UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

Luis Marcos de Castro Nascimento

Cirurgião-Dentista

INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES HORMONAIS DA PRENHEZ SOBRE A DOENÇA PERIODONTAL EXPERIMENTAL. ESTUDO RADIOGRÁFICO E HISTOLÓGICO EM RATOS.

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, como requisito para obtenção do Grau de Mestre em Clínica Odontológica, Área de Periodontia.

Piracicaba

1997

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

Luis Marcos de Castro Nascimento

Cirurgião-Dentista

INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES HORMONAIS DA PRENHEZ SOBRE A DOENÇA PERIODONTAL EXPERIMENTAL. ESTUDO RADIOGRÁFICO E HISTOLÓGICO EM RATOS.

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, como requisito para obtenção do Grau de Mestre em Clínica Odontológica, Área de Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Wilson Sallum

Piracicaba

1997

Ficha Catalográfica Elaborada pela Biblioteca da FOP/UNICAMP

N17i

Nascimento, Luís Marcos de Castro.

Influência das condições hormonais da prenhez sobre a doença periodontal experimental. Estudo radiográfico e histológico em ratos / Luís Marcos de Castro Nascimento. - Piracicaba : [s.n.], 1997.

71f. : il.

Orientador : Antonio Wilson Sallum.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Doença periodontal. 2. Gravidez - Complicações. 3. Radiografia. 4. Hormônios sexuais. 5. Rato como animal de laboratório. 6. Ossos. I. Sallum, Antonio Wilson. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

19.CDD - 617.632
- 636.08982
- 636.0892405

Índices para o Catálogo Sistemático

1. Gengiva	617.632
2. Gravidez	636.08982
3. Hormônios	6360892405

UNICAMP **FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de **Mestrado**, em sessão pública realizada em 04/08/97, considerou o candidato aprovado.

1.Antonio Wilson Sallum_____

2.Enilson Antonio Sallum_____

3.Benedicto Egbert Corrêa de Toledo _____

Dedico este trabalho aos meus pais,

Aparecido do Nascimento,

Cecília de Castro Nascimento,

e meus irmãos

Claudia Beatriz,

Fábio Henrique,

Heloísa Maria,

e à

Luciana Fortes.

A todos pelo apoio e incentivo.

Esta pesquisa foi realizada com o auxílio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, processo 96/3163-0.

Minha Gratidão ao orientador desta Tese,

Prof. Dr. Antônio Wilson Sallum, Titular e Chefe do Departamento de Prótese e Periodontia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela amizade, pelo exemplo de dedicação, pela seriedade com que luta pelo engrandecimento da Odontologia.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, nas pessoas de seu Diretor Prof. Dr. José Ranali, e Diretor Associado Prof. Dr. Oslei Paes de Almeida.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação, com destaque aos Docentes do Curso de Periodontia: Professores Titular Sérgio de Toledo, Doutores Antônio Fernando Martorelli de Lima, Enilson Antônio Sallum e Francisco Humberto Nociti Júnior, pelos valiosos ensinamentos, cordial acolhida e atenção dispensada.

Ao Prof. Dr. Pedro Duarte Novaes, Professor Assistente Doutor do Departamento de Ciências Morfológicas ,Área de Histologia pelo seu auxílio na confecção das fotos das lâminas histológicas desta tese

Ao Prof. Dr. Carlos Tadeu dos Santos Dias, Professor Doutor do Departamento de Matemática e Estatística, da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, pela assessoria no tratamento estatístico dos resultados.

Ao Prof. Dr. Sérgio Roberto Peres Line, Professor Assistente Doutor do Departamento de Ciências Morfológicas, Área de Histologia, pela valiosa cooperação na revisão do texto do Summary.

Ao Departamento de Radiologia na pessoa do Prof. Dr. Frab Norberto Boscolo, Professor Titular, por gentilmente ceder o espaço físico e aparelhos para execução das radiografias desta tese.

À Diretora Técnica da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba Sueli Duarte de Oliveira Soliani e à Auxiliar Bibliotecária, Heloísa Maria Ceccoti, meus sinceros agradecimentos pela revisão das referências bibliográficas.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação, pela compreensão durante o tempo que compartilhamos.

A todos aqueles que direta ou indiretamente tornaram possível a realização deste trabalho.

Sumário

[@] De acordo com a NB-66, de 1978, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Abreviatura dos periódicos de conformidade com o "World List of Scientific Periodicals".

1. LISTA DE ILUSTRAÇÕES

1.1 LISTA DE FOTOS

1.2 TABELAS E GRÁFICO

2. SIGLAS

H_0 = Hipótese zero, primeira hipótese a ser testada.

H_A = Hipótese alternativa, segunda hipótese a ser testada.

μ_1 = Média percentual de perda óssea do grupo das ratas não-prenhes.

μ_2 = Média percentual de perda óssea do grupo das ratas prenhes.

t_{calc} = Valor do teste t-Student calculado para duas médias de amostras independentes.

t_{tabela} = Valor do teste t-Student, na tabela de cálculos para $p<0,05$.

CPITN = Comunity Periodontal Index Treatment Needs.

O.M.S. = Organização Mundial de Saúde

IG = Índice Gengival

IP = Índice de Placa

3. RESUMO

O objetivo deste experimento foi examinar em Rattus norvergicus albinus os efeitos provocados pela presença de uma ligadura de seda aplicada na região cervical do primeiro molar inferior esquerdo, pela prenhez e por ambos os fatores atuando concomitantemente. A ligadura foi colocada no sulco gengival de 75 ratas. Após 5 dias 40 ratas foram deixadas por uma noite com machos, para fertilização. O dia seguinte ao da fecundação foi designado como primeiro dia de prenhez. Imediatamente após o parto as ratas foram sacrificadas, completando um período experimental de 27 a 29 dias com ligadura. Trinta e cinco ratas não-prenhes foram também sacrificadas aos 28 dias após as ligaduras. Todas as mandíbulas foram removidas fixadas em formol e separadas em hemi-mandíbulas. As amostras foram divididas nos seguintes grupos: I) controle (n=30), II) ligadura (n=30), III) prenhes (n=30), IV) ligadura mais prenhez (n=30) todas tomadas ao acaso. Exames radiográficos foram feitos para quantificar a reabsorção óssea nas áreas inter-radiculares dos primeiros molares. Todas as hemi-mandíbulas foram processadas para exame histológico de rotina. Os resultados mostraram que em áreas de gengiva marginal havia infiltrado principalmente de leucócitos polimorfonucleares, mais evidente e com reabsorção óssea nos grupos com ligadura(grupos II e IV). A

análise estatística pelo teste t-Student dos dados radiográficos dos mesmos grupos mostrou que a a prenhez atuou em conjunção com o irritante local aumentando a destruição das estruturas periodontais e a reabsorção óssea ($p<0,05$). Os resultados indicaram que na periodontite experimental por ligadura em ratas. Esses efeitos podem ser atribuídos às condições hormonais da prenhez. O grupo IV (prenhez com ligadura) foi o que apresentou maior perda óssea.

INTRODUÇÃO

4. INTRODUÇÃO

Desde há muito a pura observação clínica sugeria que a gengiva das mulheres era de alguma forma influenciada pela gravidez. **LÖE**[25] (1968) lembrou que as observações apontavam no sentido de que durante a gravidez a modificação da condição gengival poderia representar uma condição distinta daquela de uma simples gengivite. Segundo **MAIER & ORBAN**[32] (1949) esta hipótese já fora anteriormente referida por BIRO, que em 1898, de suas observações, registrou que 38% das mulheres grávidas eram afetadas por gengivite. Dentre outros, o trabalho desenvolvido por **HELMING**[15](1952) admitiu ter demonstrado em seu estudo que o característico curso da "gengivite gravidarum especifica" parecia indicar uma etiologia hormonal.

A questão tornou-se mais clara quando **LÖE et al**[26] (1965) em um estudo clínico sobre a gengivite experimental em humanos confirmaram a associação direta entre o irritante local - placa dental microbiana - e a gengivite, como já observado anteriormente em pacientes grávidas, por **LÖE & SILNESS**[29] (1963) e **SILNESS & LÖE**[51] (1964). Estava assim confirmado o significativo efeito da placa dental na manifestação das gengivites, inclusive daquelas que podem ocorrer durante a gravidez. Entretanto, como indicaram estudos subsequentes, nesta gengivite pode ocorrer uma intensificação da inflamação em alguns períodos da gestação como demonstraram algumas pesquisas (**LÖE**[25],1968;

GONZALES[10],1962;). Tais exacerbações do processo inflamatório gengival corresponderiam a uma acentuada resposta gengival ao irritante local, que estaria condicionada a modificações hormonais próprias da gravidez(**LÖE**[25],1968)

Alguns estudos dão conta de que a gengivite da mulher grávida tem apresentado profundidade de sondagem de 4 ou 5 milímetros (**MIYASAKY et al**[37],1991) mas não tem produzido perda de inserção periodontal durante o período de gestação(**LÖE & SILNESS**[29],1963; **COHEN et al**[5],1969).

Diante do exposto, a proposta do presente estudo foi avaliar experimentalmente em ratas a possível interação entre o efeito das alterações hormonais da prenhez e a doença periodontal.

REVISÃO DA LITERATURA

5. REVISÃO DA LITERATURA

Objetivo de muitos trabalhos de pesquisa tem sido, de há muito, a procura de evidência para estabelecer, claramente, os possíveis efeitos das condições sistêmicas no desenvolvimento da doença periodontal. Dentre as condições pesquisadas neste sentido, a gravidez, devido às modificações hormonais que a acompanham, tem merecido a atenção de muitos pesquisadores.

LÖE[25](1968) considerou que trabalhos realizados inicialmente com uma descrição relativamente precisa da gengivite durante a gravidez sugeriam que esta condição gengival seria distinta daquela de uma simples gengivite porque havia, naquela ocasião, poucos conhecimentos sobre os aspectos endocrinológicos da gravidez e os hormônios sexuais, bem como sua importância fisiológica, não eram bem conhecidos. Em tais condições a pura observação clínica sugeria que a gengiva era, em alguma proporção, influenciada pela gravidez. **MAIER & ORBAN**[32](1949) confirmaram este relato citando Biro, que em 1898 já se ocupara do assunto em um estudo no qual registrou que (38%) trinta e oito por cento das mulheres grávidas eram afetadas por gengivite. Entretanto, Biro não ofereceu nenhuma especificação quanto ao número de pacientes examinadas, o grau de irritação gengival e condições de higiene oral.

Posteriormente, **GOMPERTZ**[9](1927) acrescentou que a idade, número de partos e condição sócio-econômica exerciam

pouca ou nenhuma influência sobre a condição das gengivas e dos dentes durante a gravidez. Neste estudo o Autor enfatizou a importância da limpeza da boca. Entretanto, **TAMMOSCHEIT**[55](1963) afirmou que a condição inflamatória gengival observada nas mulheres grávidas pareceu ocorrer menos freqüentemente entre as pacientes de idade mais avançada. **BRUSZT & BANOCZY**[3](1974) não confirmaram estes dados, pois examinando 850 pacientes de oitavo e nono meses de gestação e cujas idades variavam de 15 a 34 anos, observaram que a freqüência da gengivite variava, com tendência a aumentar com o avanço da idade.

Assim **LEVY**[22](1941) em monografia sobre gengivite da gravidez, escreveu que a função das glândulas de secreção interna e as vitaminas são estreitamente associadas e por isso seria razoável recomendar o uso de terapêutica vitamínica em tais casos.

Sobre esta questão **MAIER & ORBAN**[32](1949) desenvolveram uma pesquisa partindo das seguinte perguntas: a) em que extensão se justificam as correlações entre distúrbios sistêmicos e lesões gengivais?, b) haverá alguma alteração clínica e histopatológica na gengiva, que seja exclusivamente característica da gravidez?. Tais perguntas deveram-se a que, anteriormente, no estudo de **MONASH**[38](1926) constou que a reação da mulher grávida ao irritante gengival era igual à da não-grávida, acrescentando, ainda, a asserção de **MERRIT**[34](1945)de que não havia um tipo de gengivite que pudesse ser dito

peculiar para e encontrado somente durante a gravidez. **MAIER & ORBAN**[32](1949) procuraram respostas às suas perguntas através de exames clínicos em 530 pacientes grávidas, das quais selecionaram 53 para biópsias. Nestes exames, segundo os critérios que adotaram, chegaram aos seguintes resultados: gengiva normal 44,6%; inflamação gengival suave 35,9%; inflamação gengival moderada 17,5%; inflamação gengival severa 1,5% e tumoração 0,5%. Nos seus resultados as perguntas tiveram respostas negativas, mas representaram uma contribuição importante esclarecendo que: 1) não houve diferença significativa de prevalência de gengivite entre pacientes grávidas e não-grávidas; 2) os aspectos observados histopatologicamente não foram exclusivamente característicos da gengivite da gravidez. Os A.A., ainda, apoiados na observação de que casos de periodontite que tiveram resolução bem sucedida pelo tratamento local, expressaram a idéia de que a inflamação gengival, observada durante a gravidez, é uma condição inflamatória, muito provavelmente, de origem irritativa local e modificada pelas condições hormonais.

HELMING[15](1952), apresentou uma pesquisa em que aos exames das gengivas durante o período da gravidez acrescentou exames de 40 dias após o parto, em 203 pacientes de idades entre 16 e 44 anos. Examinou as gengivites e sem instituir nenhum tratamento local, dividiu-as em dois grupos: o primeiro, a que chamou de "gengivite gravidarum específica", observada em 47% dos

casos, quando os exames indicavam melhora desde o primeiro exame clínico ao término da gravidez e até o período de 40 dias pós-parto; o segundo grupo, a que chamou de "gengivite gravidarum não-específica", observada em 53% dos casos, quando não ocorriam melhoras no mesmo período dos exames. Importante é frisar que das 203 pacientes controladas, 61 delas receberam um suplemento dietético diário de 50 mg de vitamina C, desde o primeiro exame clínico até o pós-parto, comprovando através de exames, maior nível de ácido ascórbico no sangue. Contudo seus resultados indicaram que a ocorrência da "gengivite gravidarum específica" também não apresentou relação com o nível de ácido ascórbico no sangue.

Estas observações foram corroboradas por **GRIDLY**[12](1954), que seguindo critério semelhante encontrou 60% de gengivite que designou de comum e 23% de gengivite referida como associada à gravidez, em 1002 mulheres grávidas.

SUD[53](1951) frisou a dificuldade de avaliar a relativa importância da influência de fatores locais ou de condições sistêmicas que contribuiriam para a manifestação clínica da gengivite. O autor chegou a estas questões depois de analisar as alterações gengivais em 148 mulheres, das quais 48 estavam grávidas e 50 no período pós-parto. Todas estas pacientes eram do campo de refugiados de West Punjab, com higiene oral negligenciada e toda sorte de condições de vida desfavoráveis. Dentre as pacientes, aquelas que

estavam no período da gravidez evidenciaram a doença gengival mais acentuada.

No campo experimental **WAERHAUG & HANSEN**[63](1966) estudando uma macaca prenhe tratada com sobrecarga oclusal, e em condições físicas desfavoráveis, concluíram também que: a placa dental foi a causa do aprofundamento da bolsa; o trauma, a prenhez, o período de lactação e as precárias condições físicas foram fatores pré-disponentes.

À luz destes conhecimentos, gradativamente, aumentava a necessidade de melhor conhecimento sobre a participação de cada uma destas condições na patologia periodontal: a local, representada pela placa dental e a condição sistêmica, representada pelas alterações hormonais ou outras.

Os registros de natureza epidemiológica deram conta de uma variada prevalência de inflamação gengival em mulheres grávidas que ascende de 50% segundo **GRANT et al**[11](1972) a 70% de acordo com **BRZEZINSKY & ERB**[4](1963), de 76,7% conforme **ARAFAT**[2](1974),de 34% a 68% para **BRUSZT & BANOCZY**[3](1974), de 90% pelos dados de **SAMANT et al**[49](1976), atingindo 100% pelos estudos de **SILNESS & LÖE**[51](1964) e de **KOLODZINSKY et al**[20](1974); dados de **PAPP et al**[44](1990), demonstraram que a prevalência de gengivite foi de 96,5% mostrando o aumento dos valores do índice empregado para exame desde o primeiro para o segundo trimestre e mais deste para o terceiro trimestre .

Neste contexto a placa dental assumiu uma importância crescente na medida em que se determinou, cada vez mais, sua relação com a gengivite observada durante a gravidez. Este conhecimento fundamental e muito significativo desenvolveu-se com **LÖE & SILNESS**[29](1963) e **SILNESS & LÖE**[51](1964), **LÖE**[26](1965); **SILNESS & LÖE**[52](1966); **COHEN et al**[6](1971); **ARAFAT**[2](1974) demonstrando que a terapêutica local eliminou a inflamação e manteve a normalidade da gengiva. Acrescente-se ainda que **HOLM - PEDERSEN & LÖE**[16](1967) apresentaram dados sobre o fluido do sulco gengival, demonstrando que a mulher grávida, com excelente condição de higiene oral, pode exibir gengivas, que em nível clínico, são isentas de alterações inflamatórias.

Para **SCHLUGER et al**[50](1977) a gravidez não poderia ser considerada causa de uma gengivite decorrente de efeitos que os hormônios teriam sobre tecidos gengivais normais ou previamente inflamados. Segundo **GONZALES**[10](1962), **TAMMOSCHEIT**[55](1963), **GRANT et al**[11](1972), **OLIVARES**[40](1974) e **GLICKMAN**[8](1992) a gravidez faria intensificar a resposta gengival ao irritante local fazendo que áreas previamente inflamadas se tornassem excessivamente aumentadas, edematosas e com coloração mais evidente, diferindo em alguns aspectos da gengivite comum pela sua cor que é mais avermelhada e com tendência à hemorragia, por causa da marcada vascularização.

A intensidade da resposta gengival ao irritante local é o que pode determinar a severidade da gengivite clínica.

Os dados sobre a maior severidade da gengivite durante o período da gravidez têm sido discordantes. O fenômeno pode ocorrer no segundo mês, para **OLIVARES**[40](1974), no segundo ou no terceiro mês para **ROHACKOVÁ & TCHÁ**[47](1958), e também no quarto mês para mostrar um aumento geral entre o primeiro e o segundo trimestre de gestação segundo **LEVY**[22](1941). Também entre o sexto e o sétimo meses de gestação conforme relataram **GONZALES et al**[10](1962), ou por volta do oitavo mês para **KOLODZINSKY et al**[20](1974).

A intensificação da inflamação gengival quantificada pelo índice gengival (**LÖE & SILNESS**[29],1963) analisada juntamente com o índice de placa (**SILNESS & LÖE**[51], 1964) mostrou correlação mais estreita entre ambos após o parto do que durante a gravidez(**ADAMS et al**[1], 1975).

Segundo **LÖE**[25](1968) a intensificação da inflamação gengival desde o quarto mês de gestação corresponde ao aumento na concentração de estrogênio, progesterona e relaxina , com seu grau máximo ao final da gravidez.

Os estudos de **LÖE & SILNESS**[29](1963), **SILNESS & LÖE**[51](1964) indicaram que na mulher grávida há exacerbações do processo inflamatório gengival com a conseqüente elevação do índice gengival (IG) sem corresponder ao aumento do índice de placa (IP). Isto sugere segundo **LÖE**[25](1968) que durante a gravidez algum outro fator é introduzido, que juntamente com a placa bacteriana pode ser

responsável pelas acentuadas alterações inflamatórias vistas na gengiva.

Segundo **ZACHARIASEN**[65](1993) afirmou, parece que as bactérias não são as únicas responsáveis pela gengivite observada durante a gravidez, nem os hormônios isoladamente são responsáveis por esta condição. Dados de numerosos estudos sugerem que os hormônios ovarianos modificam o meio ambiente das bactérias assim como promovem seu crescimento e modificação da sua população.

Mais recentemente trabalhos têm analisado e acrescentado importantes dados sobre as condições hormonais da mulher grávida e procurado reconhecer alguns efeitos possíveis sobre as gengivas e seu metabolismo (**HUGOSON**[18],1970; **Vittek**[62], 1982(b); **Vittek**[61], 1982(a); **MARTIN et al**[33], 1985; **SZEKERES-BARTHO**[54], 1992; **RABER-DURLACHER**[46], 1993; **LAPP et al**[21], 1995). As pesquisas referidas não constituem o objetivo deste trabalho. Contudo os dados apresentados poderão servir para ajudar a esclarecer e discutir os resultados do estudo ora em execução.

Os dados da bibliografia dão conta de que a gengivite da mulher grávida não tem evoluído até produzir perda de inserção periodontal durante o período de gestação (**LÖE & SILNESS**[29], 1963; **COHEN et al**[5], 1969).

MIYAZAKI et al[37](1991) avaliaram as condições periodontais de 2424 mulheres grávidas e de 1565 não-grávidaz ; empregando o C.P.I.T.N. reconhecido pela O.M.S.. O percentual de mulheres grávidas com profundidade de

sondagem de 4 ou 5 milímetros foi significantemente maior do que o das não grávidas. Este percentual diminuiu equiparando-se ao do controle prévio, quando terminou o período gestacional. As mudanças foram interpretadas como sugestivas de que o aumento de profundidade da bolsa durante a gravidez foi causado mais certamente por aumento gengival do que por destruição periodontal. Além do número limitado de estudos sobre esta questão no levantamento bibliográfico realizado não encontramos trabalho desenvolvido em animais para avaliar se durante o período da prenhez houve comprometimento mensurável do periodonto de sustentação causado por uma periodontite experimental.

A procura de dados e esclarecimentos sobre este tópico constitui objetivo para a realização do presente estudo experimental em animais - Rattus norvergicus albinus.

PROPOSIÇÃO

6. PROPOSIÇÃO

Avaliação da participação da condição de prenhez na evolução da doença periodontal, através de exame radiográfico e aspectos histológicos. (estudo experimental em ratos)

MATERIAL E MÉTODOS

7. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida usando 75 ratas fêmeas (Rattus norvergicus albinus- Wistar) com idade de 100 dias, nulíparas. Durante o período experimental, foram tratadas com ração granulada para animais de laboratório e receberam água "ad libitum".

7.1 INDUÇÃO DA DOENÇA PERIODONTAL

As ratas foram anestesiadas com injeção intraperitoneal de solução de hidrato de cloral (na dosagem de 300mg/kg), para aplicação de uma ligadura de fio de seda (Gutterman) ao redor do primeiro molar inferior esquerdo, ao nível do sulco gengival conforme a técnica descrita por **JOHNSON**[19](1975)(Figura 1). A seguir um período de 5 dias para a redução da irritação aguda devida ao traumatismo cirúrgico da colocação das ligaduras, foi aguardado para efetuar o acasalamento dos animais.

Figura 1 - Aspecto da ligadura colocada no sulco gengival do primeiro molar inferior esquerdo das ratas.

7.2 EFETIVAÇÃO DA PRENHEZ

Quarenta ratas foram colocadas duas em cada gaiola com um macho pelo tempo de 24 horas, para acasalamento. O dia seguinte à inseminação foi considerado o primeiro dia de prenhez, como descreve a metodologia de **OJANOTKO & HARRI**[39](1982).

Assim, a adição dos primeiros cinco dias mais um dia para acasalamento e efetiva ocorrência de prenhez , somados a um período de 21 a 23 dias de duração da prenhez destes animais (**FARRIS & GRIFFITH**[7], 1971) completaram um período experimental de vinte e sete a vinte e nove dias.

7.3 OBTENÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

Estas ratas primíparas foram sacrificadas com golpe occipital, imediatamente após parir. As ratas não-prenhes foram sacrificadas aos 28 dias de período experimental.

Todas as mandíbulas foram removidas em bloco, fixadas em formol tamponado neutro à 10% e divididas pela sínfise mandibular para obtenção de duas peças (hemi-mandíbulas) de cada rata, compondo os seguintes grupos:

Grupo 1- Controle, não-prenhe sem ligadura (n=30).

Grupo 2- Irritante, não-prenhe com ligadura (n=30).

Grupo 3- Prenhes, sem ligadura (n=30).

Grupo 4- Irritante mais prenhez, (n=30).

7.4 OBTENÇÃO DE RADIOGRAFIAS PARA ANÁLISE

Cada uma das peças foi radiografada, com o lado lingual sobre um filme periapical KODAK[♠] , empregando um aparelho de raios-X General Electric[Φ], ajustado para funcionamento a 07 mA e 55 kVp, com tempo de exposição de 0,3 seg. Neste experimento a distância foco/filme foi ajustada em 21 cm. As radiografias foram reveladas, lavadas e fixadas em processador automático[Ψ] para padronização.

7.5 AVALIAÇÃO DAS IMAGENS RADIOGRÁFICAS

Através de um projetor KODAK com dispositivo Zoon , as radiografias obtidas foram projetadas com uma ampliação de 10 vezes, sobre um papel vegetal onde foram demarcados os contornos da coroa e das raízes dos primeiros molares de todos os grupos experimentais, nível ósseo com seu respectiva área inter-radicular ocupada por tecido ósseo inter-radicular e a área inter-radicular radiolúcida. Posteriormente duas retas foram traçadas sobre o desenho: uma passando pela porção mais coronária das imagens das bifurcações radiculares e outra passando pela porção mais apical das imagens radiográficas das raízes, para delimitar a área total inter-radicular (Ilustração 1).

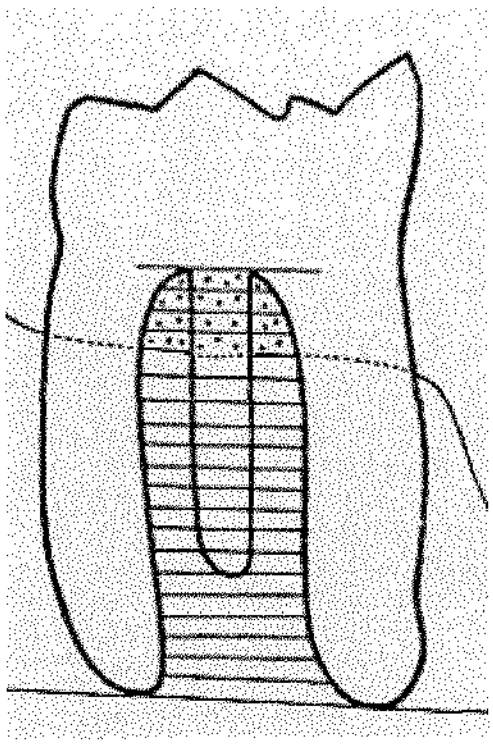
As áreas totais e as áreas radiolúcidas inter-radiculares foram medidas com um Planímetro Polar[#], e os

---

[♠] Ektaspeed, Dental Film, EP-21P, by Eastman Kodak Company, Rochester, New York 14650, U.S.A.
[Φ] GE, Model GE-1000, nº11AA5A7, nº de série126563, Milwaukee, Wisconsin, U.S.A.
[Ψ] Modelo AT 2000 M, Air Techniques, Inc.
[#] Rosenhain, serial number 13726 (made in Germany).

seus valores obtidos em milímetros quadrados, pela média de 4 medições, em cada área. A extensão da lesão óssea foi determinada pelo cálculo dos dados percentuais das áreas radiolúcidas em relação as áreas totais inter-radiculares. Os dados dos quatro grupos foram submetidos a tratamento estatístico adequado.

Ilustração 1 - Desenho esquemático da projeção das radiografias e reta apical e coronária à furca.



 ÁREA TOTAL INTER-RADICULAR

 ÁREA DE PERDA ÓSSEA PERIODONTAL

7.6 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

Após a fixação as peças foram desmineralizadas em solução de EDTA tamponado à 10% (**WARSHAWSKI & MOORE**[64], 1971), processadas para inclusão em parafina e obtenção de secções semi-seriadas de sete micrômetros, seguindo o eixo longitudinal do dente no plano buco-lingual do primeiro molar. As lâminas foram coradas com Hematoxilina e Eosina e selecionadas as secções que continham a maior extensão possível das raízes vestibular e lingual, na região média do dente. Foram observados aspectos gerais das alterações do tecido ósseo e do tecido de revestimento, periodonto-gengival.

7.7 SELEÇÃO DAS AMOSTRAS

De cada um dos grupos foram tomados ao acaso trinta amostras para o estudo.

7.8 FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS

No tratamento estatístico dos dados fornecidos pelos diferentes grupos experimentais foi aplicado teste estatístico paramétrico; a comparação grupo a grupo foi feita pelo teste t-Student.

As secções histológicas foram analisadas, ao nível de microscopia de luz para descrição das características histológicas dos 4 grupos estudados.

RESULTADOS

8. RESULTADOS

8.1 DESCRIÇÃO HISTOLÓGICA

8.1.1 GRUPO I

Epitélio juncional constituído de poucas camadas de células, entre as quais havia leve infiltrado de leucócitos polimorfonucleares e discreto grau de edema intercelular (foto 1). O epitélio juncional não apresentava projeções para o conjuntivo com uma linha de separação regular entre ambos os tecidos.

Epitélio sulcular e epitélio oral da gengiva marginal mostrava estrutura de normalidade , com uma camada uniforme de ortoqueratina na superfície e a linha de união, interface epitélio e conjuntivo regularmente delineada.

Tecido conjuntivo apresentou distribuição e densidade de fibras colágenas regular em quase toda sua extensão. Exceto uma área imediatamente sob o epitélio juncional, onde havia com freqüência pequena desorganização do colágeno com infiltrado de alguns leucócitos e de polimorfonucleares.

Fibras dento gengivais e cresto-dentais evidenciavam regularidade em sua distribuição e orientação.

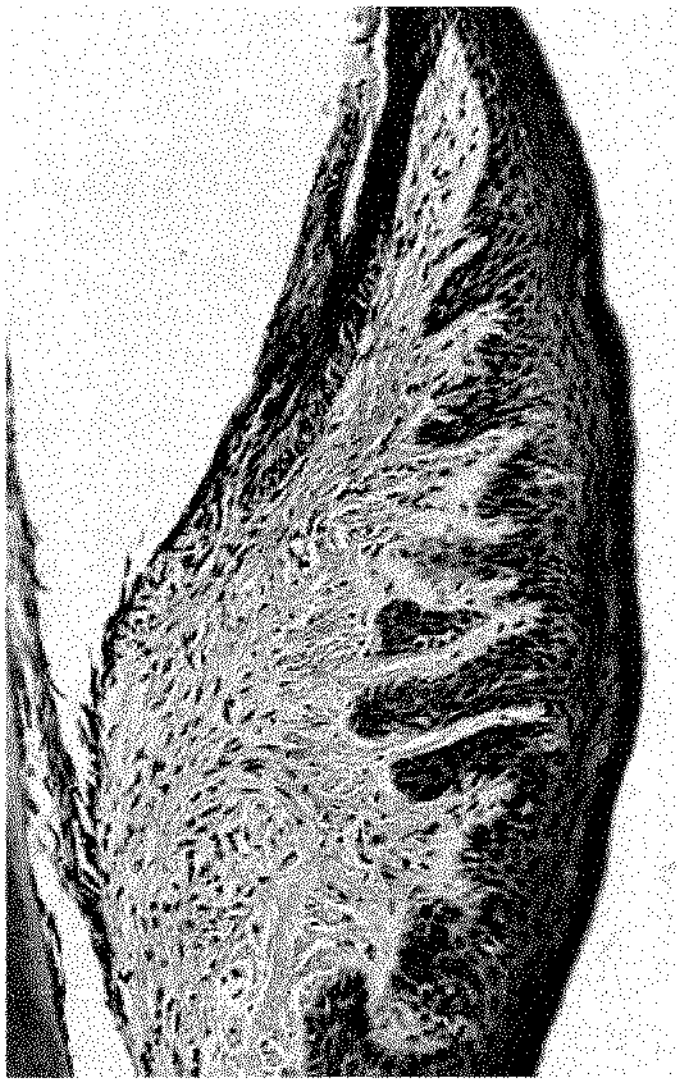


Foto 1: Aspecto geral das condições do periodonto das ratas do grupo controle. Aumento original de: 63X. H.E.

8.1.2 GRUPO II

Epitélio juncional agora epitélio da bolsa periodontal apresentava - se espessado, quando comparado com o grupo controle mostrando numerosas projeções digitiformes em direção ao tecido conjuntivo periodontal, apresentando áreas de ulceração, acentuado aumento dos espaços intercelulares e infiltração de leucócitos mononucleares e polimorfonucleares com predominância dos neutrófilos.

Epitélio sulcular e epitélio oral junto ao epitélio juncional apresentavam irregularmente estruturados e com acantose.

Tecido conjuntivo subjacente ao epitelio da bolsa periodontal apresentou aspectos histológicos de reação inflamatória, com edema intercelular e desorganização de fibras colágenas. Nesta área observou-se presença de grande número de neutrófilos por entre as células epiteliais e tecido conjuntivo e sob o epitélio da bolsa periodontal(fotos 2-3-4).

Fibra dento-gengivais com algum grau de desorganização foram observadas na região apical à base das bolsas periodontais, seguidas de lacunas de reabsorções ósseas e atividade osteolítica, na crista marginal, na face óssea voltada para o espaço do ligamento periodontal.

Foto 2: Aspecto geral das condições do periodonto do grupo II ratas não prenhes com ligadura. Aumento original de: 40X. H.E.

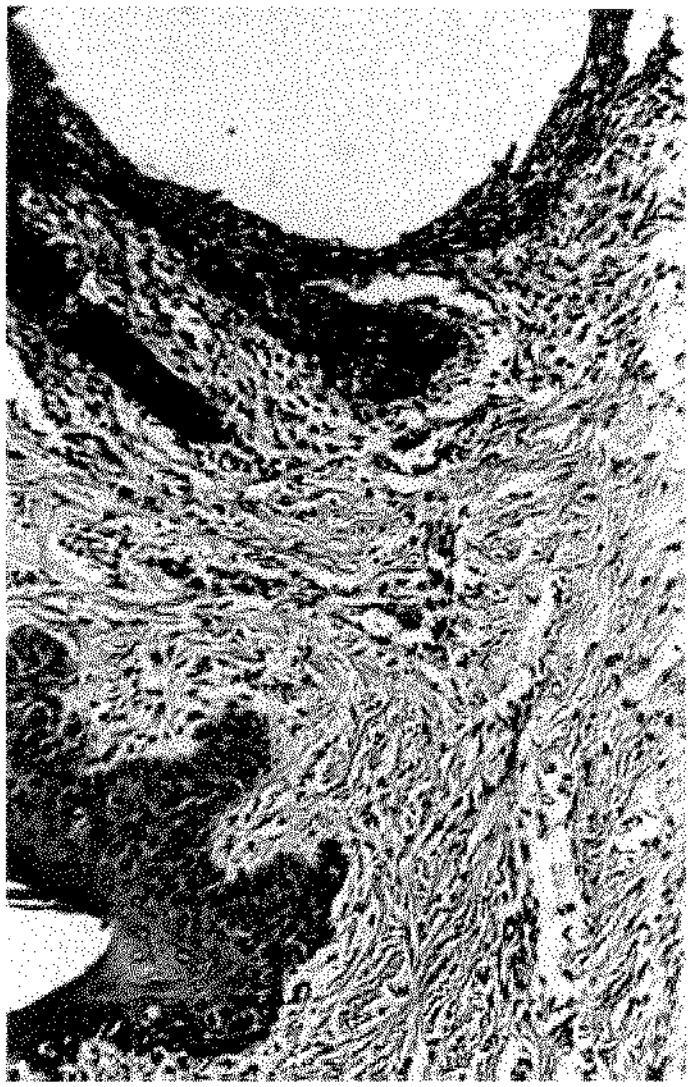


Foto 3: Aspecto do infiltrado inflamatório abaixo do epitélio da bolsa periodontal, desorganização do epitélio e presença de neutrófilos (grupo II). Aumento original de: 63X. H.E.

Foto 4: Aspecto das crista óssea do grupo de ratas com ligadura, observar reabsorção óssea na face lingual da margem óssea(grupo II). Aumento original de: 63X. H.E.

8.1.3 GRUPO III

A este nível de observação histológica este grupo controle apresentou resultados semelhantes ao do grupo I controle não prenhe; porém com discreto infiltrado inflamatório abaixo do epitélio do sulco gengival (foto 5).

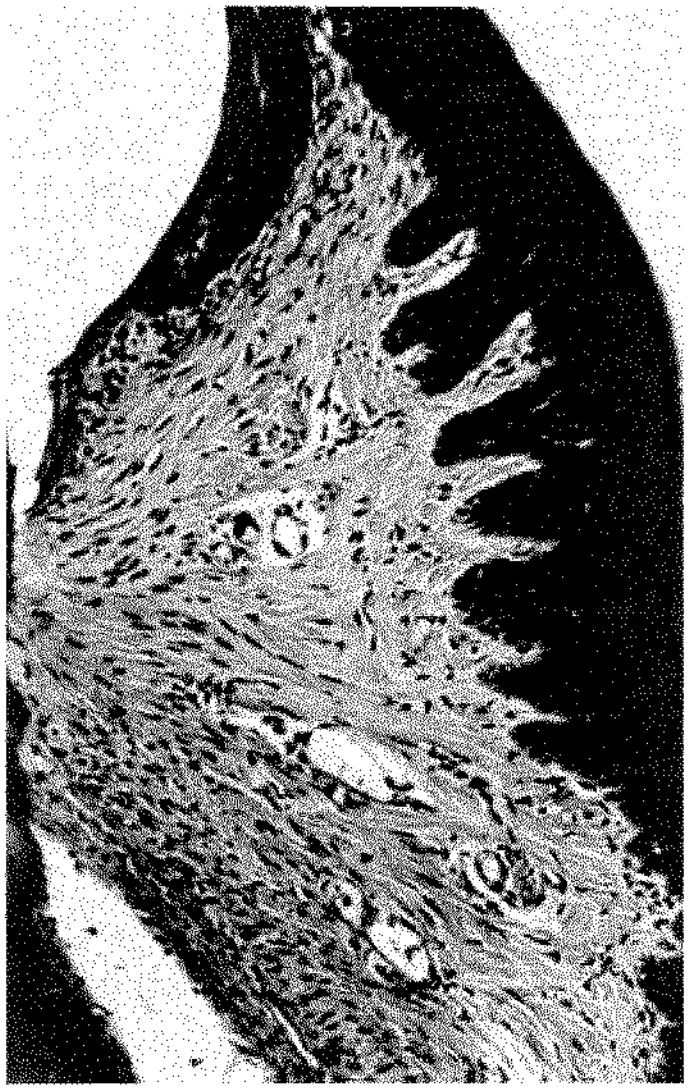


Foto 5: Aspecto geral da gengiva do grupo III de ratas prenhes sem ligadura, após 28 dias de tempo experimental, com infiltrado inflamatório abaixo do epitélio sulcular que apresenta estrutura regular. Aumento original de: 63X. H.E.

8.1.4 GRUPO IV

O Epitélio sulcular oral e epitélio oral da gengiva marginal, apresentaram-se espessos indicando acentuada atividade proliferativa da camada basal, acantose.

O Epitélio da bolsa periodontal apresentou - se mais espessado com proliferação acentuada de célula basais em relação ao grupo experimental irritante (grupoII).(foto 6). Nestas áreas havia aumento dos espaços intercelulares e presença de células mononucleares e polimorfonucleares. Foram observadas zonas de ulceração do epitélio da bolsa.

O Tecido conjuntivo apresentou-se edemaciado com , aumento dos espaços intercelulares com evidente infiltrado inflamatório e áreas de degradação de colágeno particularmente sob o epitélio juncional. Havia ulcerações na base da bolsa periodontal, próximos à superfície radicular e recobertas por material fibrinoso e neutrófilos e que também criavam zonas de exposição do tecido conjuntivo ao meio bucal.(fotos 7-8).

Foto 6: Aspecto geral das condições do periodonto do grupo IV (ratas prenhes com ligadura). Aumento original de: 40X. H.E.

Foto 7: Aspecto do infiltrado inflamatório no tecido conjuntivo subjacente ao epitélio da bolsa periodontal abaixo do epitélio da bolsa periodontal, desorganização do epitélio e presença de neutrófilos(grupoIV). Aumento original de: 63X. H.E.

Foto 8: Aspecto das crista óssea do grupo de ratas prenhes com ligadura. Observar reabsorção óssea na face lingual da margem óssea e presença de osteoclastos(grupoIV). Aumento original de: 63X. H.E.

8.2 DESCRIÇÃO RADIOGRÁFICA

8.2.1 GRUPO I

Radiográficamente este grupo não apresentou perda óssea evidente, estando de acordo com os padrões de normalidade

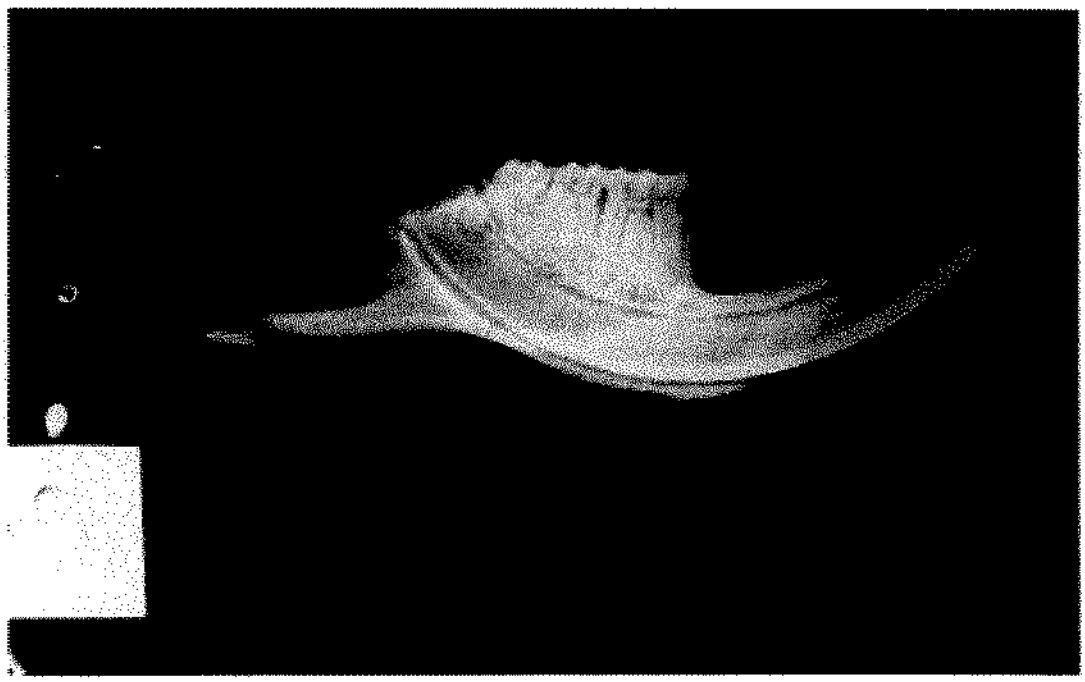


Foto 9 - Radiografia do grupo I, ratas não prenhez sem ligadura

8.2.2 GRUPO II

Este grupo apresentou perda óssea evidente na região de bifurcação, com área radiolúcida na região de bifurcação e integridade dos espaços do ligamento periodontal

Foto 10 - Radiografia do grupo II, ratas com ligadura

8.2.3 GRUPO III

Este grupo apresentou aspectos dentro dos padrões de normalidade.

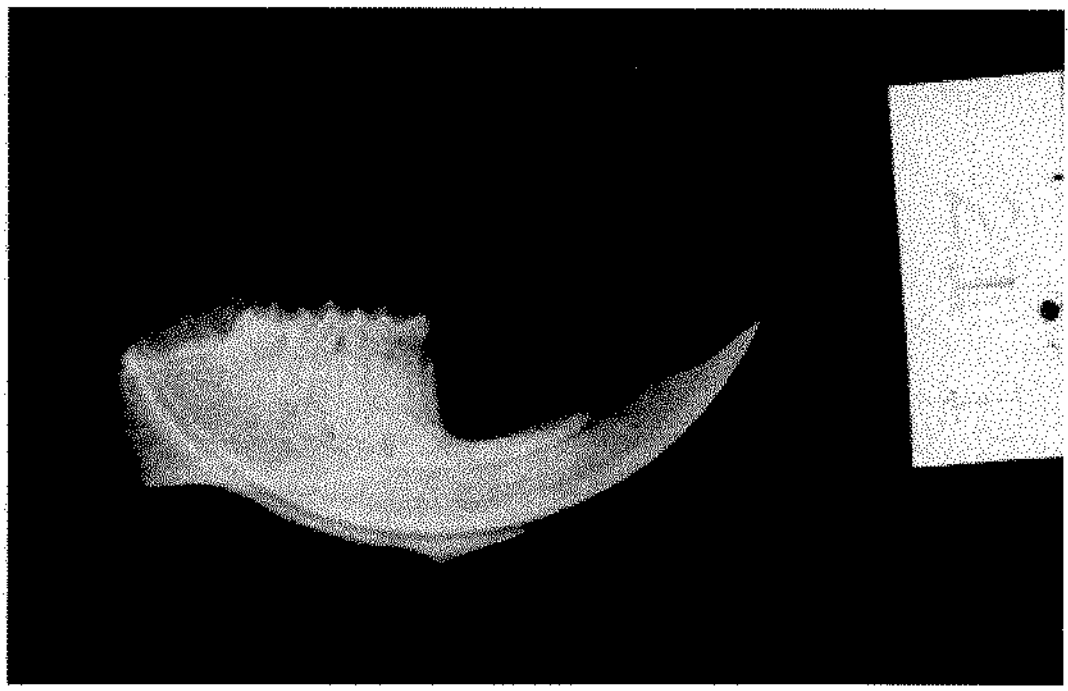


Foto 11 - Radiografia do grupo III, ratas prenhez sem ligadura

8.2.4 GRUPO IV

Este grupo apresentou perda óssea evidente na região de bifurcação, semelhante ao grupo II, também com área radiolúcida na região de bifurcação e integridade dos espaços do ligamento periodontal

Foto 12 - Radiografia do grupo IV, ratas prenhez com ligadura

8.3 TRATAMENTO ESTATÍSTICO.

A comparação entre grupos foi feita através do teste t-Student para duas amostras independentes; para os grupos sem ligadura e com ligadura, separadamente.

Sendo que os grupos apresentaram Homocedasticia.

Desta forma foi testado a hipótese.

$H_0 : \mu_1 = \mu_2$ versus $H_a : \mu_1 < \mu_2$ onde μ_1 refere-se ao grupo de ratas não prenhes e μ_2 refere-se ao grupo de ratas prenhes.

Como para os grupos de ratas sem ligadura (grupo I e grupo III) $t_{calc}=-1,61 > t_{tabela}=-1,67$, não se rejeita:

$H_0 : \mu_1 = \mu_2$, ao nível de 5% de probabilidade.

Para os grupos das ratas com ligadura (grupos II e grupo IV) $t_{calc}=-2,06 < t_{tabela}=-1,67$ rejeita-se H_0 e aceita-se a $H_a : \mu_1 < \mu_2$ ao nível de 5% de probabilidade, i.e., existem evidências de que a área de perda óssea inter-radicular do grupo de rata prenhe com irritante marginal é maior do que a perda óssea inter-radicular das ratas do grupo experimental não prenhe com irritante marginal.

Tabela 1- Média percentual, Erro padrão da média e Desvio padrão por grupo de estudo.

ESTATÍSTICAS	GRUPO I	GRUPO III	GRUPO II	GRUPO IV
MÉDIA	5,677318A	6,347666A	22,08212a	25,60284b
ERRO PADRÃO DA MÉDIA	0,341389	0,238748	1,155651	1,25462
DESVIO PADRÃO	1,869865	1,307676	6,329762	6,871839

*Médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste t-Student ao nível de $p<0,05$ e letras diferentes minúsculas diferem entre si pelo teste t-Student ao nível de $p<0,05$.

A média percentual obtida de cada grupo de estudo mostra uma maior perda óssea inter-radicular em favor do grupo de ratas prenhes com irritante marginal (grupo IV) quando comparado ao grupo de ratas não-prenhes com irritante marginal (grupo II) confirmando ser esta uma diferença estatisticamente significante quando analisada pelo teste t-Student ao nível de 0,05 de probabilidade.

Gráfico 1 - Média das perdas ósseas inter-radiculares obtidas por grupo de estudo.

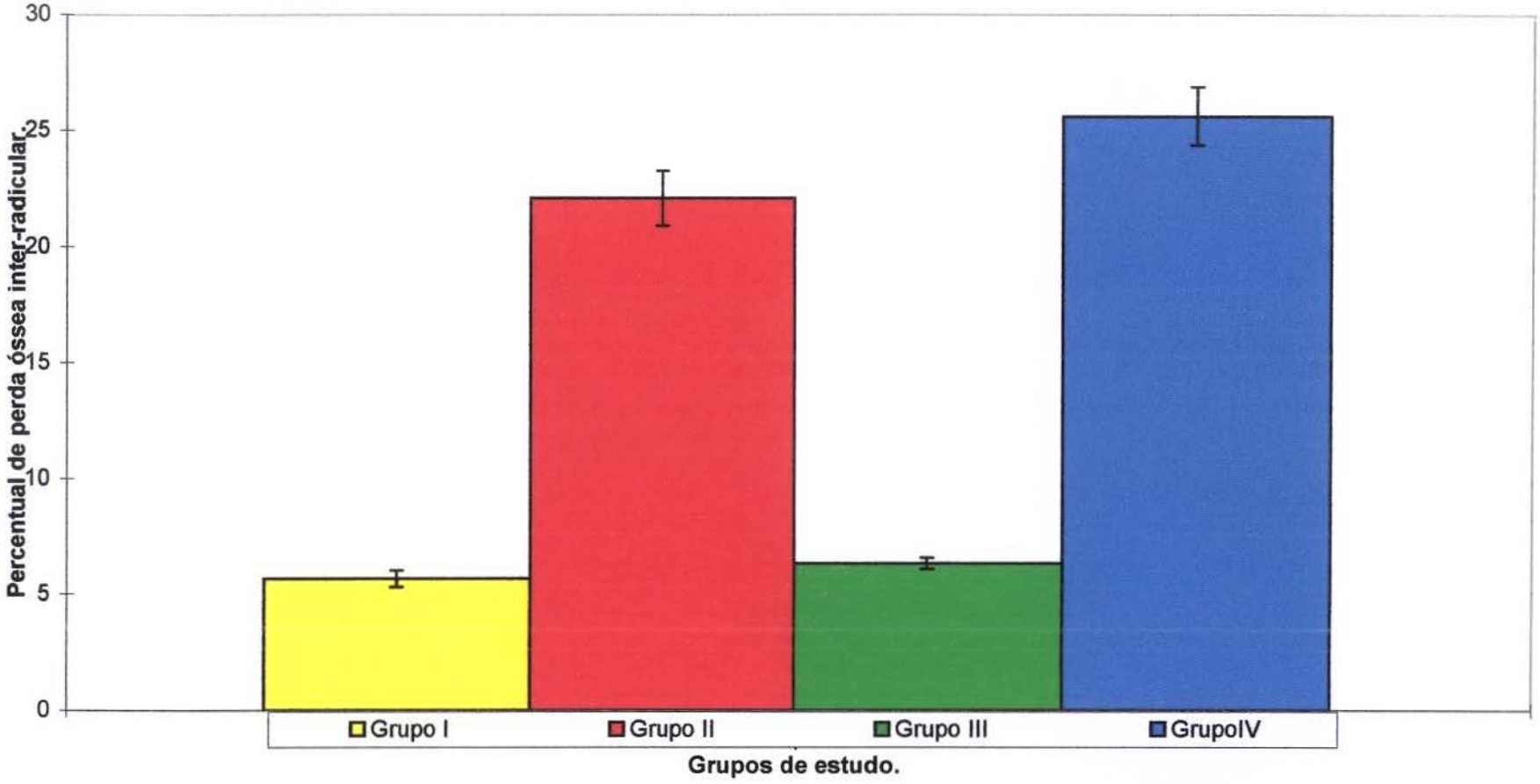


Gráfico 1 - Médias das perdas ósseas inter-radiculares obtidas por grupo de estudo.

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

9. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

O exame radiográfico tem se mostrado eficaz para avaliar a perda óssea periodontal experimentalmente induzida por ligadura em ratos, como demonstraram **SALLUM**[48](1982) e **TOLEDO**[57](1985). Os resultados obtidos mostraram-se confiáveis para a análise estatística, e por isto o método foi empregado para avaliar as possíveis perdas ósseas periodontais em ratas com periodontite experimental induzida por ligadura no molar e subseqüentemente a prenhez. Os resultados dos exames radiográficos confirmaram, com $p<0,05$, que houve significativa perda óssea inter-radicular, fato este correlacionado com dados clínicos e histológicos.

Há grande número de evidências no sentido de que a causa direta da gengivite é o acúmulo de placa bacteriana na região do sulco gengivo-dental (**LÖE et al.**[26], **1965; LINDHE et al.**[23], **1973; LINDHE & RILANDER**[24], **1975; PAYNE et al.**[45], **1975; PAGE & SCHROEDER**[43], **1976**). Entretanto outros fatores, locais e sistêmicos, são suspeitos de aumentarem o acúmulo de placa ou interferirem com a susceptibilidade dos tecidos gengivais ao ataque microbiano, por mecanismos até agora não totalmente conhecidos. Assim ambas as lesões, gengivite e periodontite têm sido descritas, considerando a existência de condições associadas, entre as quais endócrino-associadas, como a adolescência ou a gravidez. (**PAGE**[41], 1986)

Estudos epidemiológicos que têm reportado variada prevalência de inflamação gengival e sua ocorrência em diferentes ocasiões do período gestacional, não asseguram claramente se as alterações hormonais, isoladamente, são responsáveis por alterações inflamatórias gengivais nem especificam em que proporções atuam em conjunção com os irritantes locais nos tecidos periodontais com doença já instalada (**ADAMS et al.**[1], 1975; **GRANT et al.**[11], 1972; **BRZEZINSKY & ERB**[4], 1963; **ARAFAT**[2], 1974; **BRUSZT & BANOCZY**[3], 1974; **SAMANT et al.**[49], 1976; **SILNESS & LÖE**[51], 1964; **KOLODZINSKY et al.**[20], 1974; **PAPP et al.**[44], 1990; **HELMING**[15], 1952; **LÖE**[25], 1968; **LÖE & SILNESS**[29], 1963; **MAIER & ORBAN**[32], 1949; **OLIVARES**[40], 1974; **ROHACKOVÁ & TCHÁ**[47], 1958; **LEVY**[22], 1941; **GONZALES et al.**[10], 1962). A literatura sugere que a influência dos hormônios estrogênios ovarianos durante a gravidez pode ser um fator a induzir aumento na severidade da inflamação gengival, com comprometimento das fibras conjuntivas do periodonto. E à associação pode atribuir-se a ocorrência da perda óssea com valores significativos no grupo irritante com prenhez, como mostraram os resultados e a correspondente análise estatística (tabela 2).

Por estes resultados não parece correta a explicação de **MAYER & ORBAN**[32](1949), de que o fator irritativo local pode não ser a causa do que designaram de "Gengivite gravidarum específica", e apresentando a idéia de que o característico curso desta gengivite parecia indicar uma etiologia hormonal.

Conclusões mais lógicas decorrem de estudos clínicos sobre as discrepâncias entre índice gengival e índice de placa observados durante a gravidez e pós-parto. Tais estudos sugerem que juntamente com a placa dental algum fator é acrescentado e intensifica reações inflamatórias gengivais durante a gravidez (**LÖE**[26], 1965; **SILNESS & LÖE**[51],1964).

Nesta fase, segundo **HAIM**[14](1968) os vasos no tecido conjuntivo estão aumentados em número e tamanho. Com estes fenômenos vasculares, em mulheres grávidas o fluxo do fluido gengival esta aumentado e com a presença de hormônios **HOLM - PEDERSEN & LÖE**[16](1967). Um aumento da incidência e da severidade da doença periodontal na mulher, durante a gravidez, poderia ainda apresentar relação com alterações na configuração epitelial caracterizada por um relativo aumento no comprimento das projeções epiteliais no conjuntivo e reduzida queratinização, redução da substância fundamental do tecido conjuntivo e adelgaçamento da membrana basal(**TURESKY et al.**[59], 1958a; **TURESKY et al.**[60],1958b).

Antígenos microbianos da placa dental são os agentes desencadeantes e as alterações hormonais participam do quadro agravando a doença periodontal(**HORTON**[17], 1976) especialmente se a prenhez ocorre na vigência de doença periodontal estabelecida (**TSAMI-PANDI**[58],1989). No presente trabalho houve evidente perda óssea ao exame radiográfico, perda de inserção conjuntiva à observação histológica, em

conjunção com alterações histológicas e modificações na resposta do processo inflamatório do periodonto.

Assim, nas condições de programação do trabalho, os resultados apontam no sentido de que a gravidez possa associada a doença periodontal previamente instalada induzir, como realmente ocorreu, uma destruição das estruturas periodontais, com perda de inserção e perda óssea mais rápida na periodontite experimental já estabelecida e, por extensão, provavelmente em mulheres em idênticas condições.

Contudo, isto não tem sido observado nem relatado em trabalhos sobre o tema, segundo os quais as alterações gengivais na gravidez parecem não causar um dano mais severo ao periodonto, pois a perda de inserção periodontal não foi significante e houve redução da gravidade da gengivite após o parto (**LÖE & SILNESS**[29], 1963; **COHEN et al.**[5], 1969; **MIYASAKY et al.**[37], 1991). Neste presente estudo em ratas não foi possível confirmar estes dados porque: 1)houve perda óssea comprovada radiograficamente, 2)houve perda de inserção clínica, à observação histológica, com exposição de porções cervicais de raízes e 3)não houve período de observação pós-parto.

Estudos sobre história natural da doença periodontal em seres humanos indicaram que a perda de inserção na doença periodontal de progressão moderada, que constitui mais de 80% dos casos, aumenta com a idade, situando-se entre 0,05 e 0,5 milímetros ao ano, com média aproximada de

0,3 milímetros ao ano (**LÖE et al.**[28], 1978; **LÖE et al.**[27],1986). Com base nestes dados em um período de nove meses, que dura a gestação a perda média de inserção poderia ser de aproximadamente 0,22 milímetros. Ora, este seria um valor praticamente muito difícil de detectar em medições clínicas, que levaria à idéia de que não houve perda de inserção ou de perda óssea. Também neste trabalho em ratas o irritante gengival foi muito agressivo com a finalidade de produzir, durante o período experimental, uma perda óssea significativa para ser avaliada ao exame radiográfico após a remoção das mandíbulas em bloco, e através da ampliação das suas imagens radiográficas. Assim foi possível demonstrar uma diferença significante da proporção de destruição devida à doença periodontal em ratas prenhes e não-prenhes.

O aumento dos índices relativos à severidade da inflamação gengival está associado a uma ação sistêmica hormonal durante a gravidez. Aumentados níveis de progesterona, produzem dilatação e aumento da permeabilidade vascular gengival seguidos de estase circulatória e uma crescente sensibilidade aos irritantesda placa dental, explicando porque a inflamação se apresenta mais evidente durante a gravidez (**THOMPSON**[56], 1992).

Os resultados histológicos apresentam uma justificativa para os resultados dos exames radiográficos e ocorrência das perdas ósseas periodontais nos grupos estudados.

As amostras do grupo IV, das ratas com irritante marginal e prenhez, apresentaram áreas com edema intercelular e áreas de degradação de fibras do tecido conjuntivo gengival. Este grupo de ratas prenhes com irritante, exibiu figuras mais evidentes de infiltrado de leucócito polimorfonucleares do que os demais grupos sugerindo que o fenômeno pode estar condicionado a uma ação de hormônio progesterona, cujos níveis são crescentes durante a gestação assim como o estrogênio (**LÖE**[25], 1968; **MIELER & NITSCHKE**[36], 1969; **GUYTON**[13], 1973; **THOMPSON**[56], 1992). As imagens são semelhantes ao descrito por **HAIM**[14](1968) que estudando a hiperplasia gengival durante a gravidez, descreveu edema inter e intracelular no epitélio e ruptura dos desmossomos das células do tecido conjuntivo e epitelial, o que acreditamos poder participar do processo de degradação do tecido conjuntivo.

A ação hormonal sobre o periodonto tem sido demonstrada mesmo fora do período gestacional. Assim **LUNDGREN et al.**[31](1973) demonstraram que o tratamento isoladamente, com progesterona causou intenso acúmulo gengival de leucócitos polimorfonucleares em ratas. Em cães, injeções de progesterona mediaram um aumento da exsudação e da emigração de leucócitos polimorfonucleares dos vasos próximos ao sulco gengival e aumentaram a permeabilidade de capilares e vênulas em coelhos (**HUGOSON**[18], 1970; **LUNDGREN et al.**[31], 1973; **MOHAMED et al.**[35], 1974). É, portanto, justificável que no presente trabalho

alterações gengivais e do infiltrado inflamatório e permeabilidade vascular tenham ocorrido mais intensamente no grupo de ratas com irritante marginal e prenhes (grupo IV) do que nas ratas prenhes sem irritante (grupo III) e naquelas dos grupos não-prenhes (grupos I e II).

O edema e o infiltrado de leucócitos polimorfonucleares intenso na gengiva das ratas com irritante marginal (grupos II e IV), foi mais evidente nas ratas do grupo IV. A histomorfologia gengival do grupo III foi semelhante à do grupo I, sem irritante marginal e apresentou média de alteração radiográfica de 6,347% e que não mostrou diferença estatisticamente significante em relação aos dados do grupo I (controle) com média de 5,677% de alteração radiográfica.

O grupo IV apresentou média percentual de 25,60284% de perda óssea inter-radicular radiográfica que comparada aos resultados do grupo III (22,08212%) mostra diferença de $p<0,05$. Como o infiltrado de leucócitos polimorfonucleares manifestou-se muito evidente, provavelmente por causa da emigração leucocitária, leucocitose local, este fenômeno guarda uma relação com a perda óssea. **PAGE**[42](1982) relatou que em ratos com lesões espontâneas ou experimentalmente induzidas, com ulceração epitelial, em presença de rico infiltrado de neutrófilos, há o aumento da atividade osteoclástica, que pode resultar de fatores liberados pelos neutrófilos em fagocitose. Isto pode gerar degradação tecidual , inclusive perda óssea periodontal.

Todos os resultados são indicativos de que em ratas a prenhez atua intensificando a reação inflamatória gengival, em níveis histológico e clínico à observação histológica, e pode aumentar a perda óssea periodontal, durante a periodontite experimental.

CONCLUSÕES

10. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos segundo a metodologia empregada apontam para as conclusões seguintes:

1. Ao exame radiográfico quando comparados estatisticamente os grupos II e IV apresentaram diferenças com $p<0,05$, com maior perda óssea para o grupo IV.

2. Os aspectos histológicos também apresentaram modificações mais evidentes para o grupo IV, quando comparado ao grupo II.

3. A condição de prenhez mostrou interferir agravando o quadro de periodontite experimental em ratos.

4. A prenhez isoladamente não foi capaz de desenvolver perda óssea significativa.

5. Aos exames radiográfico e histológico quando comparados os grupos I e III não apresentaram diferença estatística significante.

11. ANEXO 1

Tabela 2- Média percentual dos valores das perdas ósseas inter-radiculares obtidos pela média de 4 medições.

Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
9,5	17,41293	6,74157	30,65326
7,92079	16,01731	6,60377	37,10407
3,4682	20,67039	8,14479	33,63288
2,57731	35,86956	7,23981	11,9266
5,41871	32,24299	6,31578	24,19354
3,75586	16,27906	7,02702	17,54385
5,68181	33,49753	4,45544	26,12612
4,12371	28,20515	5,15463	24,66367
3,63636	23,23232	6,28571	33,51648
5,52486	15,48672	5,13538	22,82608
4,12371	18,74914	6,48648	20,81218
6,84931	26,40449	6,94444	20,38834
2,5	16,85393	4,95495	22,22222
7,56756	26,48648	4,87804	29,19708
6,80628	26,23762	4,95867	18,93203
2,8409	23,11557	8,67052	19,51219
5,02512	17,56097	6,89655	30,73394
6,41025	22,33502	4,18848	26,80412
6,86274	16,96428	7,00934	22,44897
5,32544	17,3913	6,31067	19,80198
6,6265	35,22727	8,41121	36,86868
7,14285	19,82758	5,18134	18,4466
4,32098	13,19796	10	25,17006
5,28846	16,04278	5,91715	24,71264
6,31578	22,01834	6,19469	26,66666
5,42168	17,96116	5,55555	20,77294
7,34463	14,88384	6,62983	15,92039
6,66666	20,47699	6,86724	34,65138
5,32544	24,45652	5,4878	36,97916
9,94764	27,35849	5,78313	34,85714

12. SUMMARY

The objective of this experiment was to examine the influence of pregnancy effects on the experimental periodontitis of the first mandibular molar of female Rattus norvergicus albinus provoked by the presence of a silk ligature around the neck of the tooth, the pregnancy and both the two factors acting in conjunction. The silk ligature was placed at the gingival sulcus of seventy five female rats. After six days forty female rats were placed overnight with males of proven fertility. The day after insemination was designated as first day of pregnancy. Immediately after parturition animals were sacrificed completing a time period between 27 and 29 days with ligature. Thirty-five non-pregnant female rats were also sacrificed 28 days after the ligature. All mandibles were removed, fixed in formaldehyde and split at the symphysis. Animals were divided in groups as follows: I)non-pregnant(n=30), II) non-pregnant plus ligature(n=30), III) pregnant (n=30), IV) pregnant plus ligature(n=30) taken randomly. Radiographic examination was performed to quantify bony resorption in the inter-radicular areas of first molars. All the hemi-mandibles were processed for histological examination, and the sections stained with haematoxylin and eosin. The results showed that in areas of marginal gingivae there was infiltration of mainly polymorphonuclear leukocytes, most evident and with periodontal bone resorptions in the groups with silk

ligature. In the same groups the analysis of radiographic data by t-Student test showed that pregnancy increased the destruction of periodontal structures and bone resorption ($p<0,05$). The results indicate that pregnancy acts in conjunction with local irritants in experimental periodontites by ligature in rats. These effects can be attributed to the hormonal conditions of pregnancy. The group IV (ligature plus pregnancy) was that who showed greatest bony loss.

13. REFERÊNCIAS BILIOGRÁFICAS[1]

1. ADAMS, D.; CARNEY, J.S.; DICKS, D.A. Pregnancy gingivitis: a survey of 100 antenatal patients. J. Periodont., 46: 143, 1975. [Abstract]

2. ARAFAT, A.H. Periodontal status during pregnancy. J. Periodont., 45: 641-3, 1974.

3. BRUSZT, P. & BANOCZY, J. The frequency of gingivitis during pregnancy. Oral Res. Abstr., 9: 826, 1974. [Abstract, 5510]

4. BRZEZINSKY, A. & ERB, A. Gingivitis in pregnant israeli women. J. Periodont. , 34: 447-50, 1963.

5. COHEN, D.W.; FRIEDMAN, L.; SHAPIRO J.; KYLE, G.C. A longitudinal investigation of the periodontal changes during pregnancy. J. Periodont., 40: 563-70, 1969.

6. _____. *et alii*. Longitudinal investigation of the periodontal changes during pregnancy and fifteen months post-partum. Part II. J. Periodont., 42: 653-7, 1971.

[1] De acordo com a NB-66, de 1978, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Abreviatura dos periódicos de conformidade com o "World List of Scientific Periodicals".

7. FARRIS, E.J. & GRIFFITH, J.Q. The rat in laboratory investigation. 2.ed. New York, Hafner Publishing, 1971. p.3.

8. GLICKMAN, I. Periodontia Clínica. 7.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1992. p.337-40.

9. GOMPERTZ, J.M. Factors influencing mouth conditions during pregnancy. J. Am. dent. Ass., 14: 113-6, 1927.

10. GONZALES, O.S.; DE LA FUENTE, R.; CHACON, V.B. Gingivitis of pregnancy. Dent. Abstr., 7: 345, 1962. [Abstract]

11. GRANT, D.A.; STERN, I.B.; EVERETT, F.G. Orban's periodontics a concept-theory and practice. 4.ed. Saint Louis, Mosby, 1972. p.217-8.

12. GRIDLY, M.S. Gingival condition in pregnant women. Oral Surg., 7: 641-6, 1954.

13. GUYTON, A.C. Tratado de fisiologia médica. 4.ed. , Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1973. p.937.

14. HAIM, G. Electronmicroscopic investigations of gingival hyperplasia during pregnancy. Oral Res. Abstr., 3: 1122, 1968. [Abstract, 7104]

15. HELMING, F. Gingivitis gravidarum. Oral Surg., 5: 734-51, 1952.

16. HOLM-PEDERSEN, P. & LÖE, H. Flow of gingival exudate as related to menstruation and pregnancy. J. periodont. Res., 2: 13-20, 1967.

17. HORTON, J.; SOUGPAISAN, Y.; MATANOSKI, G.M. Limphoproliferative response and human chorionic gonadotropin in pregnant women with periodontal disease. J. dent. Res., 55: 577, 1976. [Abstract]

18. HUGOSON, A. Gingival inflammation and female sex hormones. J. periodont. Res. , 5: 1, 1970 [Supplement]. *Apud* RABER-DURLACHER, J.E. *et alii*. *Op.cit*. Ref. 46.

19. JOHNSON , I.H. Effects of local irritation and dextran and sulphate administration on the periodontium of the rat. J. periodont. Res. , 10 : 332-45 , 1975 .

20. KOLODZINSKI, E.; MALATESTA, E. ; CALDELAS, N.M. Cambios gengivales en mujeres embarazadas. Rev. Asoc. Odont. argent. , 62: 24-7, 1974.

21. LAPP, C.A.; THOMAS, M.E.; LEWIS, J.B. Modulation by progesterone of interlekin-6 production by gingival fibroblasts. J. Periodont., 66: 279-84, 1995.

22. LEVY, A.T. Monograph on gingivitis gravidarum. Dental Items, 63: 1146-60, 1941.

23. LINDHE, J.; HAMP, S.E. & LÖE, H. Experimental gingivitis in the beagle dog. J. of Periodontal Res., 8:1-10, 1973.

24. _____. & RYLANDER, H. Experimental gingivitis in young dogs. A morphometric study. Scand. J. dent. Res., 83: 314-26, 1975.

25. LÖE, H. Endocrinologic influences on periodontal disease. Pregnancy and diabetes mellitus. Ala. J. Med. Sci., 5: 336-48,1968.

26. LÖE, H. Periodontal changes in pregnancy. J. Periodont., 36: 209-17, 1965.

27. _____.; ANERUD, A.; BOYSEN, H.; MORRISON, E. Natural history of periodontal disease in man. J. clin. Periodont., 13: 431-40, 1986.

28. _____.;_____.;_____. & SMITH, M. the natural history of periodontal disease in man. The Rate of Periodontal Destruction Before 40 years of age. J. Periodont., 49: 607-620, 1978.

29. _____. & SILNESS, J. Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. Acta odont. scand., 21: 533-51, 1963.

30. _____.; THEILADE, E.; JENSENS, B. Experimental gingivitis in man. J. Periodont., 36: 177-87,1965.

31. LUNDGREN, D.; MAGNUSSON, B.; LINDHE, J. Connective tissue alterations in gingivae of rats treated with estrogen and progesterone. Odont. Revy , 24: 49-58, 1973.

32. MAIER, A.W.; ORBAN, B. Gingivitis in pregnancy. Oral Surg., 2: 334-73, 1949.

33. MARTIN, B.J.; STEWART, J.S.; STONE, M. Pregnancy gingivitis and the dental hygienist's intervention. Can. dent. Hyg., 19: 121-4, 1985.

34. MERRIT, A.H. Periodontal disease: diagnosis and treatment. New York, Mac Millan, 1945. p.55.

35. MOHAMED, A.H.; WATERHOUSE, J.P.; FRIEDERICI, H.H.R. The Microvasculature of the Rabbit Gingiva as Affected by Progesterone: An Ultraestrutural Study. J. Periodontol., 45: 50-60, 1974.

36. MIELER, I.; NITSCHKE, U. Histologic investigation of the interdental papilla duration pregnancy. Oral Res. Abstr., 4: 440, 1969. [Abstract, 2820]

37. MIYAZAKI, H. *et alii*. Periodontal condition of pregnant women assessed by CPITN. J. clin.Periodont., 18(10): 751-4, 1991.

38. MONASH, S. Proliferative gingivitis in pregnancy. Surg. Gynec. Obst., 42: 794, 1926. Opus Cit 31.

39. OJANOTKO-HARRI, A. & HARRIS, M.P. Progesterone metabolism by rat oral mucosa. II.the effect of pregnancy. J. Periodontal Res., 17: 169-201, 1982.

40. OLIVARES, R.L. Dental problem in menstruation, pregnancy and menopause. Oral Res. Abstr., 9: 252, 1974. [Abstract, 1644].

41. PAGE, R.C. Gingivitis. J. clin. Periodont., 13: 345-55, 1986.

42. _____. & SCHOROEDER, H.E. Periodontitis in Man and Other Animals. A comparative review. Karger. Basel. 1982. pp.96-97.

43. _____. & _____. Pathogenesis of inflamatory periodontal disease. Lab. Invest., 33: 235-49, 1976.

44. PAPP, E.; KENGYELI, I.; BANOCZY, J.; CSORDAS, T. Longitudinal study of the dental status of pregnant women under prenatal care. Fogorv Sz., 83(7): 199-204, 1990. [Abstract Medline]

45. PAYNE, W.A.; PAGE, R.C.; OGILVIE, A.L.; HALL, W.B. Histopathologic features of the initial and early stages of experimental gingivitis in man. J. Periodontal Res., 10:, 51-54, 1975.

46. RABER-DURLACHER, J.E. *et alii*. Experimental gingivitis during pregnancy and post-partum. imunohistochemical aspects. J. Periodont., 64: 211-8, 1993.

47. ROHACKOVÁ, J. & TICHÁ, B. Pregnancy gingivitis (gingivitis gravidarum). Dent. Abstr., 3: 357-8, 1958.

48. SALLUM , A.W. Estudo da participação do trauma de oclusão na evolução da doença periodontal em ratos (*Rattus Norvergicus Albinus*) Piracicaba, 1982 [Tese (Livre-Docência) - FOP-UNICAMP].

49. SAMANT, A.; MALICK, C.P.; CHABRA, S.K.; DEVI, P.K. Gingivitis and periodontal disease in pregnancy. J. Periodont., 47: 415-22 , 1976.

50. SCHLUGER, S.; YOUDELIS, R.A.; PAGE, R.C. Periodontal disease; basic phenomena, clinical management and oclusal and restorative interrelationschips. Philadelphia, Lea & Febiger, 1977. p.88-9.

51. SILNESS, J. & LÖE, H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal conditions. Acta odont. scand., 22: 121-35, 1964.

52. _____. & _____. Periodontal disease in pregnancy. III. Response to local treatment. Acta odontol. scan., 24: 747-59, 1966.

53. SUD, V. Gingival changes in deficiency states, pregnancy and lactation period. J. dent. Res., 30: 1927, 1951.

54. SZEKERES-BARTHO, J. Immunosuppression by progesterone in pregnancy. Boca Raton, Crc Press, 1992. *Apud* LAPP, C.A.; THOMAS, M.E. & LEWIS, J.B. *Op. cit.* Ref. 21.

55. TAMMOSCHEIT, V.G. Gingiva during pregnancy. Dent. Abstr., 8: 469, 1963. [Abstract]

56. THOMPSON, H. Pregnancy and periodontal health. J. N. Z. Soc. Periodont., 73: 16-18, 1992.

57. TOLEDO, S. Influência de alterações funcionais da glandula tireóide e da irritação marginal nos tecidos periodontais. estudo radiográfico e histológico em ratos (*Rattus Norvergicus Albinus*). Piracicaba, 1985. [Tese (Livre-Docência) - FOP-UNICAMP].

58. TSAMI-PANDI, A. Old and wew aspects of gingivitis in pregnancy. Odontostomat. Proodos, 43: 203-10, 1989. [Abstract Medline]

59. TURESKY, S.; FISCHER, B.; GLICKMAN, I. A histochemical study of the gingiva of human beings in pregnancy. J. dent. Res., 37: 64, 1958(a). [Abstract]

60. _____.; _____.; _____. A histochemical study of the attached gingiva in pregnancy. J. dent. Res., 37: 1115-22, 1958(b).

61. VITTEK, J.; GORDON, G.G.; RAPPAPORT,S.C.; SOUTHERN, A.L. Effect of plasma progesterone on d^4-3-ketosteroid-5a reductase activity in human gingiva and its biological significance. J. periodont. Res., 17: 657-61, 1982.

62. VITTEK, J. *et alii*. Specific estrogen receptors in human gingiva. J. clin. Endocr. Metab., 54: 608-12, 1982. *Apud* RABER-DURLACHER, J.E. *et alii*. *Op. cit*. Ref. 46.

63. WAERHAUG, J & HANSEN, E.R. Periodontal changes incident to prolonged occlusal overload in monkeys. Acta odont. scand., 24: 91-105, 1966.

64. WARSHAWSKY, H. & MOORE, G. A light and electron microscopic study of the nearly mature enamel of rat incisors. Anat. Rec., 169: 559-84,1971.

65. ZACHARIASEN, R.D. The effect of elevated ovarian hormones on periodontal health: oral contraceptives and pregnancy. Women Hlth, 20(2): 21-30,1993. [Abstract Medline]