste estudo os autores avaliaram as alterações dos níveis de PGE₂ e TNF- α em ratas não-prenhes que receberam quatro diferentes administrações de *Porphyromonas gingivalis*: controle (sem-bactéria), *Porphyromonas gingivalis* mortas, *Porphyromonas gingivalis* vivas e *Porphyromonas gingivalis* mortas inicialmente,

seguido de *Porphyromonas gingivalis* vivas 21 dias depois da primeira aplicação. Cada grupo foi constituído por 6 ratas. Num segundo tempo do estudo, as mesmas inoculações de *Porphyromonas gingivalis* foram feitas em ratas prenhes, desta forma compararam-se alterações entre os grupos prenhes e não-prenhes. Também foi observado alterações no peso fetal, embriofetalidade e percentagem de reabsorções. 15 dias após o dia 1 de gestação as ratas prenhes foram sacrificadas e avaliou-se o útero destas ratas. Os grupos prenhes ou não-prenhes que tiveram uma prévia exposição à *Porphyromonas gingivalis* mesmo mortas e posteriormente inoculação de *Porphyromonas gingivalis* vivas, apresentaram os maiores níveis de PGE₂ e TNF- α ao final do estudo. Além disso, os casos de restrição do crescimento fetal, embriofetalidade e reabsorções fetais foram maiores neste grupo de ratas prenhes. Os níveis de PGE₂ e TNF- α mais elevados foram associados estatisticamente ao baixo peso fetal e embriofetalidade.

Num segundo estudo, Collins *et al* (1994b) realizaram um estudo experimental no qual observaram que LPS de *Porphyromonas gingivalis* pôde induzir um retardo no crescimento fetal, morte fetal, reabsorções e mal-formações e que as características de doses-resposta são diferentes das para *Escherichia coli*. Os resultados foram observados em 18 ratas mães e 255 fetos. Injeções foram aplicadas com LPS de *Escherichia coli* e *Porphyromonas gingivalis* no dia 8 da gestação, sendo que filhotes de ratas que receberam aplicação de doses de *Escherichia coli* tiveram piores efeitos. Algumas ratas receberam LPS de *Porphyromonas gingivalis* antes do acasalamento e durante a gestação. Nestas ratas os efeitos de LPS de *Porphyromonas gingivalis* acabaram sendo comparáveis aos efeitos de LPS de *Escherichia coli*. Os autores concluíram que LPS de ambas as bactérias gram-negativas foram capazes de causar efeitos deletérios no desenvolvimento dos fetos levando ao aumento dos índices de morbidade e mortalidade fetal.

Shoji *et al* (2000) realizaram um estudo experimental para analisar o efeito da gravidez e da lactação sobre o osso alveolar em ratas alimentadas com diferentes níveis de cálcio. 62 fêmeas Wistar foram utilizadas. As fêmeas foram

divididas em três grupos e receberam dietas contendo 0,9% de cálcio (controle), 0,3% de cálcio (insuficiente) e 0,02% de cálcio (deficiente). Outra subdivisão foi feita, 17 animais formaram o grupo prenhez e 45, o grupo não-prenhez. A densidade do osso alveolar foi observada na região interdental entre os dentes primeiro e segundos molares mandibulares, através da variação da escala de cinza de micro-radiografias. De acordo com os resultados do estudo, em ambos os grupos prenhez e não-prenhez, a densidade do osso alveolar decresceu conforme as dietas de cálcio, e a extensão deste decréscimo foi significativamente maior no grupo de ratas grávidas ($p < 0.05$). sendo assim, os autores sugeriram que a prenhez e a lactação podem ser consideradas fatores de risco sistêmico para a perda óssea, principalmente em casos de deficiência de cálcio.

Galvão *et al* (2003) realizaram um estudo, no Brasil, a fim de avaliar a influência da periodontite induzida por ligaduras em ratas prenhes sobre a saúde geral dos neonatos. 24 ratas Wistar adultas foram divididas em 2 grupos, o grupo controle que consistiu de ratas prenhes, e o grupo teste, formado por ratas prenhes que receberam ligaduras de fio de algodão ao redor dos segundos molares superiores a fim de induzir a doença periodontal. O período de indução da doença foi de 30 dias, após o qual, as ratas foram colocadas para acasalarem com ratos machos. Os autores não observaram diferenças entre a taxa de ratos nascidos viáveis (GC 98,45% \pm 3,5, GT 98,90% \pm 3,62; $p=0.76$). Porém, foi encontrada diferença estatística entre o peso dos neonatos, sendo que isto foi atribuído à variação do tamanho das ninhadas ($p=0.05$). Desta forma, os autores concluíram que a doença periodontal induzida por ligaduras não se associou com o baixo peso ao nascer em ratos.

Yeo *et al* (2005) realizaram um estudo para determinar os efeitos da infecção em ratas prenhes do *Campylobacter rectus*. Para isto, os autores dividiram as ratas em 3 grupos, sendo um controle sem bactéria, e aplicaram diferentes concentrações da cultura da bactéria subcutaneamente (107 e 109 unidades formadoras de colônia/ml), na metade do tempo de prenhez. As fêmeas foram sacrificadas no dia próximo ao parto e os fetos foram avaliados para análise

do estágio de desenvolvimento, peso e altura. Os resultados indicaram que as fêmeas que receberam as bactérias tiveram mais reabsorção fetal do que o grupo controle (30.,% e 9% respectivamente). Além disso, houve maior restrição do crescimento fetal quando comparadas ao controle (21% e 2,3% respectivamente). O *C. rectus* foi detectado através de *Polimerase Chain Reaction* - PCR nas placentas de ambos os grupos teste. Desta forma, os autores concluíram que o *C. rectus* interferiu na restrição do crescimento fetal e nas reabsorções fetais após serem inoculados nas ratas prenhes.

2.3.2 ESTUDOS EM HUMANOS

Os hormônios sexuais produzidos em maior quantidade no período gestacional, em especial a progesterona, estimulam a síntese de prostaglandinas, além de induzirem à dilatação, aumento da permeabilidade e proliferação de capilares sangüíneos gengivais (Lindhe, 1999).

As alterações gengivais durante a gestação foram descritas mesmo antes de se conhecer as alterações hormonais na gravidez. Entretanto, os autores afirmam que a gravidez por si só não causa gengivite, mas assim como em mulheres não-grávidas, a causa se deve ao biofilme dental. O que ocorre é uma acentuação da resposta gengival da paciente perante a exposição aos patógenos periodontais. A evolução da chamada gengivite gravídica ocorre a partir do segundo mês gestacional, devido à superprodução de gonadotrofinas, aumentando progressivamente a sua incidência e severidade até o oitavo mês, quando os níveis de progesterona e estrogênio estão elevados, iniciando finalmente sua regressão a partir do nono mês (Løe & Silness,1963; Carranza & Newman,1997; Guthmiller *et al*, 2001).

As mudanças gengivais clínicas em grávidas incluem edema, eritema, sangramento aumentado, mobilidade dentária aumentada, e hiperplasias, principalmente da gengiva marginal que ocorre em quase todas as grávidas. Uma resposta localizada ainda mais exagerada pode ocorrer, levando a produção do granuloma piogênico ou tumor gravídico, que ocorre em cerca de 1,8 a 5% das

grávidas. Os autores afirmam ainda que estas alterações sejam resultados do complexo hormonal, imunológico, alterações na dieta e mudanças físicas que ocorrem durante a gravidez (Barak *et al*, 2003).

Da mesma forma que são observadas as influências da gravidez na doença periodontal, busca-se mais recentemente a influência que a doença periodontal pode causar na gravidez.

A prevalência da doença periodontal varia entre 10 e 60% em adultos, dependendo do critério de diagnóstico. Esta doença resulta na destruição inflamatória do ligamento periodontal e osso alveolar. A gengivite é um processo inflamatório limitado à gengiva marginal. Geralmente as doenças periodontais são de natureza crônica e podem persistir por vários anos. Estas doenças são resultantes da exposição do ligamento periodontal ao biofilme dental que se acumulam nos dentes formados por massas bacterianas que contem 2×10^{11} bactérias por grama próximo a gengiva marginal. As estruturas das placas dentais são complexas, com mais de 400 espécies bacterianas (AAP, 1998; Xiong *et al*, 2006).

A destruição periodontal é resultante da ação de vários produtos tóxicos relacionados aos patógenos da placa. A resposta inflamatória pode resultar em ulceração gengival ao redor do dente que pode ser uma porta de entrada de bactérias intactas e seus produtos como LPS, fragmentos de peptidoglicanas e enzimas hidrolíticas na circulação sistêmica. É fato que localmente a resposta frente à infecção periodontal resulta na produção de citocinas e mediadores inflamatórios, como as interleucinas e as prostaglandinas, bem como sistemicamente indução aos anticorpos séricos. Bacteremias transitórias podem ocorrer pelo simples processo mastigatório, escovação, uso de fio dental, provando que as bactérias periodontais têm grande acesso a corrente sanguínea. (AAP, 1998; Hill, 1998).

Davenport *et al* (1998) relatam que a proposta de relação entre a doença periodontal e o nascimento de prematuros e/ou de baixo peso estaria baseada nos casos de partos prematuros de baixo peso por infecções no trato

gênito-urinário, que não envolvesse necessariamente infecção na unidade feto-placentária. Baseia-se também na hipótese de que mediadores fisiológicos atuantes no parto, como a PGE₂ e TNF- α poderiam mostrar-se localmente elevados como resposta às mudanças microbiológicas da doença periodontal. No caso do TNF- α , níveis sistêmicos elevados são encontrados em pacientes com doença periodontal ativa.

Segundo McGaw (2002), os mecanismos biológicos envolvidos na ativação bacteriana de células de imunidade, como produtos das citocinas, entre eles a IL-1 e IL-6 e o TNF- α , além da síntese e da produção de PGE₂ de forma anormal, assim como ocorre num processo infeccioso, podem levar a indução ao parto adverso. Contudo, estudos histológicos comprovaram que a corioamniotite não está associada com infecção do trato gênito-urinário e resulta da cultura de bactérias gram-negativas. Isso implica em dizer que uma infecção distante desse complexo, pode resultar na translocação de produtos bacterianos como endotoxinas, principalmente LPS ou na ação de mediadores inflamatórios produzidos pela mãe, ou ambos. Nesse estudo, indica-se a hipótese da doença periodontal servir como uma reserva de produtos bacterianos, como os LPS, ou mediadores inflamatórios ou ambos, que podem ter um importante papel no desenvolvimento de prematuros de baixo peso. Após a avaliação de estudos em animais e clínicos o autor estabeleceu três hipóteses de relação entre a doença periodontal e a gravidez adversa:

- o primeiro mecanismo seria a translocação dos próprios patógenos periodontais para a unidade feto-placentária;
- outro mecanismo seria a ação da doença periodontal como reserva para LPS na unidade feto-placentária. O autor sugere que as bactérias anaeróbicas gram-negativas, responsáveis pela periodontite, ajam como uma reserva crônica de LPS que contribui para o nascimento de prematuros de baixo peso. Essa hipótese vem sendo suportada através de estudos experimentais em hamsters prenhes;

- o último mecanismo seria a ação de reserva da doença periodontal de mediadores inflamatórios, como IL-1, IL-6, TNF- α , PGE₂ para a unidade feto-placentária. Conforme estudos, essas citocinas podem penetrar na membrana fetal e, em altas concentrações podem influenciar no parto prematuro e de crianças de baixo peso. Altas taxas dessas substâncias são observadas no plasma de pacientes portadores de periodontite crônica.

Offenbacher *et al* (1996) investigaram a relação entre prematuros de baixo peso e doença periodontal materna, controlando os outros fatores de risco conhecidos. Nesse estudo caso-controle, 124 grávidas ou mães no pós-parto foram avaliadas, sendo que o grupo teste era composto por 93 mães de filhos com peso ao nascer < 2500 g e gestação < 37 semanas, ou com rompimento prematuro de membranas ou trabalho de parto prematuro. Já o grupo controle era composto por mães de recém-nascidos de peso normal. O estado de saúde periodontal foi avaliado em todas as 124 mulheres. Foram analisados nível de inserção clínica, profundidade de sondagem e sangramento à sondagem em seis sítios por dente. O limiar de perda de inserção clínica utilizado foi de ≥ 3 mm que refletiam mais a doença periodontal com perda de inserção. Observou-se que mulheres com evidência clínica de periodontite tem 7,9 vezes mais chance para todos os casos de nascimento de prematuros de baixo peso e 7,5 vezes mais chances de terem prematuros de baixo peso em gravidez de um único feto do que mulheres do grupo controle. Sendo assim, os autores concluíram que a doença periodontal é um fator de risco significativo para o nascimento de prematuro de baixo peso e como consequência o parto prematuro e o rompimento prematuro de membranas.

De acordo com Hill (1998), na presença da doença periodontal, patógenos oportunistas e/ou seus produtos inflamatórios também podem desenvolver a prematuridade via circulação sanguínea. *Fusobacterium nucleatum*, uma espécie oral comum, é freqüentemente isolada nas culturas do fluido amniótico no parto prematuro e membranas intactas. Prostaglandinas PGE₂ e PGF₂ e várias citocinas pró-inflamatórias, especialmente TNF- α , IL-1 β e IL-6, têm

sido observadas nos fluidos amnióticos de mulheres que tiveram partos prematuros. Cerca de 10 a 20% dos casos têm origem idiopática. O autor sugere que através da bacteremia, a doença periodontal causa nas pacientes, mesmo transitória, pode-se levar ao nascimento de prematuros de baixo peso.

Offenbacher *et al* (1998a) fizeram um outro estudo seccional com 48 mulheres tipo caso-controle, para determinar se mães de prematuros de baixo peso tinham níveis elevados de PGE₂ e IL-1 β no fluido crevicular gengival (GCF), quando comparadas às mães com partos normais. Concomitantemente, foram medidos ainda os níveis de quatro patógenos periodontais. O limiar como parâmetro do estado periodontal foi de ≥ 4 mm de perda de inserção. Os resultados indicaram que os níveis de IL-1 β e PGE₂ no GCF são significativamente mais altos em mães que tiveram nascimento de prematuros e/ou de baixo peso, quando comparadas às mães com nascidos com peso normal do grupo controle. Além disso, foi possível observar que nos casos de mães de prematuros e/ou de baixo peso, é inversamente proporcional à associação entre a idade gestacional e os níveis de PGE₂ no GCF. Esses dados sugerem que existe relação entre doença periodontal e o nascimento de prematuros de baixo peso. Os dados microbiológicos indicaram os quatro organismos associados com a maturação da placa e a periodontite, sendo *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e *Treponema denticola*, se apresentaram em altos níveis nas mães de prematuros e/ou de baixo peso, quando comparadas às mães de nascidos normais.

Offenbacher *et al* (1998b) informam que a doença periodontal é uma infecção composta por bactérias gram-negativas, podendo ter influência sobre a gravidez. Sabe-se claramente das possibilidades de bacteremias gram-negativas, especialmente nos casos de inflamação gengival. Neste estudo eles avaliaram os níveis de PGE₂ no GCF, verificando que esses dados foram bem maiores nos pacientes que tinham periodontite que aqueles com periodonto saudável. E após um mês de tratamento, os que tinham doença periodontal, baixaram drasticamente estes níveis, demonstrando ser um método eficaz para avaliação do

progresso da destruição periodontal. Os mediadores inflamatórios, como a PGE₂ além de estarem presentes na inflamação periodontal, também participam na regulação fisiológica do parto, bem como no parto prematuro patológico. Níveis de PGE₂ no fluido amniótico encontram-se estabilizados durante a gravidez até aumentarem na indução ao parto, com a dilatação cervical e contrações uterinas.

Dasanayake (1998) realizou um estudo seccional com o objetivo de determinar a associação entre o estatus da saúde oral de mulheres grávidas e o nascimento de crianças com retardo de crescimento intra-uterino, ou seja, crianças de baixo peso, porém não-prematuras, enquanto controlavam-se agentes que poderiam confundir os resultados. O estudo de caso-controle foi realizado, utilizando-se 55 casos e 55 controles, de uma amostra de 503 mães. Foram selecionadas para caso e controle, aquelas mães que tiveram gravidez parecidas, avaliando-se o número de gravidez anteriores, estado civil, número de crianças nascidas. O exame oral foi realizado de acordo com os critérios da organização mundial da saúde, usando-se o CPITN (Índice Comunitário de Necessidade de Tratamento Periodontal) e o DMFT (Dentes Perdidos, Restaurados e Cariados). Como resultados, o autor observou que não houve diferença significativa entre os dois grupos com relação ao índice de cárie dental. Entretanto, o número de sextantes sadios na boca, a altura materna e a ausência de assistência pré-natal foram tidos como fatores de risco independentes para o nascimento de bebês de baixo peso. Além disso, alguns fatores de risco conhecidos como cigarro, café e álcool não tiveram diferença significativa entre os grupos.

Davenport *et al* (1998) realizaram um estudo tipo caso-controle para observar a relação de nascimento de prematuros e de baixo peso e a doença periodontal materna. O grupo caso era composto por mães de prematuros de baixo peso e o grupo controle era formado por mães partos a termo. Foram avaliadas 800 mães, na proporção de 1:3 caso-controle. Foi realizado exame clínico utilizando-se o CPITN, numa primeira avaliação. Depois de selecionadas, um segundo exame foi realizado observando o índice de profundidade de sondagem e de sangramento a sondagem. A prevalência de prematuros e de

baixo peso durante o estudo foi de 4 %. Com base no CPITN, a prevalência de doença periodontal foi alta, sendo que 50% das mulheres estudadas possuíam escore CPITN = 4. Além disso, nenhuma delas estava livre de qualquer doença periodontal (CPITN = 0). Os resultados obtidos indicaram um risco relativo ≥ 3 para mães com doença periodontal apresentarem nascimento de prematuros de baixo.

No Brasil, Cardoso (1999) realizou um estudo caso-controle avaliando 287 grávidas entre 28^a e 32^a semana de gestação. Foram avaliados os níveis de inserção clínica, profundidade de sondagem, índices de placa e gengival. Os resultados indicaram que o grupo de mães de bebês normais apresentou maior média de perda de inserção clínica e profundidade de sondagem, porém não significativo. Quanto aos outros índices, nenhum se mostrou estatisticamente significativo. Dessa forma, a autora não encontrou relação entre doença periodontal de severidade baixa a moderada e nascimento de prematuros e/ou de baixo peso.

Barros & Moliterno (2001) fizeram uma revisão de literatura na tentativa de relacionar a doença periodontal e o nascimento de prematuros de baixo peso. Eles relatam que uma das explicações para essa possível relação seria que um periodonto infectado produz mediadores que vão para a circulação sistêmica e, eventualmente, podem atravessar a barreira corioamniônica sendo encontrados no fluido amniótico. Ao atingirem os níveis encontrados na época do parto normal, eles podem iniciar o trabalho de parto. Além disso, a doença periodontal apresenta alguns patógenos como o *Fusobacterium nucleatum* que pode ser encontrado no fluido amniótico em mulheres de trabalho de parto prematuro e membranas intactas. Os autores concluíram que de acordo com os estudos realizados, as infecções são fatores de risco para complicações que podem resultar no nascimento de prematuros de baixo peso, devido à resposta inflamatória materna que libera mediadores inflamatórios e estimulam o parto prematuro. Além disso, mães de prematuros de baixo peso têm um aumento significativo nos níveis de PGE₂ no fluido crevicular gengival e na microbiota da placa bacteriana. Há

semelhança entre as infecções anaeróbicas da vaginose e da periodontite e a resposta dos mediadores inflamatórios, o que poderia estimular o nascimento de prematuros em mães com doença periodontal. Eles ainda concluíram que são poucos e divergentes os resultados dos trabalhos já realizados para poder afirmar que a doença periodontal tem alguma relação com o nascimento de prematuros de baixo peso.

De acordo com Guthmiller *et al* (2001), mulheres grávidas são uma população de risco para inflamações sistêmicas. Um grupo mais preocupante ainda seria o de mulheres grávidas diabéticas. Neste estudo 33 grávidas, sendo que dessas, 13 são diabéticas. Grávidas diabéticas tiveram aumento significativo dos índices de placa, gengival, profundidade de sondagem. As complicações periodontais para pessoas diabéticas podem ser explicadas pelas alterações em vários parâmetros de resposta do organismo como defeitos funcionais dos leucócitos polimorfonucleares, alterações no metabolismo de colágeno e aumento da produção de citocina. As grávidas diabéticas são mais susceptíveis as infecções bacterianas, pelo controle dificultado da glicose no organismo. A hiperglicemia leva a infecções comuns como as do trato respiratório e urinário. Outros efeitos do descontrole do diabetes em grávidas, seriam a pré-eclâmpsia ou a eclâmpsia, dificuldade de dilatação, levando ao aumento do número de cesarianas. Ao feto, a diabetes descontrolada pode levar aos riscos de morte perinatal, morbidade neonatal, dificuldades respiratórias, aumento das anomalias, nascimento de prematuros e predisposição ao diabetes. A terapia antibiótica com doxiciclina associada à terapia mecânica resultou em sucesso para o tratamento da periodontite em diabéticos. Entretanto, a tetraciclina é contra-indicada durante a gravidez devido aos seus efeitos no desenvolvimento dentário do feto, não sendo possível o seu uso.

Num novo estudo, Dasanayake (2001) selecionou de um grupo de 448 mulheres afro-americanas homogêneas sócio-economicamente, sendo dessas, 17 casos de mães de prematuros de baixo peso e 63 mães controles, todas randomizadas, que foram avaliadas a partir do segundo trimestre da sua primeira

gravidez a fim de se relacionar os níveis de *Porphyromonas gingivalis* e IgG. Ao resultado final, foram observados que os níveis de *Porphyromonas gingivalis* e IgG foram elevados nos grupos de mães de nascidos prematuros de baixo peso quando comparadas ao grupo controle. Essa associação foi significativa, pois foram controlados o cigarro, idade, níveis de IgG para outros periodonto-patógenos e raça.

Jeffcoat *et al* (2001a) num estudo prospectivo avaliaram 1313 grávidas durante a 21^a e 24^a semana de gestação, realizando exames periodontais e médicos completos. Foram medidas a profundidade de sondagem, recessão gengival e calculada a perda de inserção em 6 sítios por dente. As pacientes foram classificadas em três grupos: periodontite (3 ou mais sítios com perda de inserção de 3 mm ou mais), doença periodontal generalizada (90 ou mais sítios com perda de inserção de 3 mm ou mais) e sem doença (menos que três sítios com 3 mm de perda de inserção). Após os ajustes para mães fumantes, raça, idade e paridade, o risco relativo aumentou em 4,45 para prematuridade antes da 37^a semana de gestação, 5,28 para partos antes da 35^a semana e aumentou em 7,07 para partos antes da 32^a semana de gestação em pacientes com periodontite generalizada. Esse estudo mostrou a importância de regulação do risco relativo para avaliação dos dados de partos prematuros e indicou aumento dos índices quando esse é ajustado. Além disso, demonstrou que existe relação entre a doença periodontal e nascimento prematuro. Ainda encontrou-se que pacientes afro-americanas tinham elevados índices de doença periodontal quando comparadas às caucasianas.

Louro *et al* (2001) também realizaram um estudo em humanos para avaliar a influência da doença periodontal sobre o parto prematuro de baixo peso. Para isto, o grupo 1 foi composto por 22 mães que deram a luz a prematuros de baixo peso e o grupo 2 foi formado 20 por mães de nascidos a termo. O exame periodontal completo foi realizado até três dias após o parto e avaliou-se presença de retração gengival, profundidade de sondagem, nível de inserção clínica. A extensão da doença periodontal foi avaliada através do número de dentes com

problemas periodontais (nível de inserção clínica excedendo 1 mm). A severidade foi calculada pela porcentagem de áreas examinadas que foram afetadas. De acordo com os resultados foi observada associação entre a doença periodontal analisada através do índice de severidade e nascimentos de prematuros de baixo peso ($p=0.006$). Após os ajustes para outras variáveis de risco como fumo, altura materna, bacteriúria, hipertensão previa, o risco relativo para doença periodontal foi de 7.2 ($p=0.176$).

Um novo estudo prospectivo realizado por Offenbacher *et al* (2001) ainda divulgando seus resultados parciais, avaliou as condições orais em 814 grávidas durante 5 anos, avaliando o possível risco de doença periodontal para o nascimento de prematuros e para a restrição do crescimento fetal. Os exames foram feitos até a 26^a semana de gestação e novamente no pós-parto imediato para observar as mudanças periodontais durante a gravidez. A doença periodontal foi classificada como saudável, leve ou moderada-severa. Somente 4,5% das mães que tiveram nascimento dos bebês a termo possuíam doença periodontal moderada-severa. Essa porcentagem aumentou conforme a idade gestacional diminuiu, ou seja, 18,5% dos partos com idade gestacional abaixo de 28 semanas foram de mães com doença periodontal moderada-severa. Quanto à prevalência de saúde periodontal no pré-parto, 25,9% eram mães saudáveis periodontalmente e que deram a luz a bebês com peso normal, esse número caiu para 4,3% para nascimento de bebês com peso inferior a 1,000 g. Para todos os valores, o risco relativo foi ajustado para fatores conhecidos, como idade, raça, fumo, estatus matrimonial, hábitos alimentares, vaginose bacteriana e corioamniotite. Mesmo com os resultados preliminares, os autores afirmam que a doença periodontal durante a gravidez esteve associada ao nascimento de prematuros e restrição do peso do feto.

Num estudo concomitante ao realizado por Offenbacher *et al* (2001), outra pesquisa vem sendo feita com a mesma amostra, por Madianos *et al* (2001), porém avaliando a resposta imune da mãe aos patógenos periodontais, medida através dos níveis de IgG materno e a possível relação com a prematuridade do

feto, avaliando os níveis de IgM do cordão umbilical do feto para 15 patógenos periodontais, comparando partos prematuros e a termo. Esses patógenos foram divididos em dois grupos e foram analisados os mais representativos, sendo eles, do complexo laranja (*Campylobacter rectus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus micros*, *Prevotella nigrescens*, *Prevotella intermedia*) e do complexo vermelho (*Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Treponema denticola*), sendo que o vermelho é composto por bactérias fortemente associadas à doença periodontal, enquanto o laranja, de bactérias moderadamente associadas à doença periodontal. Houve um aumento do risco relativo para 2,9 quando a prevalência de IgM no cordão fetal era soropositiva para um ou mais microrganismos de um dos dois complexos em bebês prematuros quando comparados aos nascidos a termo (19,9% contra 6,9%, respectivamente). A escassez de IgG da mãe para o complexo vermelho foi associada ao aumento da prematuridade (risco relativo de 2,2). Um aumento da prematuridade para 66,7% dos casos esteve relacionado a mães com ausência de IgG para o complexo vermelho combinado à resposta fetal de IgM apenas para o complexo laranja. Esses dados parciais indicam que possivelmente a doença periodontal sem uma resposta materna efetiva a seus patógenos, está associada à disseminação sistêmica desses microrganismos através da translocação resultando em prematuridade, especialmente quando o feto também não responde adequadamente aos microrganismos periodontais.

De acordo com Krejci & Bissada (2002) que realizaram uma revisão de literatura, eles encontraram em algumas literaturas que grávidas com periodontite têm 7,5 vezes mais chances de terem filhos prematuros com baixo peso. Eles concluíram que os dentistas podem assumir uma grande responsabilidade no que diz respeito à saúde de seus pacientes.

Yalcin *et al* (2002) relataram que os níveis de progesterona na corrente circulatória durante a gravidez estimulam a produção de prostaglandinas, especialmente PGE₂, que pode resultar em gengivite gravídica. A proposta do estudo foi de avaliar a influência da PGE₂ no tecido gengival em grávidas e

observar seus parâmetros clínicos. O estudo foi realizado clinicamente avaliando-se em 6 sítios por dente, o índice de placa, índice gengival, profundidade de sondagem, nível crevicular da PGE₂ no fluido gengival de 22 grávidas saudáveis com idade entre 23 e 36 anos, no primeiro, segundo e terceiro trimestre. A terapia periodontal inicial consistia em raspagem e alisamento radicular e orientação de higiene bucal no primeiro trimestre e reforçada a cada trimestre. Os resultados mostraram que a terapia periodontal melhorou a condição clínica inicial, houve também um decréscimo estatístico significativo nos níveis de PGE₂ no segundo e terceiros trimestre de gravidez acompanhados da terapia periodontal. Quanto ao índice gengival, entre o segundo e o terceiro trimestre, houve diferença significativa. Também houve diferença significativa para a avaliação de profundidade de sondagem entre o primeiro e segundo trimestres, e também entre o segundo e terceiro trimestres. Diferenças nos três trimestres foram observadas em relação à avaliação dos níveis de PGE₂ no GCF. Significante foi a variação ocorrida entre o segundo e terceiros trimestres após a terapia periodontal estabelecida. Entretanto, a correlação entre a concentração de PGE₂ e os parâmetros clínicos não foi significativa. Os dados mostraram que os níveis de PGE₂ podem ser usados para avaliar os níveis de inflamação gengival a fim de determinar os efeitos da terapia periodontal em grávidas. A terapia periodontal durante a gravidez pode auxiliar a prevenir a gengivite gravídica. A gengivite gravídica ocorre como um resultado dos altos níveis de progesterona circulante e tem como efeitos à dilatação de capilares, aumento da permeabilidade capilar e aumento de exsudato. Esses efeitos ocorrem por ação direta da progesterona nas células endoteliais na síntese de prostaglandinas.

Num estudo feito por López *et al* (2002a), foram comparadas de forma randomizada 400 mulheres, sendo que os critérios para inclusão eram ter idade entre 18 e 35 anos, primeira gestação, apresentar ao menos 18 dentes naturais na boca e apresentar doença periodontal. Além disso, anamnese médica foi realizada juntamente com o exame pré-natal, para evitar que outros fatores de risco para o nascimento de prematuros de baixo peso interferissem nos resultados. Para a

avaliação da doença periodontal, vários exames foram realizados, como o índice de higiene oral, inflamação gengival, profundidade de sondagem e nível de inserção clínica, realizados por dois periodontistas calibrados. A presença de quatro ou mais dentes com um ou mais sítios com profundidade de sondagem ≥ 4 mm e com perda de inserção clínica ≥ 3 mm caracterizavam doença periodontal. A terapia periodontal no grupo teste foi realizada através de instrução de controle de placa, raspagem e alisamento radicular. Além disso, ao início do tratamento foi indicado para todas as pacientes realizarem bochechos com clorexidina 0,12%. A terapia periodontal foi conduzida até a 28ª semana de gestação e a terapia de manutenção até 2 a 3 semanas após o parto. As grávidas do grupo controle foram apenas monitoradas a cada 4 a 6 semanas, avaliando-se as mudanças nas condições periodontais até a 28ª semana de gestação. Após as avaliações, os resultados foram que a incidência de prematuros de baixo peso foi de 1,84% no grupo teste e 10,11% no grupo controle após análise protocolar. Após ajuste de risco relativo, foi de 4,7 o risco de mulheres com doença periodontal darem a luz a prematuros de baixo peso. Os autores concluíram que a doença periodontal é um fator de risco independente ao nascimento de prematuros de baixo peso.

Um segundo estudo de López *et al* (2002b) avaliou 881 mulheres entre 18 e 35 anos, sendo que dessas, 618 tinham gengivite e 263 tinham doença periodontal. Desse total, 159 mulheres recusaram-se a receber tratamento periodontal durante a gravidez, mas concordaram em realizar um novo exame periodontal entre a 28ª e a 30ª semana de gestação. Foram analisados índice de higiene oral, inflamação gengival, profundidade de sondagem e nível de inserção clínica. A presença de 4 ou mais dentes apresentando 1 ou mais sítios com profundidade de sondagem de 4 mm ou mais, e com nível de inserção clínica com perda de 3 mm ou mais foram considerados como doença periodontal. Todas as outras mulheres que não apresentavam essas condições, mas que apresentavam eritema gengival ou sangramento à sondagem em mais que 25% dos sítios foram classificadas como portadoras de gengivite ou periodontite leve. 459 mulheres com gengivite receberam o tratamento que consistia em controle de placa e

raspagem supra e subgengival, sendo que a anestesia era utilizada quando necessária. Bochechos com clorexidina a 0,12% foram indicados para essas pacientes. 263 mulheres com doença periodontal receberam o tratamento durante a gravidez e foram monitoradas a cada 4 a 6 semanas durante a gravidez. A incidência de prematuros de baixo peso foi de 2,5% em mulheres com saúde periodontal e 8,6% em mulheres com doença periodontal. O risco relativo ajustado para mulheres com doença periodontal terem prematuros de baixo peso foi de 3,5.

Em outro estudo, Romero (2002) selecionou 69 mulheres que tinham controlado os fatores tradicionais de risco para prematuros de baixo peso, sendo que 13 delas eram periodontalmente saudáveis e 56 apresentavam vários estágios da doença periodontal. Foram selecionadas mulheres com idade entre 18 e 35 anos. Elas e seus recém-nascidos foram a amostra do estudo. A avaliação periodontal foi feita pelo índice de Russell e a avaliação nutricional dos bebês foi feita pelo índice de Lubchenco modificado. Os dados foram coletados após 48 horas do parto. Um mínimo de 28 dentes eram necessários por paciente e as medições foram feitas por um examinador e 2 colaboradores, todos treinados. Um decréscimo na média de peso e idade gestacional foi observada em mães com nível de doença periodontal elevada. Uma relação clínica significativa entre índice de Russel mais severo e o peso ao nascimento pôde ser relacionado. 24% das variações de baixo peso são esclarecidas nos efeitos de mães com doença periodontal, mas outros 76% não foram atribuídos a essa variável. Outra relação significativa entre severidade de doença periodontal e diminuição da idade gestacional foi observada. Ela indica que 36% são explicadas em mães com doença periodontal, mas restam 64%. A análise dos dados mostrou que uma relação significativa entre doença periodontal severa e baixo peso ao nascimento foi encontrada. Ainda outra relação foi observada entre doença periodontal severa e idade gestacional reduzida. Esse estudo sugere que a doença periodontal em grávidas pode significar um fator de risco para o nascimento de prematuros de baixo peso.

Já num novo estudo, Davenport *et al* (2002) relatam uma amostra de 236 casos para mães de prematuros de baixo peso e 507 controles, sendo mães de crianças de parto a termo e peso normal. Foram examinados os índices de sangramento, profundidade de sondagem e o CPITN realizado em cada dente. A média de idade do grupo caso e controle foi similar, sendo 26,7 anos para o grupo caso e 26,9 anos para o grupo controle. Com exceção de 5 mulheres, todas as outras apresentavam 21 ou mais dentes. Do total, 44% das mães apresentavam doença periodontal com pelo menos um sextante com CPITN = 4. Nos resultados, não houve diferenças significativas entre os dados encontrados nos grupos. De acordo com os autores, esse amplo estudo caso-controle não encontrou evidências entre a doença periodontal materna e o risco de nascimento de prematuros de baixo peso. Os autores consideraram que a população foi bem selecionada e o estudo foi randomizado. Eles afirmaram que os fatores conhecidos de risco foram bem controlados, como hipertensão, uso de cigarro e álcool e nascimento prévio de prematuros.

Teng *et al* (2002) realizaram uma revisão sobre a relação entre a doença periodontal e algumas desordens sistêmicas como *Diabetes mellitus*, pneumonia, problemas cardíacos e parto prematuro. Os autores afirmaram que a doença periodontal necessita ser vista não somente como uma resposta local, com sinais clínicos, mas como uma resposta imune e de mediadores inflamatórios. Segundo seus achados, uma nova era da medicina periodontal está começando, baseada em critérios moleculares que irão afetar o diagnóstico periodontal, assim como, o tratamento e a prática profissional dos periodontistas no futuro.

Goepfert *et al* (2004) fizeram uma pesquisa tipo caso-controle para estimar a relação entre a doença periodontal, parto prematuro e marcadores da inflamação do trato genital superior. O exame periodontal foi realizado em 59 mulheres que tiveram partos espontâneo prematuro antes de 32 semanas, 36 mulheres que tiveram partos prematuro por indicação médica antes de 32 semanas e 44 mulheres com parto a termo. De acordo com os resultados, a doença periodontal severa foi mais comum nas mães que apresentaram partos

espontâneos (49%), do que nos prematuros por indicação (25%, $p = 0.02$) e do que no grupo controle (30%, $p = 0.45$). Não houve associação entre histologia de pacientes com corioamniotite e doença periodontal. Os autores concluíram que mulheres com parto prematuro espontâneo tiveram doença periodontal mais severa. Porém a doença periodontal não foi associada com marcadores da inflamação do trato genital superior.

Lieff *et al* (2004) fizeram um estudo tipo coorte em 1224 mulheres grávidas, que foram avaliadas em dois tempos, antes de 26 semanas de gestação e após 48 horas pós-parto, para determinar as alterações da saúde bucal decorrentes da gravidez. Os dados foram comparados através do teste t e regressão logística foi utilizada para determinar fatores de risco para a doença periodontal. Entre 903 mulheres que completaram os exames pós-partos, houve significativo aumento na proporção de mulheres com quatro ou mais sítios com nível de inserção ≥ 2 mm, 3 mm e 4 mm ($p < 0.001$, 0.001, 0.05 respectivamente). Também houve um aumento significativo da proporção de mulheres com quatro ou mais sítios com profundidade de sondagem ≥ 4 mm e nível de inserção ≥ 2 mm ($p = 0.05$). Além disso, houve diminuição do índice de placa. Fumo, raça e uso de assistência pública foram significativamente associados à progressão doença periodontal. Os autores concluíram que houve um aumento da perda de inserção nas mulheres grávidas, o que sugeriu doença periodontal ativa. Por isso, devem ser intensos os cuidados com a higiene oral em grávidas.

Um estudo feito por Lunardelli & Peres (2005) no Sul do Brasil, avaliou a relação da doença periodontal com o nascimento de prematuros ou de nascidos de baixo peso. A amostra foi composta por 449 mães que foram avaliadas 48 h após o parto. Foram analisados o baixo peso ao nascimento, prematuridade e prematuridade e/ou baixo peso ao nascer. A doença periodontal foi definida como: (1) ao mesmo um sítio com bolsa periodontal ou (2) a presença de quatro ou mais sítios com bolsa periodontal. Os autores não encontraram qualquer relação entre a doença periodontal e o baixo peso ao nascer ou entre a prematuridade e/ou nascimento de baixo peso após os ajustes das variáveis interferentes. Bolsa

periodontal em pelo menos um sítio esteve relacionada à prematuridade (risco relativo de 2,6). Os autores concluíram que não houve associação entre a doença periodontal e o baixo peso ao nascer. E ainda, que uma relação entre bolsa periodontal e prematuridade foi encontrada, mas que haviam variáveis maternas de confusão de resultados.

Lopes *et al* (2005) também realizaram estudo no Brasil para relacionar a doença periodontal com o nascimento de prematuros de baixo-peso. Para isto, 40 mães foram divididas em 2 grupos, sendo o grupo teste formado por 20 mães de prematuros de baixo-peso e o controle formado por 20 mães de nascidos a termo. O exame periodontal foi realizado através do índice *Periodontal Screening and Recording* – PSR. Os resultados apontaram para a relação entre a doença periodontal e o nascimento de prematuros de baixo-peso, visto que o grupo teste apresentou 39,17% dos sextantes com bolsa periodontal entre 3,5 e 5,5 mm. Já o grupo controle apresentou mais sangramento à sondagem e ausência de bolsas periodontais em 37,5% dos sextantes ($p = 0.0494$). Porém no presente estudo a faixa etária avaliada foi entre 15 a 28 anos e outros fatores de risco para a prematuridade não foram investigados.

Rajapakse *et al* (2005) avaliaram 227 mulheres divididas em dois grupos. O grupo 1 foi formado por 66 mães “expostas” à doença periodontal, definidas como apresentando valores mais altos do que a média do total dos valores do estudo. O grupo 2 foi formado por 161 mães “não-expostas” à doença. O exame periodontal foi realizado no terceiro trimestre de gestação. Após o nascimento, os resultados identificaram que 7,5% dos partos foram de prematuros de baixo-peso e, destes, 12% pertenceram ao grupo “exposto”, enquanto 5,6% foram do grupo “não-exposto”. Após o ajuste para as variáveis independentes, o risco relativo foi de 1,9 para o grupo “exposto”. Os autores concluíram que os dados foram sugestivos de relação entre doença periodontal e o nascimento de prematuros de baixo-peso. Porém os autores alertaram para uma possível interferência de resíduos de confusão como o uso de tabaco, álcool ou drogas.

Noack *et al* (2005) investigaram a influência da doença periodontal sobre a prematuridade e baixo-peso na população germânica. O grupo caso foi composto por 59 mulheres com alto risco para prematuros de baixo-peso (apresentavam contrações prematuras). O grupo controle foi formado por 42 mulheres sem contrações prematuras durante a gravidez. A avaliação periodontal completa foi realizada, e amostras de placa subgengival foram analisadas através de PCR, bem como foram analisados os níveis de IL-1 β no fluido crevicular gengival. De acordo com os resultados, não foi encontrado altos índices de doença periodontal moderada a severa em ambos os grupos. O único parâmetro que apresentou tendência de aumento no grupo caso foi a média de IL-1 β no fluido crevicular gengival, porém sem diferenças estatísticas entre os grupos. Também não houveram diferenças significantes entre a presença de patógenos periodontais entre os grupos, sendo que em ambos, os níveis foram baixos. Desta forma, os autores concluíram que na população avaliada, a periodontite não foi um fator de risco para a prematuridade de baixo-peso.

Em um novo estudo, López *et al* (2005) observaram 834 mulheres grávidas para avaliar a influência da gengivite sobre o nascimento de prematuros de baixo-peso. O grupo tratamento foi composto por 553 grávidas que receberam tratamento periodontal antes de 28 semanas de gestação, enquanto o grupo controle foi formado por 281 grávidas que receberam tratamento periodontal somente depois do parto. A terapia periodontal foi constituída por controle de placa, raspagem e bochecho diário com clorexidina 0,12%. A terapia de manutenção foi realizada até 3 semanas antes do parto, através de instrução de higiene oral e remoção de placa supragengival por instrumentação, se necessário. O grupo controle apresentava índices estatisticamente significantes de histórico de prematuridade de baixo-peso prévio ($p = 0.009$). Os resultados mostraram que as mães do grupo controle apresentaram significativa incidência de parto prematuro (5,65%) quando comparados ao grupo tratado (1,42%, $p = 0.001$). Com relação ao baixo peso ao nascer, não houve diferenças estatísticas entre os grupos. A incidência de prematuros de baixo-peso foi mais elevada no grupo controle

(6,71%) do que no grupo tratado (2,14%, $p = 0.002$). Após os ajustes de variáveis, o índice relativo foi de 2,76 para parto prematuro e de baixo-peso relacionado à gengivite. Os autores concluíram que a gravidez associada à gengivite foi um fator de risco independente para o nascimento de prematuros de baixo-peso.

Jarjoura *et al* (2005) fizeram uma pesquisa para a análise da relação entre os parâmetros clínicos, microbiológicos e marcadores sorológicos (IgG) periodontais e parto prematuro. Os exames periodontais foram realizados após 48 h do parto. O grupo caso foi composto por 83 mulheres que deram a luz a prematuros. O grupo controle foi formado por 120 mulheres de nascidos a termo. Os resultados mostraram que as mães do grupo caso apresentaram maior perda do nível de inserção e alta prevalência de periodontite (30,1%) do que o grupo controle (17,5%, $p = 0.027$). Não foi encontrada diferenças significativas entre os grupos para os níveis microbianos, bem como para os níveis de IgG materno. Os autores ainda informaram que pacientes portadoras de corioamniotite não foram excluídas do estudo, e algumas destas necessitaram fazerem uso de ampicilina durante a gravidez, podendo ter influenciado nos resultados microbiológicos. Os autores concluíram que a periodontite foi um fator independente associado com o parto prematuro de baixo-peso.

Marin *et al* (2005) avaliaram a influência da doença periodontal sobre o nascimento de baixo-peso. Para isto, 152 mulheres grávidas foram divididas em 3 grupos: grupo saudável ($n = 38$), grupo gengivite ($n = 71$) e grupo periodontite ($n = 43$). Os exames periodontais foram feitos no segundo trimestre de gestação para a definição dos grupos. Ao nascimento, as crianças foram pesadas para análise. A incidência de prematuridade foi de 5,3% e de baixo-peso foi de 4,6%, sendo que 25% dos conceptos de baixo-peso foram prematuros. A altura das mães foi relacionada ao baixo-peso ao nascer ($p = 0.03$). O sangramento à sondagem relacionou-se estatisticamente com o baixo-peso ao nascer ($40,2 \pm 21.8\%$) quando comparado aos neonatos com peso normal entre 2500-3400g ($18,6 \pm 15,1\%$) e ≥ 3500 g ($17,1 \pm 16,1\%$) ($p = 0.009$). Desta forma os autores concluíram que a

doença periodontal em mulheres caucasianas e com idade acima de 25 anos esteve estatisticamente associada a redução do peso ao nascer.

Um novo estudo realizado por Boggess *et al* (2005) foi realizado para avaliação da resposta fetal aos patógenos periodontais e o risco de parto prematuro. 640 amostras de sangue de cordões umbilicais foram coletadas. Os níveis de proteína C-reativa, IL1 β , IL-6 TNF- α , PGE₂ e IL-8 foram analisados através do teste ELISA. Além disso, a presença da IgM fetal para ao menos 1 patógeno periodontal também foi analisada através de PCR. Neste estudo, foram considerados prematuros, os bebês nascidos < 35 semanas. Dos 640 nascimentos, 48 (7,5%) foram prematuros. A exposição fetal aos patógenos orais, evidenciada pelo aumento de IgM, esteve associada com o parto prematuro < 35 semanas. Ademais, fetos com altos níveis de TNF- α ou IL-8 também tiveram aumento de risco para o parto prematuro, independente da resposta fetal.

Moore *et al* (2005) realizaram um estudo caso-controle para investigar uma associação entre efeitos adversos da gravidez e doença periodontal. 93 mulheres constituíram o grupo controle enquanto 61 fizeram parte do grupo caso. As pacientes foram analisadas periodontalmente, 5 dias após o parto, em alguns dentes somente. Os autores não observaram diferenças entre higiene oral, sangramento à sondagem ou perda de inserção clínica entre os grupos. Desta forma, os autores não encontraram relação entre doença periodontal e adversidade na gravidez nesta população.

Contreras *et al* (2006) sugeriram em seu estudo que uma infecção crônica subclínica poderia aumentar os níveis das citocinas maternas que afetariam as funções endoteliais vasculares, podendo levar à pré-eclâmpsia. Por isso, os autores realizaram uma análise da relação da doença periodontal e o aumento dos índices de pré-eclâmpsia em 373 mulheres grávidas, encontrando significativa associação entre as doenças. Mulheres que apresentaram pré-eclâmpsia tiveram maiores níveis das bactérias *P. gingivalis*, *T. forsythensis* e *E. corrodens* ($p < 0.01$) do que as mulheres do grupo controle (grávidas sem pré-eclâmpsia).

Bosnjak *et al* (2006) fizeram um estudo caso-controle para avaliar a relação entre doença periodontal e o parto prematuro de baixo-peso. O grupo caso foi constituído por 17 mães de prematuros de baixo-peso, enquanto o grupo controle foi composto por 64 mães de nascidos a termo. O exame periodontal completo foi realizado em todas as mães 2 dias após o parto. Como resultado os autores observaram que a doença periodontal foi mais grave nas mães do grupo caso ($p = 0.008$). Após o controle das outras variáveis interferentes, a média causal para a doença periodontal foi de 8,13 para o grupo prematuro, indicando que a doença periodontal é um fator de risco independente para a prematuridade de baixo-peso.

Boggess *et al* (2006) realizaram uma pesquisa em 1017 mulheres com o intuito de avaliar se a doença periodontal está associada com o parto prematuro de baixo-peso. De acordo com os critérios clínicos, o grau de severidade da doença periodontal foi classificado como leve, moderado ou severo. 67 mulheres (6,6%) tiveram partos de prematuros de baixo-peso. 143 (14,3%) apresentaram doença periodontal moderada ou severa. Os partos prematuros aconteceram em maior número entre as mães com doença periodontal moderada ou severa do que em mães saudáveis (13,8% versus 3,2% versus 6,5%, $p < 0.001$). Sendo assim, os autores concluíram que a doença periodontal moderada a severa teve associação com o parto prematuro de baixo-peso, com risco relativo de 2,3 após os ajustes de outras variáveis interferentes.

Skuldbol *et al* (2006) avaliaram as diferenças entre a severidade da doença periodontal e a microbiologia subgingival e suas influências sobre o parto prematuro. Para isto, participaram do estudo 21 mães de crianças nascidas antes de 35 semanas e 33 mães de nascidos a termo, consideradas as crianças nascidas entre 38 a 41 semanas. O exame periodontal foi realizado em 6 dentes, através do índice de placa, profundidade de sondagem e sangramento à sondagem. Também foi realizado exame radiográfico, através de 2 radiografias *bite-wings* para avaliação da destruição óssea entre a junção cimento-esmalte e a cortical óssea interproximal dos molares. A coleta microbiológica foi feita com

cones de papel e posterior análise dos microrganismos através do PCR. Nenhuma das medidas periodontais resultou em associação com o parto prematuro. Com relação à contagem microbiológica, também não houve relação. Os autores afirmaram que a amostra resultou em poucos casos de periodontite e que, talvez por isto, não conseguiram encontrar associação entre a doença periodontal e o parto prematuro.

Wood *et al* (2006) fizeram um estudo tipo caso-controle avaliando 3 grupos. O grupo caso foi composto por 50 mulheres que tiveram partos prematuro depois de 35 semanas. O grupo controle 1, foi formado por mães com parto a termo e o grupo controle 2, mães com parto entre 22 e 35 semanas. O total de mulheres dos grupos controle 1 e 2 foi de 101 mães. O exame periodontal completo foi realizado entre 2 e 28 dias após o parto, juntamente com a coleta do fluido crevicular gengival para avaliação das enzimas bacterianas. Os autores não encontraram diferenças entre a perda clínica de inserção periodontal ≥ 3 mm entre os grupos. Foi encontrada aumento da elastase no fluido crevicular gengival em pacientes do grupo caso ($p = 0.007$). Como conclusão, não houve evidência clínica de associação entre a doença periodontal e o parto prematuro. Também se concluiu que o aumento da elastase no fluido crevicular gengival foi associado ao parto prematuro, porém foi necessário assumir que isto pode ter sido uma relação causal.

Radnai *et al* (2006) fizeram um estudo caso-controle para avaliação da periodontite inicial crônica localizada atuando como fator de risco para o parto prematuro e restrição do crescimento fetal. O grupo caso foi constituído por 77 mulheres que tiveram ruptura de membrana prematuramente ou parto prematuro e/ou baixo peso fetal. O grupo controle foi formado por 84 mulheres com parto a termo e peso do recém-nascido ≥ 2500 g. O exame periodontal completo foi realizado 3 dias após o parto. Foram consideradas com periodontite ativa, mães com profundidade de sondagem ≥ 4 mm em pelo menos 1 sítio e sangramento à sondagem em $\geq 50\%$ dos dentes. Destas, 39 (68,4%) faziam parte do grupo caso e, 18 (31,6%) do grupo controle ($p = 0.0001$). O risco relativo para periodontite

inicial crônica localizada foi de 3,32 e a média do peso dos filhos de mães com periodontite foi significativamente menor do que dos filhos de mães sem doença (2834,5 g e 3180,3 g, respectivamente) ($p = 0.002$). Desta forma, dos autores concluíram que a periodontite inicial crônica localizada esteve relacionada à gravidez adversa, parto prematuro e restrição do crescimento fetal.

Urbán *et al* (2006) fizeram um trabalho a fim de investigar alguma relação entre o estado da doença periodontal, a composição da microflora na doença periodontal e o parto prematuro. Neste trabalho, 161 mães foram avaliadas 3 dias após o parto, através de exame periodontal completo e coleta da microflora subgengival com cones de papel. O grupo caso, foi formado por 77 mulheres, as quais tiveram partos prematuro. O grupo controle foi composto por 84 mulheres com parto a termo. 50,6% das mães do grupo caso apresentaram profundidade de sondagem ≥ 4 mm em pelo menos 1 sítio e sangramento à sondagem em $\geq 50\%$ dos dentes. Porém, no grupo controle, isto se deu em 21,4% das mães avaliadas ($p = 0.001$). Os periodontopatógenos *T. forsythensis*, *F. nucleatum*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* foram encontrados em níveis mais elevados entre mães do grupo caso do que mães do grupo controle ($p < 0.001$). De acordo com estes resultados, os autores concluíram que a cultura microbiológica revelou uma possível associação entre periodontite e parto prematuro. Além disso, mães de parto prematuro e/ou baixo peso apresentaram sintomas clínicos mais severos da doença periodontal.

3 PROPOSIÇÃO

Este estudo tem como proposta:

- avaliar a influência da prenhez sobre a severidade da doença periodontal induzida, através de histometria da perda óssea mandibular, entre os grupos estudados;
- avaliar a influência da doença periodontal induzida em ratas e seus efeitos sobre a prenhez, os neonatos, a prematuridade e o nascimento de baixo peso.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA

Para este estudo foram utilizados, 46 ratos adultos, do sexo feminino, da raça Wistar, com peso inicial entre 150 g e 250g e idade mínima de 30 dias para adaptação e climatização no biotério. Estes animais foram produzidos no CEMIB – Centro Multidisciplinar de Investigação Biológica. As fêmeas adultas foram mantidas no biotério da Faculdade de Odontologia de Piracicaba/Unicamp, em gaiolas plásticas com acesso à ração para animais de laboratório (Labina; Purina, SP, Brasil) e água *ad libitum*.

Todos os procedimentos executados estavam de acordo com as normas éticas regidas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), sob a aprovação da Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA) do Instituto de Biologia da Unicamp, com o protocolo número 813-1/2005 (protocolo anexo).

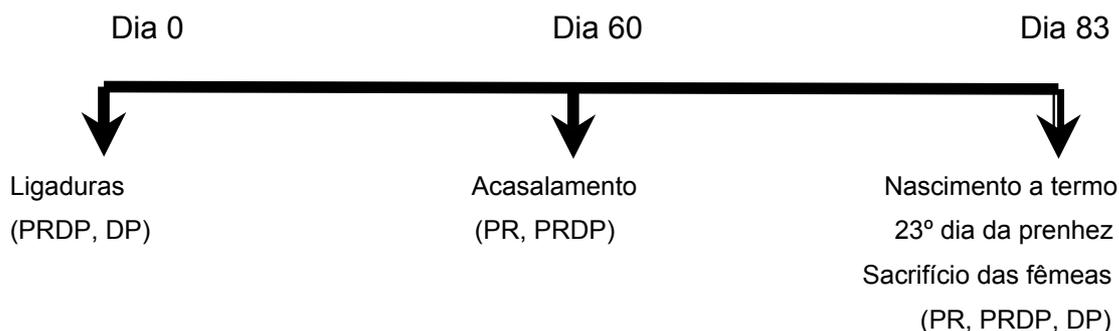
4.2 CONSTITUIÇÃO DOS GRUPOS

Ao longo de todo o estudo, os animais foram mantidos sob as mesmas condições ambientais e foram divididos aleatoriamente em três grupos:

- Grupo prenhez (PR): indução à prenhez (n=16);
- Grupo prenhez + doença periodontal (PRDP): indução de doença periodontal e indução à prenhez (n = 21);
- Grupo doença periodontal (DP): indução de doença periodontal (n = 09).

4.3 DESENHO EXPERIMENTAL

O desenho esquemático abaixo, apresenta a ordem cronológica de procedimentos realizados nas ratas, após o período de adaptação inicial no biotério, a partir do dia de colocação das ligaduras de algodão (dia 0).



4.4 INDUÇÃO À DOENÇA PERIODONTAL EXPERIMENTAL

Nos grupos PRDP e DP, a doença periodontal foi induzida através de amarrias de fios de algodão (Nociti Jr *et al*, 2000). Para isto, os animais foram inicialmente pesados para o cálculo da correta dosagem do anestésico geral a ser administrado. A anestesia intraperitoneal foi realizada com solução final de cloridrato de xilazina 2% (2mg/ml) (Rompum – Bayer Animal Health) e cloridrato de ketamina 10% (10 mg/ml) (Dopalen – Agribands – Brasil Ltda).

Após a anestesia, as fêmeas foram posicionadas em aparato de Doku modificado (Doku *et al*, 1966), no qual a boca do animal foi mantida aberta por meio de bandas elásticas presas aos incisivos inferiores e a língua tracionada com o auxílio de um fio de algodão espesso (fig. 1). Inicialmente, 06 ligaduras de fios de algodão (Corrente Algodão nº 10; Coats Corrente, SP, Brasil) foram colocadas pelo espaço interproximal (fig. 2), em torno dos primeiros e segundos molares superiores e primeiros molares inferiores, bilateralmente (06 dentes), no nível do sulco gengival, com o objetivo de favorecimento de acúmulo de biofilme nos fios (fig. 3 e 4).

A colocação das amarrias foi feita 60 dias antes do acasalamento para que ocorresse o desenvolvimento da periodontite crônica (Sallum, 1982). Somente

após este período, as ratas dos grupos PR e PRDP foram induzidas à prenhez, porém as ligaduras não foram removidas até o final do estudo, sendo que a presença das ligaduras foi verificada mensalmente até o sacrifício das fêmeas adultas, para evitar o estresse, fator de risco para os efeitos adversos na gravidez (Kramer *et al*, 1987; Ofenbacher *et al*, 1998; Williams *et al*, 2000).

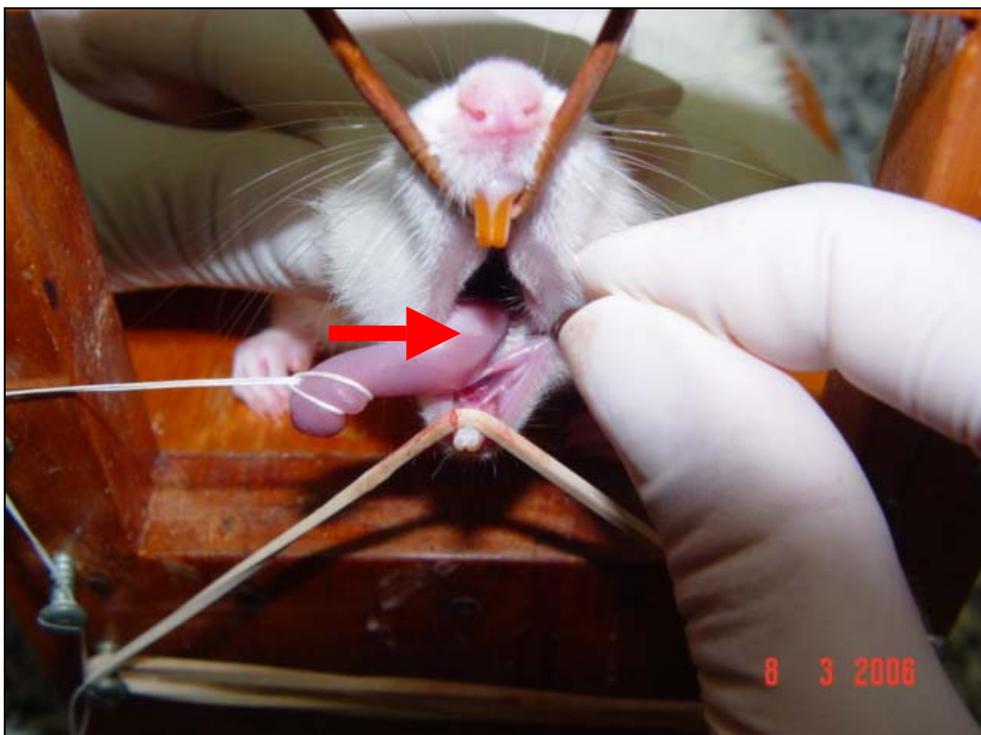


Figura 1. Rata posicionada em Aparato de Doku para a colocação das ligaduras nos molares inferiores. O aparelho mantém a língua da ratas afastada e a boca aberta através de fios elásticos. Colocação de lima endodôntica adaptada para realizar o afastamento dos molares.

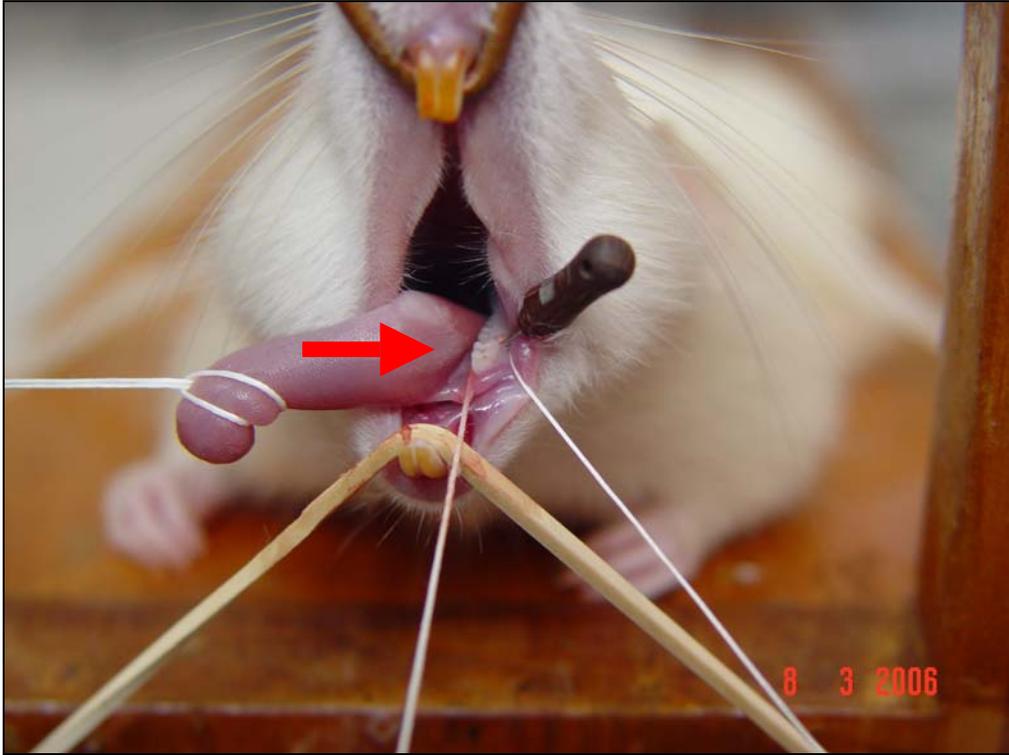


Figura 2. Rata posicionada em Aparato de Doku para a colocação das ligaduras nos molares inferiores. O aparelho mantém a língua da ratas afastada e a boca aberta através de fios elásticos. Lima endodôntica posicionada e penetração do fio de algodão na região interdental.

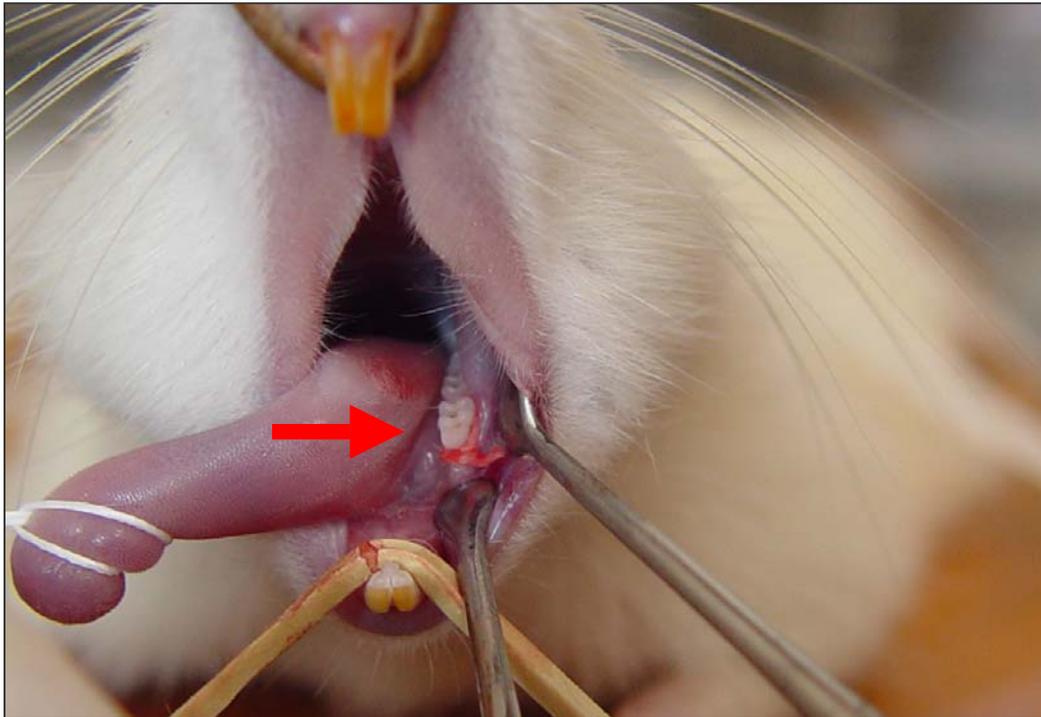


Figura 3. Rata posicionada em Aparato de Doku para a colocação das ligaduras nos molares inferiores. Aspecto final da ligadura posicionada.

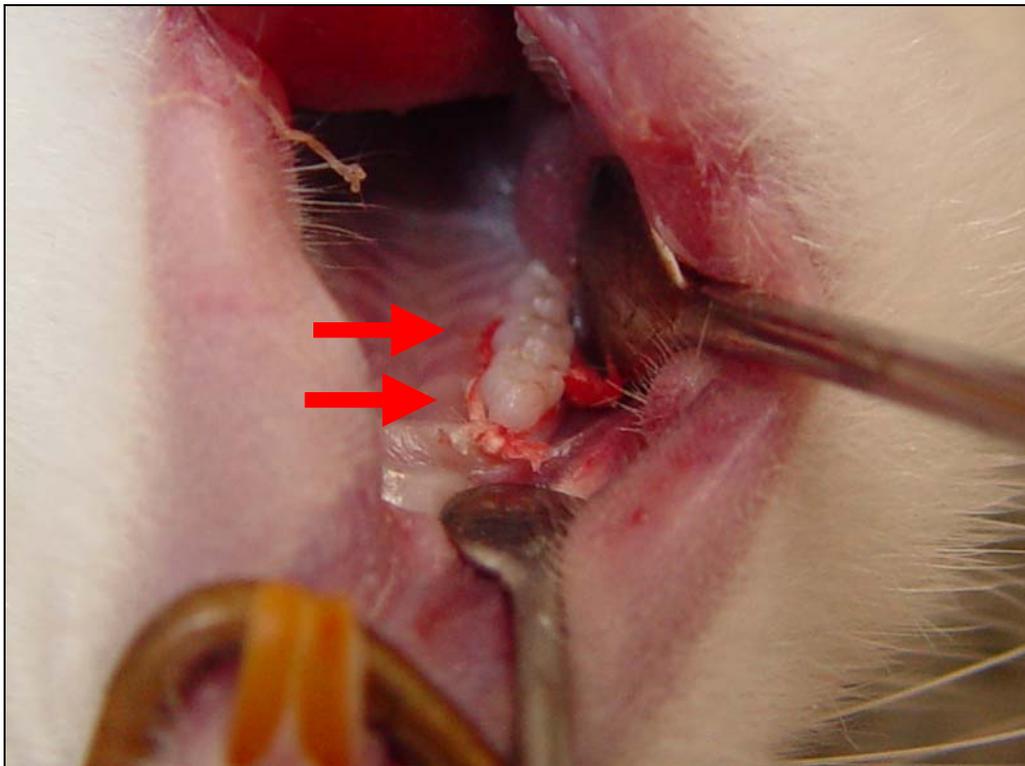


Figura 4. Rata posicionada em Aparato de Doku para a colocação das ligaduras nos molares superiores. Aspecto final das ligaduras nos molares superiores.

4.5 INDUÇÃO À REPRODUÇÃO E DESENVOLVIMENTO ONTOGENÉTICO

Para a etapa de acasalamento, 23 ratos machos foram utilizados, pesando entre 250 g e 350 g. Durante o período de acasalamento, os machos permaneceram nas gaiolas de acasalamento (fig. 5), com as fêmeas do grupo prenhez e prenhez + doença periodontal, até a confirmação da cópula, através de lavagem vaginal e observação citológica da presença de espermatozoides (Pass & Freet, 1993). Nenhum dos ratos – machos e fêmeas – havia copulado anteriormente.

A secreção vaginal foi coletada com uma ponteira de micropipeta adaptada a um dispositivo de silicone e uma pequena quantidade de solução salina (NaCl 0,9%) (fig. 6). Esta secreção foi colocada em lâminas para avaliação microscópica, sendo que esta foi realizada através da visualização a fresco do

material coletado com uma objetiva microscópica de aumento em 10x (Marcondes *et al*, 2002) (fig. 7, 8, 9). Após a confirmação microscópica da presença de espermatozoides (dia 1 da gestação), as fêmeas que se encontravam prenhes foram direcionadas para gaiolas individuais até o final da prenhez e nascimento das proles.



Figura 5. Rata colocada em gaiola de acasalamento com o rato macho.



Figura 6. Material utilizado para coleta da secreção vaginal das ratas.



Figura 7. Método ideal de apreensão das ratas para realizar a coleta do material vaginal.



Figura 8. Realização da lavagem através da inserção delicada da ponteira de micropipeta adaptada a um dispositivo de silicone e pequena quantidade de NaCl 0.9%.

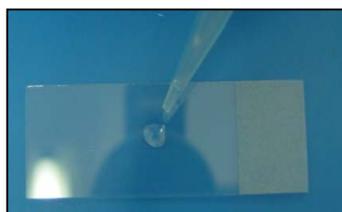


Figura 9. Secreção sendo colocada em lâmina para avaliação microscópica a fresco, com objetiva microscópica de aumento em 10x, para a confirmação microscópica da presença de espermatozoides.

4.6 MONITORAMENTO E COLETA DE DADOS

Neste estudo, os grupos foram avaliados da seguinte forma:

- Peso de cada neonato ao nascimento.
- Determinação do gênero do neonato e quantidade de filhotes por ninhada.
- Quantidade de filhotes por ninhada.
- Avaliação do tempo da prenhez de cada prole.
- Após o nascimento das proles, as fêmeas adultas foram sacrificadas, para análise histométrica das regiões de furca dos primeiros molares inferiores.

4.7 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

As fêmeas adultas dos grupos PR e PRDP foram sacrificadas após o nascimento das proles através de anestesia intraperitoneal com solução final de cloridrato de xilazina 2% (2mg/ml) (Rompum – Bayer Animal Health) e cloridrato de ketamina 10% (10 mg/ml) (Dopalen – Agribands – Brasil Ltda), seguida de perfusão cardíaca com formol a 4% em tampão fosfato (pH 7,2 – 7,4). As fêmeas do grupo DP foram sacrificadas 83º dia após o início do estudo, a fim de apresentarem o mesmo tempo de desenvolvimento da doença periodontal induzida, do que as ratas do grupo PRDP, seguindo o mesmo protocolo de anestesia e perfusão. As mandíbulas foram dissecadas, divididas e processadas através de fixação em formol a 4% em tampão fosfato (pH 7,2 – 7,4) por 48 horas. A descalcificação foi realizada por meio de EDTA, renovada a cada dia durante 60 dias. Após este período, o osso foi desidratado em álcool absoluto, diafanizado em xilol e incluído em parafina. Secções seriadas de parafina (6 µm de espessura) foram obtidas na direção méso-distal e dispostas em lâminas, posteriormente, coradas com hematoxilina e eosina para posterior processamento histométrico (fig. 10, 11, 12).



Figura 10. Exemplo de corte histológico do grupo prenhez (PR) – aumento de 10x.

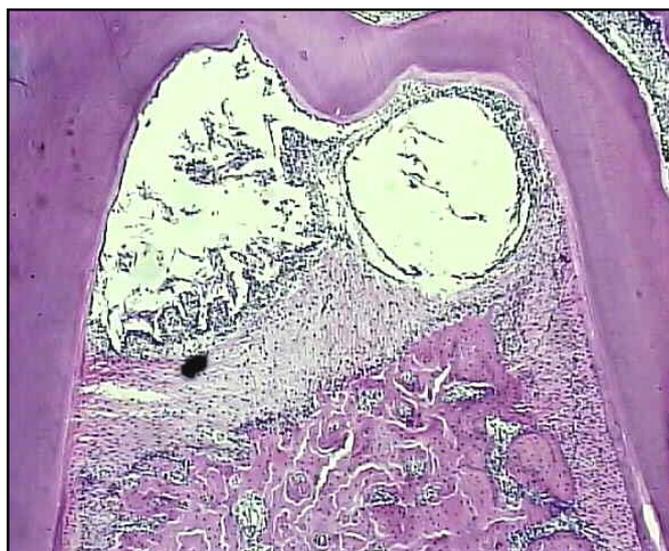


Figura 11. Exemplo de corte histológico do grupo prenhez + doença periodontal (PRDP) – aumento de 10x.

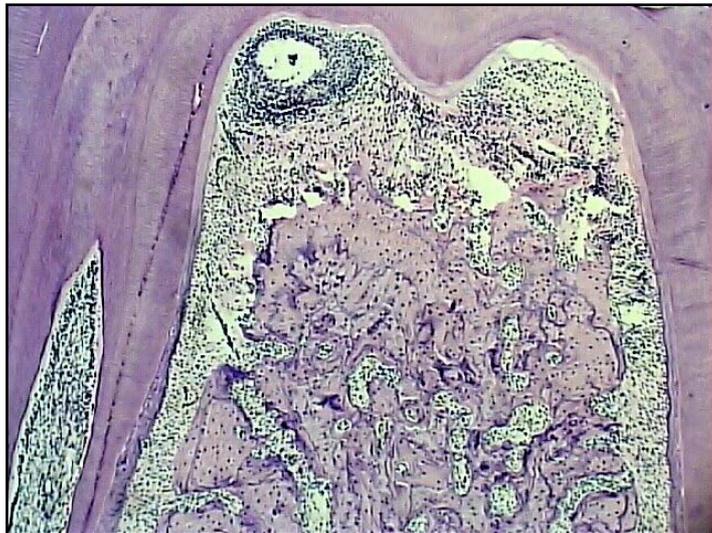


Figura 12. Exemplo de corte histológico do grupo doença periodontal (DP). – aumento de 10x.

4.8 PROCESSAMENTO HISTOMÉTRICO

O volume da perda óssea inter-radicular na região de bifurcação foi determinado conforme o princípio de Cavalieri (Gundersen & Jensen, 1987; Gundersen *et al*, 1999). Os cortes seriados méso-distalmente da região de bifurcação, com 6 μm , a partir da tábua óssea vestibular até o término da raiz lingual, foram digitalizados e analisados com o auxílio de um programa para análise de imagens através do sistema de pontos de um retículo quadriculado (Image Pro®, Media Cibernetics, Silver Spring, MD, EUA). A mensuração foi obtida através da área de tecido conjuntivo proveniente da destruição do tecido ósseo na região de bifurcação dos dentes e o número mínimo de pontos por cortes foi calculado pela fórmula: $\text{perímetro}/\sqrt{\text{área}}$ e o monograma de Gundersen & Jensen (1987). De acordo com o coeficiente de erro a ser calculado, o número de pontos poderia ser ampliado conforme as recomendações de Gundersen *et al* (1999). O retículo foi posicionado incluindo sempre a dentina coronária e radicular e o tecido ósseo, computando-se os pontos que coincidissem com o tecido conjuntivo presente na região de bifurcação em consequência da perda de

inserção periodontal na região inter-radicular (fig. 13). O volume foi calculado através da fórmula:

$$V = t \cdot \sum_{i=1}^{m-1} a_i$$

Sendo que “t” representa a distância ente os cortes (incluindo a espessura do próprio corte), “m” o número de cortes por espécimes e “ai” representa a área mensurada em cada corte.

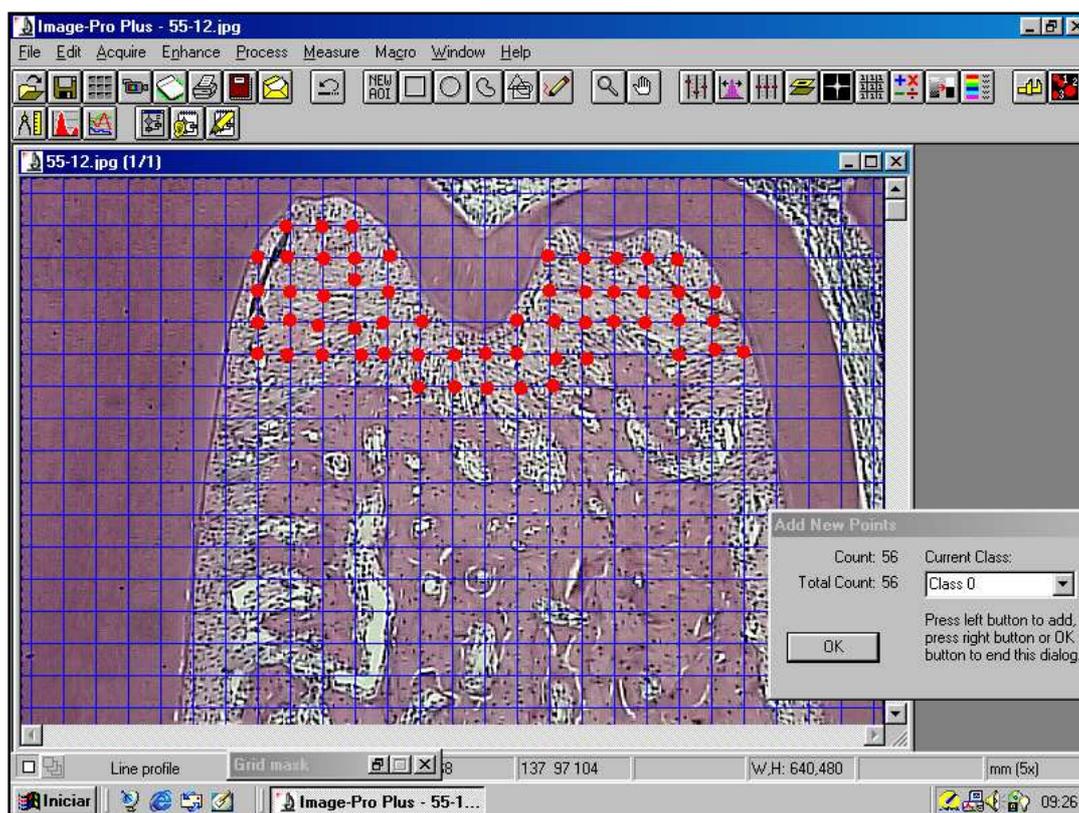


Figura 13. Exemplo da análise histométrica através do programa Image Pro[®].

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O software SAS/LAB foi utilizado preliminarmente às análises, para detectar e mitigar problemas e violações às suposições que embasam este tipo de procedimento de análise de dados.

Para comparação entre dois grupos, foi utilizado o Teste t ($\alpha = 0,05$).

Para comparação entre três grupos, foi utilizada a análise de variância, seguida do teste de Tukey quando o valor de F foi significativo na análise de variância ($\alpha = 0,05$).

5 RESULTADOS

5.1 ANÁLISE DA PERDA ÓSSEA

A perda óssea da região de furca dos primeiros molares inferiores das fêmeas adultas foi observada histometricamente. A análise de variância foi capaz de indicar a existência de diferenças fortemente significantes entre os grupos em relação à perda óssea ($p < 0.0001$). Ao Teste de Tukey foram observadas diferenças estatísticas de perda óssea entre o grupo prenhez (PR: $53,05 \pm 12,86$) em relação aos demais grupos (PRDP: $191,6 \pm 72,99$; DP: $148,7 \pm 44,37$), sem diferença estatística entre estes últimos dois grupos (fig. 14).

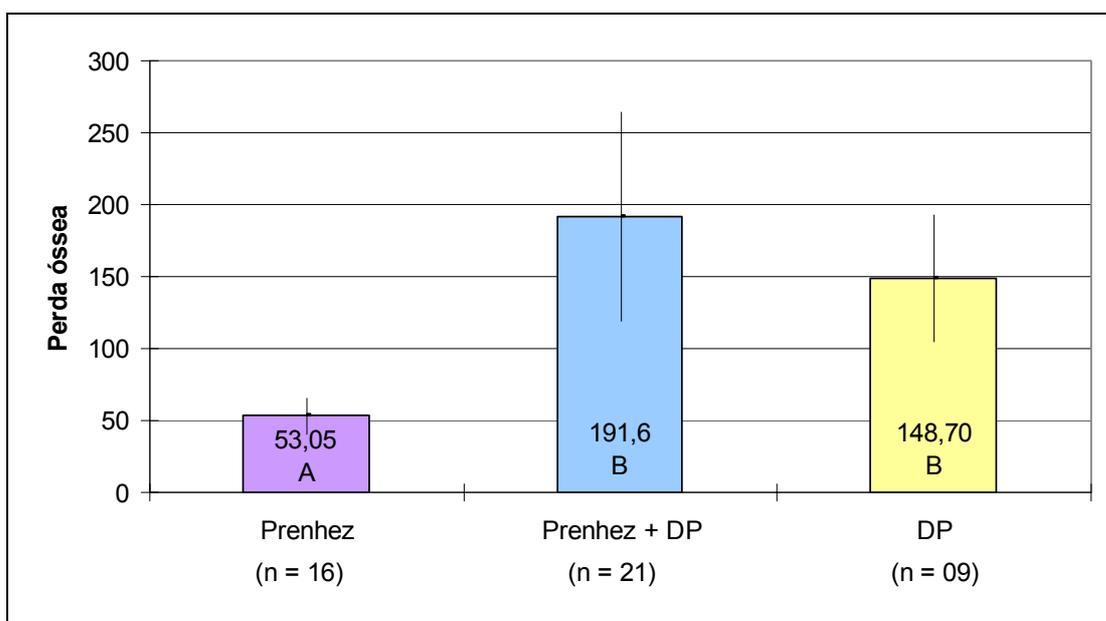


Figura 14. Perda óssea. Médias e desvio padrão. Barras com letras iguais não diferem entre si no nível de significância de 5%.

5.2 TEMPO DE GESTAÇÃO

Com relação ao tempo de gestação (fig. 15) não existiram diferenças estatísticas entre os grupos prenhez e prenhez + doença periodontal (PR: $23,12 \pm 0,88$; PRDP: $22,61 \pm 0,86$ dias).

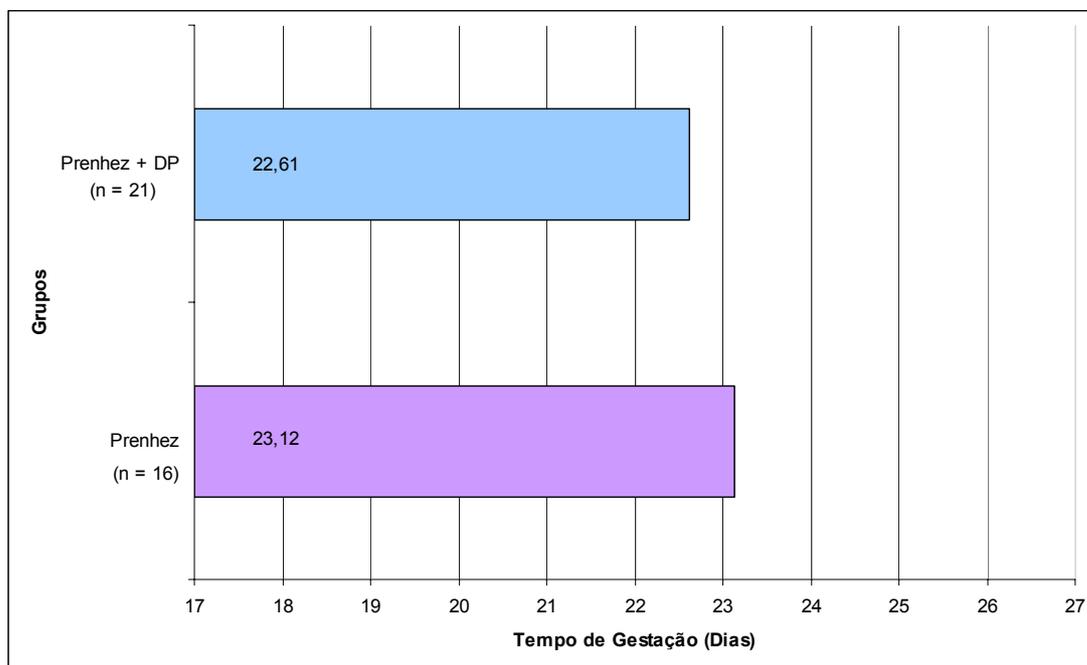


Figura 15. Valores referentes à média do tempo de gestação (dias) de cada grupo.

5.3 TOTAL DE FILHOTES

5.3.1 NÚMERO TOTAL DE FILHOTES

A ninhada de uma rata do grupo prenhez + doença periodontal foi excluída do estudo, pois foi removida inadvertidamente da gaiola da rata mãe. Não foram encontradas diferenças estatísticas entre os grupos prenhez e prenhez + doença periodontal, de acordo com o número do total de filhotes por ninhada, viáveis e não-viáveis (vivos e mortos) (PR: $9,43 \pm 0,46$ filhotes/ninhada; PRDP: $9,35 \pm 0,53$ filhotes/ninhada; $p=0,9057$) (fig. 16).

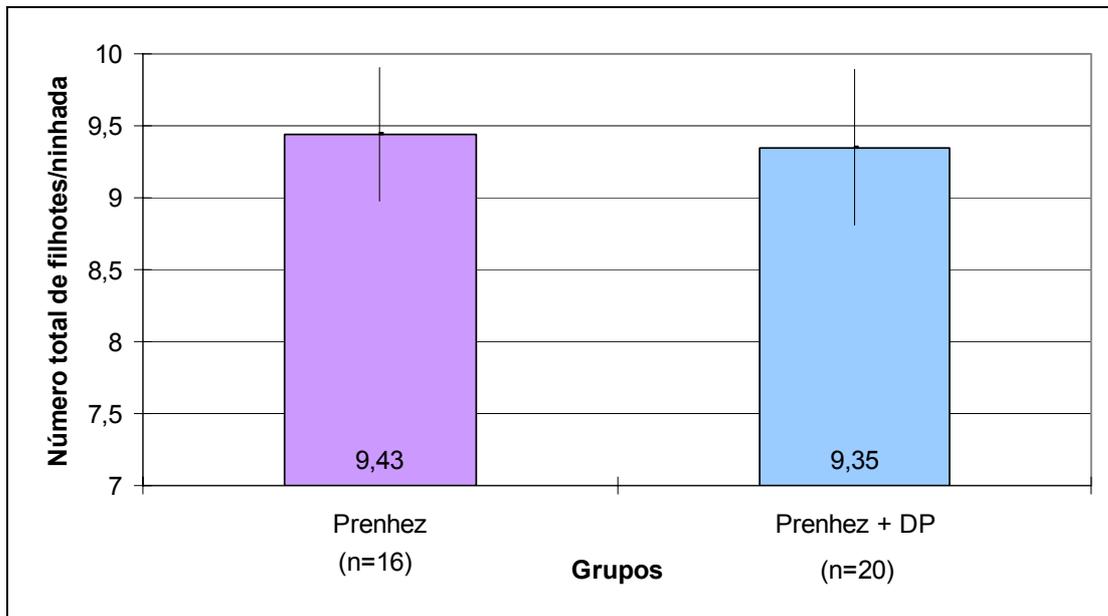


Figura 16. Número total de filhotes por ninhada. Médias e desvio padrão ($p=0,9057$).

5.3.2 PESO MÉDIO DO TOTAL DE FILHOTES

Com relação ao peso médio de todos os filhotes, viáveis e não-viáveis (vivos e mortos), não houve diferença entre os grupos prenhez e prenhez + doença periodontal (PR: $6,21g \pm 0,48$; PRDP: $6,07g \pm 0,45$; $p=0.3998$) (fig. 17).

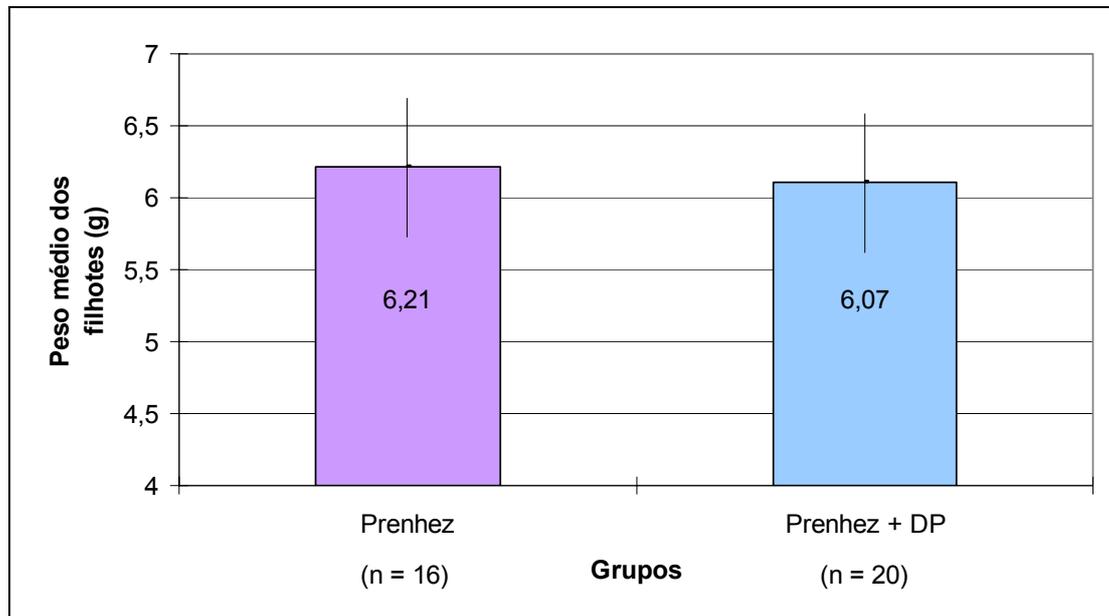


Figura 17. Peso médio dos filhotes em gramas. Médias e desvio padrão ($p=0,3998$).

Para uma melhor análise, os filhotes também foram avaliados separadamente entre viáveis e não-viáveis ao nascimento.

5.4 FILHOTES VIÁVEIS

5.4.1 NÚMERO DE FILHOTES VIÁVEIS

De acordo com o número de filhotes viáveis por ninhada (fig.18), não foram encontradas diferenças estatísticas entre os grupos prenhez e prenhez + doença periodontal (PR: $9,18 \pm 0,52$ filhotes viáveis/ninhada; PRDP: $9,10 \pm 0,56$ filhotes viáveis/ninhada; $p=0,9124$).

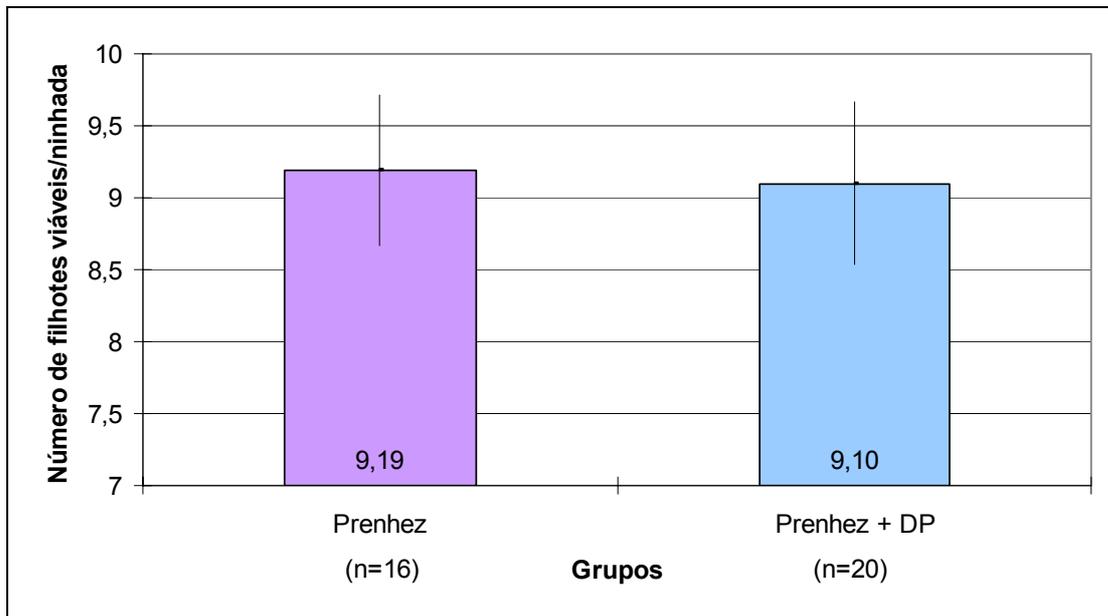


Figura 18. Número de filhotes viáveis por ninhada. Médias e desvio padrão ($p=0,9124$).

5.4.2 PESO MÉDIO DOS FILHOTES VIÁVEIS

A análise realizada para avaliar o peso médio dos filhotes viáveis não mostrou diferenças significativas entre os grupos prenhez e prenhez + doença periodontal (PR: $6,20g \pm 0,48$; PRDP: $6,10g \pm 0,44$; $p=0.5404$) (fig. 19).

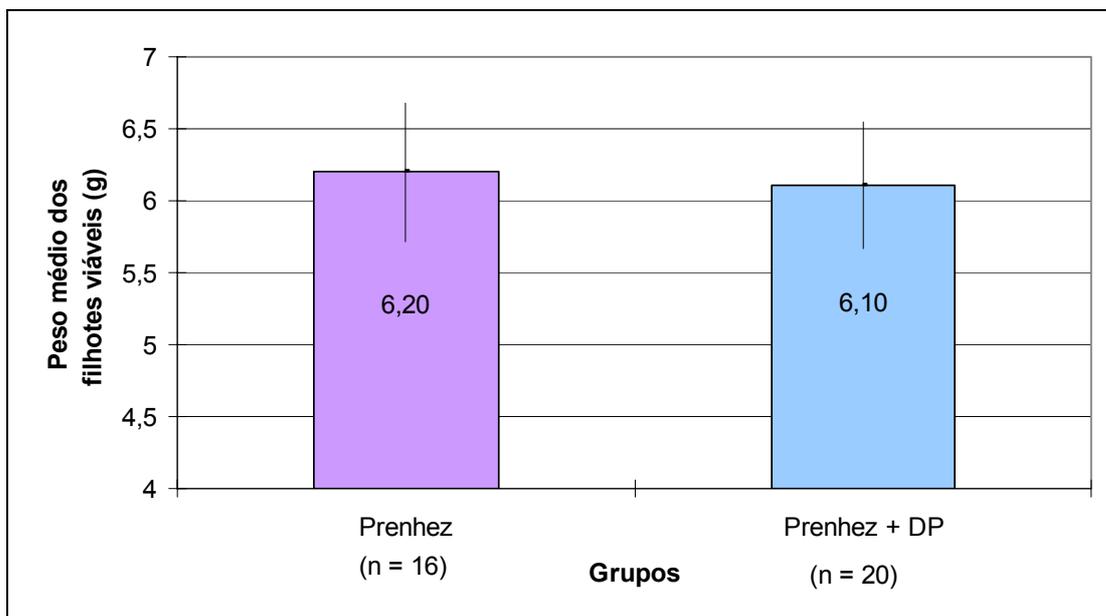


Figura 19. Peso médio dos filhotes viáveis, em gramas. Médias e desvio padrão ($p= 0,5404$).

5.5 FILHOTES NÃO-VIÁVEIS

5.5.1 NÚMERO DE FILHOTES NÃO-VIÁVEIS

Não foram encontradas diferenças estatísticas entre os grupos prenhez e prenhez + doença periodontal, para o parâmetro número de filhotes não-viáveis por ninhada (PR: 1,00 filhote não-viável/ninhada; PRDP: $1,50 \pm 1,00$ filhote não-viável/ninhada) (fig. 20).

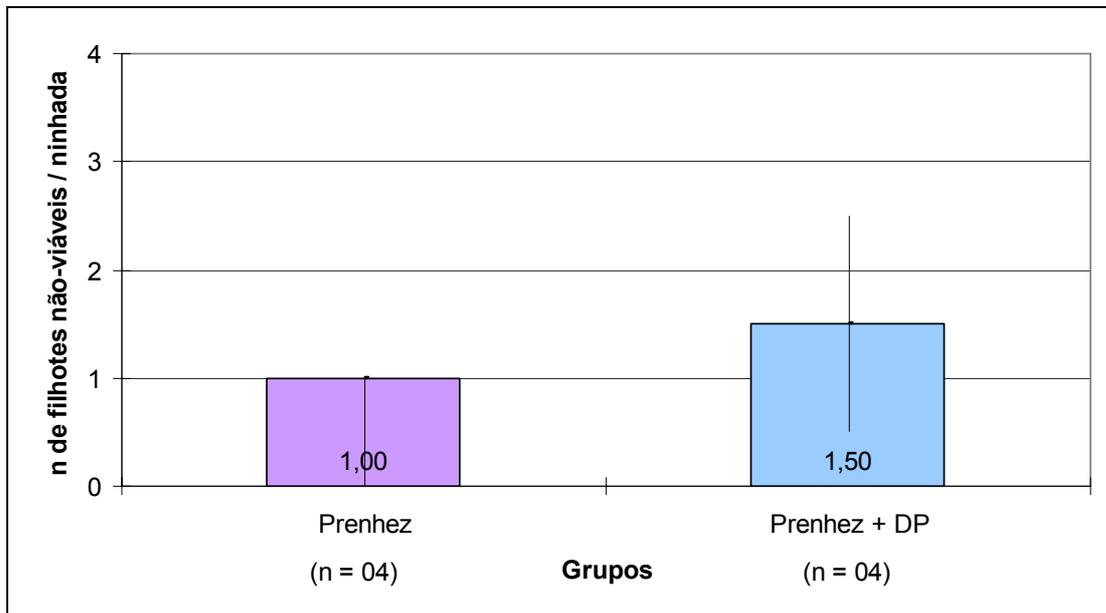


Figura 20. Número de filhotes não-viáveis por ninhada. Médias e desvio padrão.

5.5.2 PESO MÉDIO DOS FILHOTES NÃO-VIÁVEIS

Com relação às médias do peso dos filhotes não-viáveis, foram encontradas diferenças significativas entre os grupos analisados. O peso médio dos filhotes nascidos mortos do grupo prenhez foi significativamente maior que a média dos filhotes não-viáveis do grupo prenhez + doença periodontal (PR: 6,34g \pm 0,41; PRDP: 4,96g \pm 0,52; $p=0.0062$) (fig. 21).

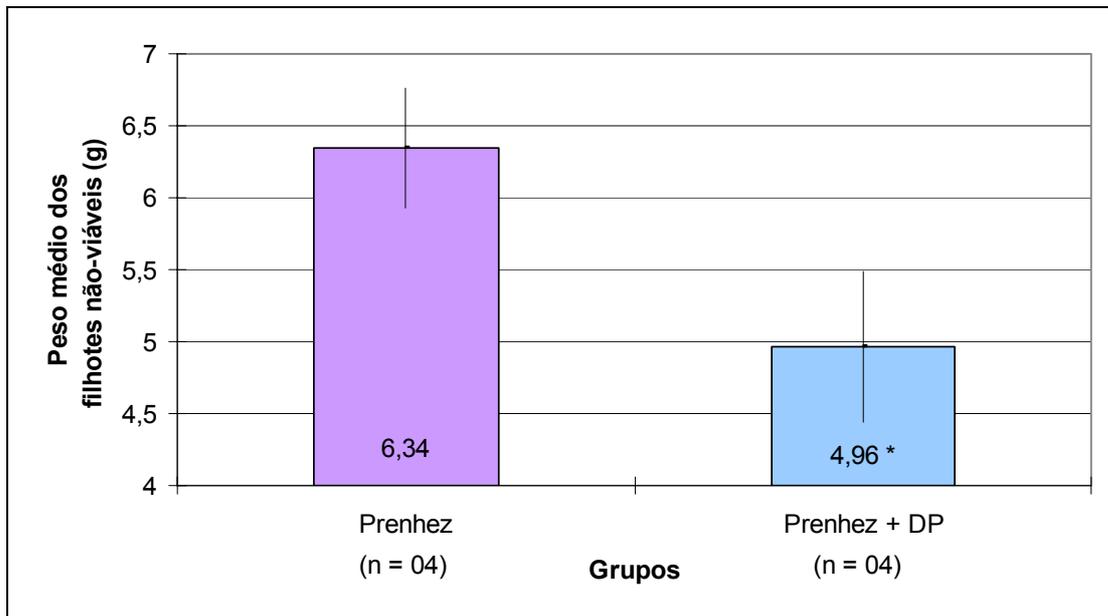


Figura 21. Peso médio dos filhotes não-viáveis, em gramas. Médias e desvio padrão ($p=0.0062^*$).

6 DISCUSSÃO

A relação entre a doença periodontal e o parto prematuro e/ou de baixo peso, vem sendo atribuída principalmente à ação dos produtos bacterianos como o LPS presente nas membranas das bactérias gram-negativas e os produtos da reação inflamatória do próprio paciente como o TNF- α e a PGE₂ (Offenbacher *et al*, 1998a). Diante do exposto, a presente pesquisa procurou utilizar, em animais, um modelo semelhante ao sugerido para humanos.

Apesar da grande quantidade de estudos sobre este tema, ainda não foi possível identificar o mecanismo exato pelo qual a doença periodontal poderia interferir na gravidez adversa (McGaw, 2002).

Com relação aos níveis de doença periodontal existem grandes contrastes entre as pesquisas dependendo da população do país estudado. No estudo de Cardoso (1999) a população brasileira estudada apresentou pequena perda de média de inserção clínica, tanto no grupo teste (1,34 mm) quanto no grupo controle (1,51 mm) e profundidade de sondagem (1,66 mm e 1,83 mm). O trabalho inglês de Moore *et al* (2005) relatou média mais baixa de profundidade de sondagem de 2,23 mm. Em comparação com as médias encontradas em mulheres americanas participantes do grupo controle no estudo de Offenbacher *et al* (1996), a média foi de 2,87 mm. Ainda em comparação com este estudo, mães pertencentes ao grupo caso apresentaram média de profundidade de sondagem de 3,17 mm. Da mesma forma o trabalho de Jeffcoat *et al* (2001a) também apresenta indícios de maior severidade de doença periodontal em sua amostra, bem como Davenport *et al* (2002) que demonstraram em seus dados, média de profundidade de sondagem de 3,85 mm para indivíduos do grupo controle e 3,72 mm para mães do grupo caso. Em comparação com a população chilena, os dados da pesquisa de López *et al* (2002a) também apontam maior profundidade de sondagem (2,71-2,94 mm) em comparação ao trabalho inglês. Baseado nestes dados, uma associação entre os parâmetros clínicos da doença periodontal

materna e parto prematuro de baixo peso pode não ser demonstrável consistentemente em todas as populações (Teng *et al*, 2002).

Também existem discrepâncias, com relação aos índices de prematuridade e/ou baixo peso nos diferentes países do mundo. Na Europa a porcentagem de partos prematuros e/ou baixo peso encontra-se entre 4-12%, em outras regiões como na Ásia (15%), na América do Norte (7%) e América do Sul (11%). Estes valores podem interferir nos resultados de pesquisas em humanos, dependendo da região a que pertence a população a ser estudada (Williams *et al*, 2000).

Os estudos em humanos divergem quanto o limite do nível de inserção clínica ≥ 3 mm ou ≥ 4 mm (Offenbacher *et al*, 1996; Offenbacher *et al*, 1998a) porém sem especificar o porquê da alteração, parecendo aleatório. Além disso, foi observado que bolsas < 2 mm de perda de inserção estava atribuído à saúde gengival ou gengivite, enquanto que ≥ 3 mm estava mais relacionado à doença periodontal com perda de inserção, sugerindo que somente a periodontite possa estar relacionada ao nascimento de prematuros de baixo peso. Entretanto, outros estudos relatam que uma simples infecção por bactérias gram-negativas pode ser capaz de influenciar a evolução da gravidez e que a simples escovação ou manipulação dos tecidos intra-orais, já seria capaz de provocar uma bacteremia transitória, especialmente em pessoas que tenham maiores quantidades de placa e inflamação gengival. Dessa forma, uma gengivite simples pode influenciar no nascimento de prematuros de baixo peso (Barros & Moliterno, 2001; AAP, 1998; Hill, 1998; Offenbacher *et al*, 1998a; López *et al*, 2005). Alguns autores afirmam que é necessária uma definição sobre os critérios de severidade para a doença periodontal para que as pesquisas em humanos possam afirmar alguma relação entre a doença periodontal e os efeitos adversos na gravidez (Moore *et al*, 2005; Xiong *et al*, 2006).

Com relação ao método de exame periodontal aplicado, ocorre uma grande discrepância entre os estudos. A utilização da avaliação de somente alguns dentes ou avaliação do tipo “boca-dividida” para determinação de presença

de doença periodontal parece ser um exame que subestime o nível de doença. Autores que utilizaram desta metodologia, defendem suas pesquisas alegando produzirem o mínimo de desconforto para as pacientes avaliadas (Moore *et al*, 2005). Alguns dos autores apresentam o CPITN como o índice padrão para avaliar a saúde periodontal da amostra (Dasanayake, 1998; Davenport *et al*, 1998; Davenport *et al*, 2002). Nesses estudos, a prevalência de escore 4 chega próximo aos 50%. Sabe-se que este índice pode confundir a real prevalência e a severidade da doença periodontal e é incapaz de refletir as diferenças nas condições periodontais, apesar de ser de fácil aplicação quando quer se avaliar uma grande população. Autores afirmam que o CPITN não é um índice fidedigno de avaliação da doença periodontal (Cardoso, 1999; Barbieri, 2000; Barros & Moliterno, 2001).

Entre os fatores de risco conhecidos para o nascimento de prematuros de baixo peso estão a idade materna superior a 34 anos ou inferior a 17 anos, descendência afro-americana, baixo grau sócio-econômico, cuidados pré-natais inadequados, drogas, álcool ou tabaco, hipertensão, infecções do trato gênito-urinário, diabetes, gravidez múltipla (AAP, 1998). Apesar disto, os trabalhos em humanos divergem com relação aos critérios de seleção das amostras. Alguns trabalhos incluem pacientes entre 14 e 40 anos (Offenbacher *et al*, 1996) e entre 16 e 44 anos (Davenport *et al*, 1998). Também citado por vários autores como fator de risco para o parto prematuro, pacientes fumantes foram incluídas em alguns estudos (Cardoso, 1999). Alguns trabalhos incluíram na amostras pacientes com antecedentes de partos prematuros e/ou de baixo peso (Dasanayake,1998) e com infecções gênito-urinárias (Offenbacher *et al*, 1996; Offenbacher *et al*, 1998a; Cardoso, 1999). Madianos *et al* (2002) afirmaram que a raça é um fator interferente nos resultados desses estudos. Porém, os estudos dos EUA envolveram mulheres em alta proporção da raça negra – cerca de 60% da população do estudo de Offenbacher *et al* (1996) e 82% da população do estudo de Jeffcoat *et al* (2001a). Vários estudos apresentaram que as amostras

eram compostas por mães de classe sócio-econômica baixa (Offenbacher *et al*, 1996; Jeffcoat *et al*, 2001a; Davenport *et al*, 2002).

Os autores de trabalhos em humanos procuram ajustar as variáveis obstétricas conhecidas como o uso de cigarro, álcool, drogas, raça, nível educacional, ocupação do marido, infecções bacterianas prévias, entre outros (Offenbacher *et al*, 1996; Dasanayake, 1998; Davenport *et al*, 1998; Offenbacher *et al*, 1998a; Guthmiller *et al*, 2001; Dasanayake, 2001; Jeffcoat *et al*, 2001a; Offenbacher *et al*, 2001; Madianos *et al*, 2001; López *et al*, 2002a; López *et al*, 2002b; Romero, 2002; Davenport *et al*, 2002). Para isso, eles utilizaram análises de regressões logísticas multivariadas, eliminando a interferência desses fatores. Estudos questionam a veracidade da amostra, pois afirmam que a amostra deveria ser de pacientes exclusivamente com doença periodontal (Barros & Moliterno, 2001; Opperman & Rösing, 2001).

O presente estudo utilizando ratas como unidade experimental, teve como vantagem, a capacidade de eliminar grande parte destas variáveis que podem influenciar os efeitos de uma gravidez adversa. Porém, foi necessário considerar no presente estudo o sexo dos filhotes e, que as ninhadas das ratas podem variar entre 6 a 14 filhotes, e estes dois fatores foram importantes no peso total das ninhadas, já observado em outro estudo em ratos. (Galvão *et al*, 2003). Apesar disto, a presente pesquisa não encontrou diferenças estatísticas com relação ao número médio de filhotes entre os grupos avaliados.

A metodologia deste estudo propôs-se a utilizar um mínimo de 6, dos 12 molares dos ratos, a fim de promover a maior quantidade de inflamação possível através da indução da doença periodontal com ligaduras de algodão (Johnson, 1975; Nociti Jr, 2000). O estudo de Galvão *et al* (2003), utilizou-se de apenas 2 ligaduras nos segundos molares superiores. A intenção de aumentar o número de dentes comprometidos com a indução da doença se deu a fim de obter a maior quantidade possível de inflamação local e disseminação sistêmica em cada rata.

Com relação às reavaliações para comprovar a presença das ligaduras, o estudo de Galvão *et al* (2003), informou que semanalmente revisava a presença das amarrias. O presente estudo realizou esta checagem mensalmente, pois o estresse é tido como um fator de risco para os efeitos adversos na gravidez (Hill, 1998; Offenbacher *et al*, 1998a; Williams *et al*, 2000).

Os estudos realizados em animais foram unânimes ao afirmarem que microrganismos gram-negativos das infecções e seus subprodutos interferiram na sistemática do parto (Lanning *et al*, 1983; Collins *et al*, 1994a; Collins *et al*, 1994b; Kaga *et al*, 1996; Katsuki *et al*, 1997). Porém Opperman & Rösing, 2001 questionam quanto à indução de infecção aguda por uma única espécie microbiana, representando a doença periodontal nos estudos em animais uma vez que a doença periodontal geralmente é de natureza crônica e multibacteriana. Por esta razão, no presente estudo foi proposto a simular a doença periodontal através de amarrias de fios de algodão no dentes da ratas 60 dias antes do acasalamento. Estas ligaduras foram capazes de fazer retenção de biofilme bacteriano (Nociti Jr *et al*, 2000), iniciado na gengiva marginal dos dentes envolvidos, simulando o que ocorre na doença periodontal em humanos.

O trabalho de Galvão *et al* (2003) estabeleceu o período de 30 dias para o desenvolvimento da doença periodontal induzida. A presente pesquisa preocupou-se em manter as amarrias inicialmente por um mínimo de 60 dias para cronificação da doença (Sallum, 1982). Posteriormente, as ratas foram colocadas para o acasalamento, ou seja, as ligaduras foram mantidas pelos 83 dias do estudo, a fim de promover não só uma resposta inflamatória local, mas tentar disseminar esta inflamação, bem como seus produtos, por toda circulação sanguínea das ratas doentes.

De acordo com a literatura pesquisada, não foi encontrado nenhum outro trabalho anterior a este que avaliasse os efeitos da prenhez e dos hormônios da prenhez, sobre a severidade da doença periodontal induzidas em ratas, através da análise da perda óssea inter-radicular nos primeiros molares inferiores. De acordo com os resultados encontrados nesta pesquisa, não foi observada

diferença estatística entre os grupos prenhez + doença periodontal e doença periodontal (PRDP: $191,6 \pm 72,99$; DP: $148,7 \pm 44,37$). Segundo a análise estatística, o fato do grupo doença periodontal ter como amostra apenas 9 ratas, pode ter comprometido o resultado estatístico. Porém, mesmo assim, estes dois grupos mostraram-se significativamente com maior perda óssea do que o grupo prenhez (PR: $53,05 \pm 12,86$, $p < 0.0001$). Este dado é de fundamental importância para este estudo, pois através dele foi possível apresentar a eficácia da indução da doença periodontal através das amarras de algodão.

Um estudo, também realizados em ratas, porém com outra metodologia, foi capaz de identificar a prenhez como fator de risco para a perda óssea alveolar, através de análise radiográfica e diferentes níveis de ingestão de cálcio (Shoji *et al*, 2000). Um outro estudo, realizado em mulheres, conseguiu observar um aumento da perda de inserção clínica, sugerindo um aumento da progressão da doença periodontal durante a gravidez, e conseqüente dano tecidual irreversível. Os autores sugeriram que a gravidez influencia, hormonal ou imunologicamente, a exacerbação da doença periodontal em pacientes sem cuidados periodontais (Lief *et al*, 2004). O presente estudo não pôde corroborar com esta afirmação. De qualquer forma, estes dados são de fundamental importância para a periodontia, pois talvez a gravidez possa também ser uma variável de risco para a progressão da doença periodontal, e não somente uma alteração hormonal transitória como descrito no passado (Löe & Silness, 1963; Carranza & Newman, 1997; Lindhe, 1999; Guthmiller *et al*, 2001; Barak *et al*, 2003).

Corroborando com outro estudo em ratas Wistar (Galvão *et al*, 2003) o presente estudo não evidenciou o efeito da doença periodontal induzida sobre o tempo gestacional (PR: $23,12 \pm 0,88$; PRDP: $22,61 \pm 0,86$ dias). Alguns autores afirmam que os fetos de ratas que se encontram ainda intra-uterinos podem ser reabsorvidos caso não haja o seu desenvolvimento. Desta forma, o parto prematuro em ratas pode não ocorrer, ficando apenas uma cicatriz no útero da rata mãe, que continua gestando os demais filhotes. Por isso, estes mesmos

autores realizaram em seus estudos, a avaliação da influência de periodontopatógenos sobre a prenhez adversa, através de cesarianas nas ratas, 2 dias antes do tempo normal de prenhez (Lanning *et al*, 1983; Collins *et al*, 1994a; Collins *et al*, 1994b). Esta poderia ser uma das explicações para a ausência de diferenças estatísticas entre os grupos, com relação ao parto prematuro no presente trabalho.

Em relação ao número total de filhotes por ninhada, não foram encontradas diferenças entre os grupos, sendo que o grupo prenhez apresentou média semelhante ao grupo prenhez + doença periodontal (PR: 9,43 ± 0,46 ratos/ninhada; PRDP: 9,35 ± 0,53 ratos/ninhada). Da mesma maneira, não houve diferença com relação ao número de filhotes viáveis por ninhada (PR: 9,19 ± 0,52 ratos viáveis/ninhada; PRDP: 9,10 ± 0,56 ratos viáveis/ninhada). Das 37 ratas adultas prenhes submetidas a este estudo, 08 apresentaram pelo menos 01 filhote não-viável possível de ser pesado, sendo 04 destas pertencentes ao grupo prenhez, e outras 04 pertencentes ao grupo prenhez + doença periodontal. Da mesma maneira, o número de filhotes não-viáveis por ninhada entre grupos apresentou ausência de significância estatística, o que denotou uma homogeneidade entre os grupos com relação à distribuição destes filhotes (PR: 1,0 rato não-viável/ninhada; PRDP: 1,5 ± 1,0 rato não-viável/ninhada).

A presente pesquisa não observou diferenças estatísticas entre os grupos, com relação ao peso médio do total de filhotes (PR: 6,21g ± 0,48; PRDP: 6,07g ± 0,45; $p = 0.3998$). Da mesma maneira, este estudo não encontrou diferenças entre o peso médio dos filhotes viáveis (PR: 6,20g ± 0,48; PRDP: 6,10g ± 0,44; $p = 0.5404$), apesar de ter havido uma diferença numérica para menor peso em filhotes de mães com doença periodontal induzida. Estes resultados concordam com os achados do trabalho de Galvão *et al*, 2003 que também não encontrou qualquer relação estatística entre grupos quanto ao peso dos filhotes nascidos-vivos.

Adicionalmente, o presente estudo analisou o peso dos neonatos não-viáveis. Na literatura pesquisada, não foi encontrado nenhum trabalho anterior a

este que apresentasse esse dado através deste modelo experimental. Diante dos resultados encontrados houve diferença estatística entre os filhotes não-viáveis do grupo prenhez (PR: 6,34g \pm 0,41) e do grupo prenhez + doença periodontal (PRDP: 4,96g \pm 0,52; $p = 0.0062$). Estes dados corroboram com os achados de outros autores que avaliaram a embriofetividade de fetos e restrição do crescimento fetal de ratas saudáveis e doentes, apesar da diferença da metodologia aplicada, em que os fetos foram analisados ainda no útero materno. De acordo com estes autores, é provável que os patógenos periodontais possam interferir no desenvolvimento embrionário do feto, podendo haver má-formação fetal ou mesmo a morte fetal, devido à resposta inflamatória na unidade feto-placentária (Lanning *et al*, 1983; Collins *et al*, 1994a; Collins *et al*, 1994b).

De acordo com os dados encontrados neste estudo, a responsabilidade do cirurgião-dentista, em especial do periodontista deve ser reavaliada, em relação aos programas de saúde. Como consequência, existe a necessidade do reconhecimento da importância da medicina periodontal pela classe médica, pela própria classe odontológica e também pela população (Kent *et al*, 1993; Offenbacher *et al*, 1998a; Offenbacher *et al*, 1998b; Yalcin *et al*, 2002; Bobetsis *et al*, 2006).

7 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados do presente estudo:

- Não foi possível demonstrar a influência da prenhez em ratas prenhes sobre a doença periodontal induzida;
- A doença periodontal experimental associou-se significativamente à embriofetividade e restrição do crescimento fetal.

REFERÊNCIAS

Alexander GR, Korenbrot CG. The role of prenatal care in preventing low birth weight. *Fut Child*. 1995; 5: 103-120.

American Academy of Periodontology, 1998, Periodontal disease as a potential risk factor for systemic diseases. *J Periodontol*. 1998; 69 (7): 841-850.

Armitage GC. Periodontal disease and pregnancy: discussion, conclusions, and recommendations. *Ann Periodontol*. 2001; 6 (1): 189-192.

Avitsur R, Yirmiya R. The immunobiology of sexual behavior: gender differences in the suppression of sexual activity during illness. *Pharmacol Biochem Behav*. 1999; 64(4): 787-796.

Barak S, Oettinger-Barak O, Oettinger M, Machtei EE, Peled M, Ohel G. Common oral manifestations during pregnancy: a review. *Obstet Gynecol Surv*. 2003; 58(9): 624-628.

Barbieri T. Verificação da validade do índice CPITN para estudos epidemiológicos em periodontia. [monografia]. Ponta Grossa: ABO-PG/PR; 2000.

Barros BM, Moliterno LF. Seria a doença periodontal um novo fator de risco para o nascimento de bebês prematuros com baixo peso? *Rev Bras Odontol*. 2001; 58 (4): 256-260.

Bernardi MM. Exposição aos medicamentos durante o período perinatal. In: Spinosa HS. *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002, p 691-699.

Bobetsis YA, Barros SP, Offenbacher S. Exploring the relationship between periodontal disease and pregnancy complications. *J Am Dent Assoc*. 2006; 137. Suppl 10: 7S-13S.

Boggess KA, Moss K, Madianos P, Murtha AP, Beck J, Offenbacher S. Fetal immune response to oral pathogens and risk of preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*. 2005; 193: 1121-1126.

Boggess KA, Beck J, Murtha AP, Moss K, Offenbacher S. Maternal periodontal disease in early pregnancy and risk for a small-for-gestational-age infant. *Am J Obstet Gynecol*. 2006; 194: 1316-1322.

Bosnjak A, Relja T, Vucicevic-Boras V, Plasaj H, Plancak D. Pré-term and periodontal disease: a case-control study from Croatia. *J Clin Periodontol*. 2006; 33: 710-716.

Brasil. Ministério da Saúde. Anuário estatístico de saúde do Brasil – 2001. [acesso 2003 Dez 10]. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/saude/aplicacoes/anuario2001/index.cfm>.

Butler N, Goldstein H, Ross E. Cigarette smoking in pregnancy: Its influence on birth weight and perinatal mortality. *Br Med J*. 1972; 2: 127-130.

Cardoso EOCC. Estudo das doenças periodontais em gestantes e seu impacto no nascimento de crianças prematuras e/ou de baixo peso [dissertação] Rio de Janeiro: UFRJ; 1999.

Carranza FA, Newman MG. Periodontia clínica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997.

Champlin AK, Dorr DL. Determining the stage of the estrous cycle in the mouse by the appearance of the vagina. *Biol Reprod*. 1973; 8: 191-194.

Collins JG, Windley HW, Arnold RR, Offenbacher S. Effects of *Porphyromonas gingivalis* infection on inflammatory mediator response and pregnancy outcome in hamsters. *Infect Immun*. 1994a; 62(10): 4356-4361.

Collins JG, Smith MA, Arnold RR, Offenbacher S. Effects of *Escherichia coli* and *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide on pregnancy outcome in the golden hamster. *Infect Immun*. 1994b; 62(10): 4652-4655.

Connor JR, Davis HR. Postpartum estrus in Norway rats. I. Behavior. *Biol Reprod*. 1980; 23(5): 994-999.

Contreras A, Herrera JA, Soto JE, Arce RM, Jaramillo A, Botero JE. Periodontitis is associated with preeclampsia in pregnant women. *J Periodontol*. 2006; 77(2): 182-188.

Dasanayake AP. Poor periodontal health of the pregnant woman as a risk factor for low birth weight. *Ann Periodontol*. 1998; 3 (1): 206-212.

Dasanayake AP, Boyd D, Madianos PN, Offenbacher S, Hills E. The association between *Porphyromonas gingivalis*- specific maternal serum igg and low birth weight. *J Periodontol*. 2001; 72 (11): 1491-1497.

Davenport ES, Williams CE, Sterne JA. The east study of maternal chronic periodontal disease and preterm low birth weight infants: study design and prevalence data. *Ann Periodontol*. 1998; 3 (1): 213-221.

Davenport ES, Williams CE, Sterne JA, Murad S, Sivapathasundram V, Curtis MA. Maternal periodontal disease and preterm low birthweight: case-control study. *J Dent Res*. 2002; 81(5): 313-318.

De Camargo EC, Soibelman M. Prevalência da doença periodontal na gravidez e sua influência nas saúde do recém-nascido. *Rev Assoc Med Rio Grande Do Sul*. 2005; 49(1): 11-15.

Doku HC, Shklar G, Bugbee B. The effect of epsilon aminocaproic acid on the healing of extraction wounds in hamsters. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1966; 22(5): 569-577.

Galvao MP, Rösing CK, Ferreira MB. Effects of ligature-induced periodontitis in pregnant Wistar rats. *Pesqui Odontol Bras*. 2003; 17(1): 51-55.

Gibbs RS, Romero R, Hillier SL, Eschnbach DA, Sweet RL. A review of premature birth and subclinical infection. *Am J Obstet Gynecol*. 1992; 166: 1515-1528.

Gibbs RS. The relationship between infections and adverse pregnancy outcomes: an overview. *Ann Periodontol*. 2001; 6 (1): 153-163.

Goepfert AR, Jeffcoat MK, Andrews WW, Faye-Petersen O, Cliver SP, Goldenberg RL *et al*. Periodontal disease and upper genital tract inflammation in early spontaneous preterm birth. *Obstet Gynecol*. 2004; 104(4): 777-783.

Gundersen HJ, Jensen EB. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microsc*. 1987; 147(Pt3): 229-263.

Gundersen HJ, Jensen EB, Kieu K, Nielsen J. The efficiency of systematic sampling in stereology - reconsidered. *J Microsc*. 1999; 193(Pt3): 199-211.

Guthmiller JM, Hassebroek-Johnson JR, Weenig DR, Johnson GK, Kirchner HL, Kohout FJ *et al*. Periodontal disease in pregnancy complicated by type 1 *Diabetes mellitus*. *J Periodontol*. 2001; 72 (11): 1485-1490.

Guyton AC, Hall JE. *Tratado de fisiologia médica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997.

Han YW, Redline RW, Li M, Yin L, Hill GB, McCormick TS. *Fusobacterium nucleatum* induces premature and term stillbirths in pregnant mice: implication of oral bacteria in preterm birth. *Infect Immun*. 2004; 72(4); 2272-2279.

Hill GB. Preterm birth: associations with genital and possibly oral microflora. *Ann Periodontol.* 1998; 3 (1): 222-232.

Jarjoura K, Devine PC, Perez-Delboy A, Herrera-Abreu M, D'Alton M, Papapanou PN. Markers of periodontal infection and preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2005; 196: 513-519.

Jeffcoat MK, Geurs NC, Reddy MS, Cliver SP, Goldenberg RL, Hauth JC. Periodontal infection and preterm birth. Results of a prospective study. *J Am Dent Assoc.* 2001a; 132 (7): 875-880.

Jeffcoat MK, Geurs NC, Reddy MS, Goldenberg RL, Hauth JC. Current evidence regarding periodontal disease as a risk factor in preterm birth. *Ann Periodontol.* 2001b; 6 (1): 183-188.

Kaga N, Katsuki Y, Obata M, Shibutani Y. Repeated administration of low-dose lipopolysaccharide induces preterm delivery in mice: A model for human preterm parturition and for assessment of the therapeutic ability of drugs against preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol.* 1996; 174(2): 754-759.

Katsuki Y, Kaga N, Nakimura C, Takagaki K, Kajikawa S, Shibutani Y. Ability of intrauterine bacterial lipopolysaccharide to cause in situ uterine contractions in pregnant rabbits. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1997; 76(1): 26-32.

Kent AS, et al. The effects of interleukin 1 alpha and 1 beta on prostaglandin production by cultured human fetal membranes. *Prostaglandins.* 1993; 46: 51-59.

Kleinman J, Madans JH. The effects of maternal smoking, physical stature, and educational attainment on the incidence of low birth weight. *Am J Epidemiol.* 1985; 121: 832-855.

Kramer MS. Intrauterine growth and gestational duration determinants. *Pediatrics.* 1987; 80: 502-511.

Kramer MS, Seguin L, Lydon J, Goulet L. Socio-economic disparities in pregnancy outcome: why do the poor fare so poorly? *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2000; 14: 194-210.

Krejci CB, Bissada NF. Women's health issues and their relationship to periodontitis. *J Am Dent Assoc.* 2002; 133: 323-329.

Lanning JC, Hilbelink DR, Chen LT. Teratogenic effects of endotoxin on the golden hamster. *Teratog Carcinog Mutagen.* 1983; 3: 145-149.

Lieff S, Boggess KA, Murtha AP, Jared H, Madianos PN, Moss K, *et al.* The oral conditions and pregnancy study: periodontal status of a cohort of pregnant women. *J Periodontol.* 2004; 75(1): 116-126.

Lifschitz M, Wilson G, Smith E, Desmond MM. Fetal and postnatal growth of children born to narcotic dependent women. *J Pediatr.* 1983; 102: 686-691.

Lin D, Smith MA, Champagne C, Elter J, Beck J, Offenbacher S. *Porphyromonas gingivalis* infection during pregnancy increases maternal tumor necrosis factor alpha, suppresses maternal interleukin-10, and enhances fetal growth restriction and resorption in mice. *Infect Immun.* 2003; 71(9): 5156-5162.

Lindhe J. Tratado de periodontia clínica e implantologia oral. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

Löe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. *Acta Odontol Scand.* 1963; 21: 533-551.

Lopes FF, Lima LL, Rodrigues MC, Da Cruz MC, De Oliveira AE, Alves CM. A condição periodontal e o nascimento de prematuro de baixo peso: estudo caso-controlado. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2005; 27(7): 382-386.

López NJ, Smith PC, Gutierrez J. Therapy may reduce the risk of preterm low birth weight in women with periodontal disease: a randomized controlled trial. *J Periodontol.* 2002a; 73 (8): 911-924.

López NJ, Smith PC, Gutierrez J. Higher risk of preterm birth and low birth weight in women with periodontal disease. *J Dent Res.* 2002b; 81 (1): 58-63.

López NJ, Da Silva I, Ipinza J, Gutiérrez J. Periodontal therapy reduces the rate of preterm low birth weight in woman with pregnancy-associated gingivitis. *J Periodontol.* 2005; 76(11). Suppl: 2144-2153.

Louro PM, Fiori HH, Louro Filho P, Steibel J, Fiori RM. Periodontal disease in pregnancy and low birth weight. *J Pediatr.* 2001; 77(1): 23-28.

Lunardelli AN, Peres MA. Is there an association between periodontal disease, prematurity and low birth weight? A population-based study. *J Clin Periodontol.* 2005; 32: 938-946.

Madianos PN, Lieff S, Murtha AP, Boggess KA, Auten Jr RL, Beck JD *et al.* Maternal periodontitis and prematurity. part II: maternal infection and fetal exposure. *Ann Periodontol.* 2001; 6 (1): 175-182.

Madianos PN, Bobetsis GA, Kinane DF. Is periodontitis associated with an increased risk of coronary heart disease and preterm and/or low birth weight births? *J Clin Periodontol.* 2002; 29 Suppl 3: 22-36.

Marcondes FK, Bianchi FJ, Tanno AP. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Braz J Biol.* 2002; 62(4A): 609-614.

Marin C, Segura-Egea JJ, Martinez-Sahuquillo Á, Bullón P. Correlation between infant birth weight and mother's periodontal status. *J Clin Periodontol.* 2005; 32: 299-304.

Marvick C. Periodontal disease may pose one risk for premature birth. *JAMA.* 2000; 283 (22): 2922.

McCormick MC. The contribution of low birth weight to infant mortality and childhood morbidity. *N Engl J Méd.* 1985; 312: 82-90.

McGaw T. Periodontal disease and preterm delivery of low-birth-weight infants. *J Can Dent Assoc.* 2002; 68 (3): 165-169.

Moore S, Randhawa M, Ide M. A case-control study to investigate an association between adverse pregnancy outcome and periodontal disease. *J clin Periodontol.* 2005; 32: 1-5.

Noack B, Klingenberg J, Weigelt J, Hoffmann T. Periodontal status and preterm low birth weight: a case control study. *J Clin Periodontol.* 2005; 40: 339-345.

Nociti Jr FH, Nogueira-Filho GR, Primo MT, Machado MA, Tramontina VA, Barros SP *et al.* The influence of nicotine on the bone loss rate in ligature-induced periodontitis. A histometric study in rats, *J Periodontol.* 2000; 71 (9): 1460-1464.

Offenbacher S, Katz V, Fertik G, Collins J, Boyd D, Maynor G, *et al.* Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight *J Periodontol.* 1996; 67 (10) Suppl: 1103-1113.

Offenbacher S, *et al.* Potencial pathogenic mechanisms of periodontitis – associated pregnancy complications. *Ann Periodontol.* 1998a; 3 (1): 233-250.

Offenbacher S, Beck JD, Lieff S, Slade G. Role of periodontitis in systemic health: spontaneous preterm birth. *J Dent Educ.* 1998b; 62 (10): 852-858.

Offenbacher S, Lieff S, Boggess KA, Murtha AP, Madianos PN, Champagne CM *et al.* Maternal periodontitis and prematurity. part I: obstetric outcome of prematurity and growth restriction, *Ann Periodontol.* 2001; 6 (1): 164-174.

Oppermann RV, Rösing CK. Periodontia – ciência e clínica. São Paulo: Artes Médicas; 2001.

Pass D, Freeth G. The rat. ANZCCART news. 1993; 6(4): 1-4.

Radnai M, Gorzó I, Urbán E, Eller J, Novák T, Pál A. Possible association between mother's periodontal status and preterm delivery. J Clin Periodontol. 2006; 33: 791-796.

Rajapakse PS, Nagarathne M, Chandrasekra KB, Dasanayake AP. Periodontal Disease and prematurity among non-smoking Sri Lankan women. J Dent Res. 2005; 84(3): 274-277.

Romero BC, Chiquito CS, Elejalde LE, Bernardoni CB. Relationship between periodontal disease in pregnant women and the nutritional condition of their newborns. J Periodontol. 2002; 73 (10): 1177-1183.

Sallum AW. Estudo da participação do trauma de oclusão na evolução da doença periodontal em ratos. [tese]. Piracicaba: FOP/UNICAMP; 1982.

Shoji K, Ohtsuka-Isoya M, Horiuchi H, Shinoda H. Bone mineral density of alveolar bone in rats during pregnancy and lactation. J Periodontol. 2000; 71(7): 1073-1078.

Skuldbol T, Johansen KH, Dahlén G, Stoltze K, Holmstrup P. Is pre-term labour associated with periodontitis in a Danish maternity ward? J Clin Periodontol. 2006; 33: 177-183.

Teng YA, Taylor GW, Scannapieco F, Kinane DF, Curtis M, Beck JD, *et al.* Periodontal health and systemic disorders. J Can Dent Assoc. 2002; 68(3): 188-192.

Urbán E, Radnai M, Novák T, Gorzó I, Pál A, Nagy E. Distribution of anaerobic bacteria among pregnant periodontitis patients who experience preterm delivery. Anaerobe. 2006; 12: 52-57.

Xiong X, Buekens P, Fraser WD, Beck J, Offenbacher S. Periodontal disease and adverse pregnancy outcomes: a systematic review. BJOG. 2006; 113: 135-143.

Williams CE, Davenport ES, Sterne JA, Sivapathasundaram V, Fearne JM, Curtis MA. Mechanisms of risk in preterm low-birthweight infants. Periodontol 2000. 2000; 23: 142-150.

Wood S, Frydman A, Cox S, Brant R, Needoba S, Eley B *et al.* Periodontal disease and spontaneous preterm birth: a case control study. BMC Pregnancy Childbirth. 2006; 19(6): 24.

World Health Organization, 2000. Managing complications in pregnancy and childbirth. a guide for midwives and doctors. [acesso 2003 Dez 10]. Disponível em: <http://www.who.int/reproductive-health/impac/index.html>.

Yalcin F, Basegmez C, Isik G, Berber L, Eskinazi E, Soydinc M, *et al*. The effects of periodontal therapy on intracrevicular prostaglandin E2 concentrations and clinical parameters in pregnancy. J Periodontol. 2002; 73 (2): 173-177.

Yeo BK, Lim LP, Paquette DW, Williams RC. Periodontal disease – the emergence of a risk for systematic conditions: pre-term low birth weight. Ann Acad Med Singapore. 2005; 34: 111-116.

Yeo A, Smith MA, Lin D, Riché EL, Moore A, Elter J, Offenbacher S. *Campylobacter rectus* mediates growth restriction in pregnant mice. J Periodontol. 2005; 76 (4): 551-557.

APÉNDICE

NÚMERO	Nº DE FILHOTES	SEXO FILHOTES	PESO FILHOTES (g)	DIAS DE GESTAÇÃO
1	4	M	6,56*	23
		F	6,3	
		F	6,39	
		F	6,73	
2	11	F	5,35	23
		M	5,78	
		M	6,25	
		F	5,37	
		F	5,75	
		M	5,17	
		M	5,65	
		M	6,29	
		M	6,14	
		F	5,69	
		F	6,1	
3	9	M	6,68	24
		F	5,68	
		F	6,1	
		F	5,94	
		M	6,97	
		F	6,43	
		M	6,11	
		M	6,49	
		F	6,24	
4	10	F	6,46	24
		M	6,43	
		F	6,44	
		M	6,58	
		F	6,18	
		M	6,52	
		F	5,52	
		M	6,28	
		F	5,64	
		M	6,14	
5	8	F	5,9	21
		F	6,09	
		M	6,43	
		F	6,17	
		M	6,32	
		M	6,5	

		M	5,95	
		M	6,69	
6	11	F	5,63	23
		F	5,48	
		M	6,19	
		F	5,82	
		F	5,92	
		M	6,03	
		M	6,05	
		F	5,57	
		F	5,66	
		F	5,76	
		M	6,16	
7	9	M	6,22*	22
		F	5,73	
		M	6,19	
		M	5,97	
		F	5,85	
		F	5,61	
		F	5,3	
		F	5,78	
		F	5,16	
8	11	F	6,45	23
		M	6,26	
		F	6,44	
		F	5,83	
		F	6,14	
		F	6,05	
		M	6,67	
		M	6,28	
		M	6,09	
		M	6,49	
		F	6,28	
9	8	M	6,77*	23
		F	6,34	
		M	6,13	
		M	6,11	
		M	6,21	
		M	5,93	
		F	6,21	
		M	6,46	

10	11	M	5,83*	23
		M	5,9	
		M	5,8	
		F	5,41	
		M	5,92	
		F	5,61	
		F	5,5	
		M	5,71	
		F	4,99	
		F	5,75	
		M	6,09	
11	10	M	6,06	23
		M	6,38	
		F	6,3	
		M	6,15	
		F	6,23	
		F	6,22	
		M	6,65	
		M	6,58	
		F	6,28	
		M	6,27	
12	9	M	7,5	24
		F	4,81	
		M	6,6	
		M	8,75	
		F	6,6	
		F	7,14	
		F	7,12	
		F	6,54	
		M	7,25	
13	9	F	7,23	25
		F	7,37	
		F	7,29	
		M	7,69	
		M	7,81	
		F	7,39	
		F	7,44	
		F	8,27	
		M	7,23	
14	12	M	6,13	23
		F	5,52	
		M	5,84	

		F	5,7	
		F	5,79	
		M	5,93	
		F	6,23	
		M	5,97	
		F	5,39	
		M	5,95	
		M	5,63	
		F	5,5	
15	10	M	5,96	23
		M	6,07	
		M	6,22	
		F	5,63	
		M	6,09	
		F	5,31	
		M	5,86	
		F	5,62	
		M	6,2	
		F	5,67	
16	9	M	6,41	23
		F	5,74	
		F	5,53	
		M	6,62	
		F	5,86	
		F	5,79	
		M	6,19	
		F	5,76	
		F	6,81	

número	Nº DE FILHOTES	SEXO FILHOTES	PESO FILHOTES (g)	DIAS DE GESTAÇÃO
1	13	M	5,34	22
		F	5,39	
		F	5,06	
		F	5,32	
		M	5	
		M	5,62	
		F	4,62	
		M	6,07	
		M	5,47	
		M	5,3	
		F	5,09	
		F	5,31	
		F	5,49	
2	9	F	5,11	22
		F	5,34	
		M	5,71	
		M	5,79	
		M	6,24	
		F	5,62	
		M	5,81	
		M	5,9	
		M	6,18	
3	7	M	6,29	20
		M	6,49	
		F	6,12	
		M	6,46	
		F	6,06	
		M	6,24	
		M	6,64	
4	9	F	4,7*	22
		F	5,04*	
		M	5,48*	
		M	6,22	
		F	5,09	
		F	5,18	
		M	6,32	
		F	5,46	
		F	5,74	
5	6	M	6,52	23
		M	6,68	
		M	6,35	

		F	6,53	
		F	5,87	
		M	6,02	
6	8	M	6,36	23
		F	6,12	
		M	6,48	
		F	5,83	
		M	6,47	
		M	6,77	
		M	6,39	
		M	6,3	
7	10	M	6,73	23
		M	6,59	
		F	5,56	
		M	6,12	
		M	5,9	
		F	5,97	
		M	5,45	
		F	6,05	
		F	6,54	
		M	6,2	
8	10	M	5,35*	24
		F	7,14	
		F	6,89	
		F	6,97	
		M	7,29	
		F	6,48	
		F	6,88	
		F	6,71	
		F	7,15	
		M	7,45	
9	12	M	6,36	23
		M	6,3	
		F	6,12	
		F	6,17	
		M	6,28	
		F	6	
		M	6,2	
		M	5,86	
		M	6,09	
		F	5,85	
		M	6,33	

		F	5,98	
10	14	M	5,25*	22
		M	6,06	
		M	5,87	
		F	6,2	
		M	5,76	
		M	5,76	
		M	5,59	
		F	5,41	
		F	4,7	
		M	6,28	
		F	4,7	
		F	5,4	
		F	5,65	
		F	5,62	
11	4	?mãe comeu*	?* excluído estudo	23
		F	6,97	
		F	6,85	
		M	5,63	
12	9	M	5,41	23
		M	6,98	
		M	6,9	
		M	6,85	
		F	6,37	
		M	6,96	
		M	6,6	
		F	6,3	
		F	6,6	
13	10	F	6,06	23
		F	5,97	
		F	6,26	
		M	6,38	
		F	6,17	
		F	6,06	
		M	6,98	
		M	6,73	
		F	6,36	
		M	4,12	
14	6	M	7,19	24
		F	5,84	
		M	7,84	

		M	7,42	
		M	7	
		F	6,17	
15	12	F	6,23	23
		F	5,94	
		M	6,66	
		M	6,65	
		M	6,2	
		M	6,01	
		F	5,27	
		M	5,65	
		F	6,3	
		F	5,42	
		F	6,34	
		F	5,99	
16	9	M	4,2*	23
		F	4,65	
		M	6,67	
		M	5,11	
		M	5,71	
		F	6,85	
		M	5,24	
		F	4,45	
		F	5,43	
17	10	M	6,72	23
		F	5,86	
		M	6,46	
		M	6,02	
		M	6,87	
		F	5,93	
		M	6,79	
		F	5,8	
		F	6,18	
		F	5,7	
18	8	M	6,24	22
		M	6,24	
		M	6,4	
		M	6,05	
		M	6,32	
		F	5,76	
		F	5,19	
		F	6,1	

19	12	F	5,79	22
		M	5,75	
		F	5,31	
		M	5,91	
		F	5,64	
		F	5,77	
		F	4,96	
		F	5,89	
		F	5,49	
		M	5,74	
		F	5,68	
		M	5,93	
20	10	F	6	22
		F	5,55	
		F	5,81	
		M	6,07	
		M	6,19	
		F	5,88	
		F	6,04	
		F	5,89	
		M	6,17	
		F	6	
21	Bioterista removeu filhotes	?	Excluído estudo	23

ANEXO



Comissão de Ética na Experimentação Animal
CEEA-IB-UNICAMP

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 813-1, sobre "RELAÇÃO ENTRE PARTO PREMATURO E/OU NASCIMENTO DE BAIXO PESO, DOENÇA PERIODONTAL E INALAÇÃO DE FUMAÇA DE CIGARRO. ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATAS" sob a responsabilidade de Prof. Dr. Sérgio Toledo/Kamille Barbosa Pontarolli está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA)-IB-UNICAMP em reunião de 08 de junho de 2005.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº 813-1, entitled "RELATIONSHIP BETWEEN PRETERM LOW-BIRTH-WEIGHT, PERIODONTAL DISEASE AND CIGARETTE SMOKE INHALATION. A EXPERIMENTAL STUDY IN RATS", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - UNICAMP) on June 8, 2005.

Campinas, 08 de junho de 2005.

Profa. Dra. Liana Verinaud
Presidente - CEEA/IB/UNICAMP

Fátima Alonso
Secretária - CEEA/IB/UNICAMP