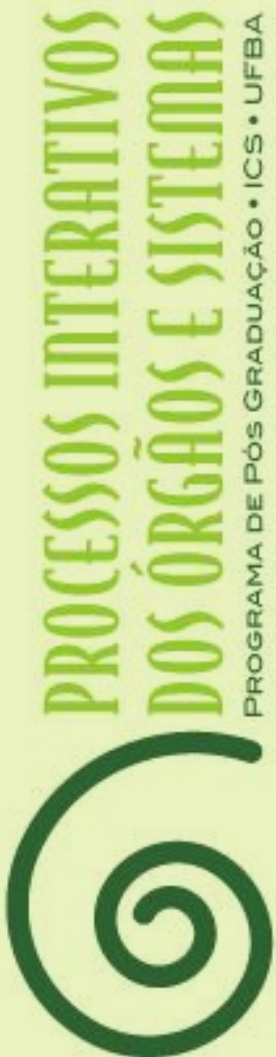


# UFBA

Universidade Federal da Bahia  
Instituto de Ciências da Saúde

**LEONARDO MORAIS GODOY FIGUEIREDO**



**AVALIAÇÃO IMUNOGENÉTICA DA RELAÇÃO  
ENTRE A DOENÇA PERIODONTAL MATERNA  
E O BAIXO PESO  
AO NASCER: ESTUDO-PILOTO**

Salvador  
2012



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROCESSOS INTERATIVOS DOS ÓRGÃOS E  
SISTEMAS**

**LEONARDO MORAIS GODOY FIGUEIREDO**

**AVALIAÇÃO IMUNOGENÉTICA DA RELAÇÃO ENTRE A DOENÇA  
PERIODONTAL MATERNA E O BAIXO PESO AO NASCER: ESTUDO-PILOTO**

**Salvador  
2012**

**LEONARDO MORAIS GODOY FIGUEIREDO**

**AVALIAÇÃO IMUNOGENÉTICA DA RELAÇÃO ENTRE A DOENÇA  
PERIODONTAL MATERNA E O BAIXO PESO AO NASCER:  
ESTUDO-PILOTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, para o processo de qualificação, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas.

**Orientador: Prof. Dr. Isaac Suzart Gomes Filho**

**Co-orientadora: Profa. Dra. Soraya Castro Trindade**

**Salvador  
2012**

Figueiredo, Leonardo Morais Godoy.

Avaliação imunogenética da relação entre a doença periodontal materna e o baixo peso ao nascer : estudo-piloto / Leonardo Morais Godoy Figueiredo. - 2012. 54 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Isaac Suzart Gomes Filho.

Co-orientadora: Profa. Dra. Soraya Castro Trindade.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciência da Saúde. Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Salvador, 2012.

1. Doença Periodontal. 2. Baixo peso ao nascer. 3. Imunologia. 4. Periodontite. 5. Genética. I. Gomes Filho, Isaac Suzart. II. Trindade, Soraya Castro. III. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciência da Saúde. Programa de Pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas. IV. Título.

CDD 617.632 - 23. ed.

**LEONARDO MORAIS GODOY FIGUEIREDO**

**AVALIAÇÃO IMUNOGENÉTICA DA RELAÇÃO ENTRE A DOENÇA PERIODONTAL  
MATERNA E O BAIXO PESO AO NASCER: ESTUDO-PILOTO**

Dissertação apresentada para qualificação, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Bahia.

Aprovado em,

**Banca Examinadora**

**Isaac Suzart Gomes Filho** – Orientador \_\_\_\_\_

Pós-doutorado em Saúde Coletiva, pela Universidade Federal da Bahia  
Universidade Estadual de Feira de Santana

**Paulo Henrique Couto Souza** \_\_\_\_\_

Pós-Doutorado no Centro de Imaginologia Oral da Universidade de Leuven, BE.  
Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

**Johelle de Santana Passos** \_\_\_\_\_

Doutora em Saúde Coletiva, pela Universidade Federal da Bahia  
Universidade Estadual de Feira de Santana

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE



ATA DA SESSÃO PÚBLICA DO COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO  
PROCESSOS INTERATIVOS DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS

Aos doze dias do mês de dezembro de dois mil e doze, reuniu-se em sessão pública o Colegiado do Programa de Pós- Graduação Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas com a finalidade de apreciar a **Defesa Pública da Dissertação** do Pós-graduando **Leonardo Morais Godoy Figueiredo**, através da Comissão Julgadora composta pelos Professores **Isaac Suzart Gomes Filho, Johelle de Santana Passos Soares e Paulo Henrique Couto Souza**. O título da Dissertação apresentado foi **Doença Periodontal materna e baixo peso aos nascer: avaliação imunogenética**. Ao final dos trabalhos, os membros da mencionada Comissão Examinadora emitiram os seguintes pareceres:

Prof. Dr. Isaac Suzart Gomes Filho APROVADO

Profa. Dra. Johelle de Santana Passos Soares APROVADO

Prof. Dr. Paulo Henrique Couto Souza APROVADO

Franqueada a palavra, como não houve quem desejasse fazer uso da mesma, lavrou-se a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada por todos.

Salvador, 12 de dezembro de 2012

Prof. Dr. Isaac Suzart Gomes Filho

Profa. Dra. Johelle de Santana Passos Soares

Prof. Dr. Paulo Henrique Couto Souza

FIGUEIREDO, Leonardo Morais Godoy. *Avaliação imunogenética da relação entre a doença periodontal materna e o baixo peso ao nascer: estudo-piloto*. 56 f. 2012. Dissertação (Mestrado em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2012.

## RESUMO

A periodontite e a prematuridade ou baixo peso ao nascer se destacam dentre os estudos que avaliam a influência da condição bucal sobre condições sistêmicas, pois tanto a condição bucal quanto os desfechos gestacionais são considerados importantes questões na área de saúde pública. A relação entre essas duas condições permanece ainda controversa. **Objetivo:** Avaliar os polimorfismos genéticos das citocinas Interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) e interleucina-10 (IL-10) em puérperas agrupadas de acordo com o baixo peso ao nascer e a presença de periodontite. **Método:** Foi desenvolvido estudo-piloto observacional, do tipo transversal, no qual os dados avaliados são provenientes de um estudo maior, retrospectivo, em 77 mulheres, cujo parto foi realizado no Hospital da Mulher em Feira de Santana, Bahia, Brasil. Todas as participantes responderam a um questionário com informações relativas aos aspectos sociodemográficos, estilo de vida e condição de saúde, bem como foram submetidas a um exame bucal completo. Além disso, a coleta de sangue nas puérperas foi realizada para extração do DNA das células brancas e posterior análise do polimorfismo genético das citocinas IL-6 (-174), TNF- $\alpha$  (-308) e IFN- $\gamma$  (+874) e IL-10 (-1082G/A; -819C/T; -592C/A) por reação em cadeia da polimerase. As mulheres foram divididas em dois grupos, de acordo com a condição periodontal: *Grupo com Periodontite (CP)* e *Grupo sem Periodontite (SP)*. As participantes foram ainda subdivididas em dois grupos, de acordo com o desfecho gestacional: *Grupo A* – composto por mães de recém-nascidos com peso ao nascer < 2.500 gramas e *Grupo B* – composto por mães de recém-nascidos com peso ao nascer  $\geq$  2.500 gramas. **Resultados:** Os achados, no que se refere tanto ao desfecho de peso ao nascimento (< 2.500g), quanto à periodontite materna, mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos de comparação, quanto aos alelos, IL-6 (-174), TNF- $\alpha$  (-308) e IFN- $\gamma$  (+874), e genótipos IL-10 (-1082; -819; -592) estudados, responsáveis pelo fenótipo clínico inflamatório. **Conclusão:** Embora não tenha havido diferença estatisticamente significativa, a medida epidemiológica aponta para possível associação entre os alelos e genótipos estudados entre os grupos de comparação. No estudo original, pretende-se esclarecer melhor essa questão de investigação, ainda incipiente.

**Palavras-chave:** Doença periodontal. Baixo peso ao nascer. Imunologia. Periodontite. genética.

FIGUEIREDO, Leonardo Morais Godoy. *Immunogenetic evaluation of the relationship between maternal periodontal disease and low birth weight: a pilot study*. 56 s. 2012. (Master's thesis Intercative Processes of Organs and Systems) – Health Sciences Institut, Federal University of Bahia, Salvador.

## ABSTRACT

Among the studies that evaluate the influence of oral health on systemic conditions, the periodontitis and prematurity / low birth weight stand out, because both the oral condition as gestational outcomes are considered important issues in healthcare public. The relationship between these two conditions remains controversial. **Objective:** To evaluate the genetic polymorphisms of cytokines interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) and Interleukin-10 (IL-10) in mothers grouped in accordance with the low birth weight and presence of periodontitis. **Methods:** An observational, cross-sectional study was developed, in which data are evaluated from a larger study, retrospective case-control in 77 women whose delivery was performed at Women's Hospital in Feira de Santana, Bahia, Brazil. All participants answered a questionnaire with information concerning to sociodemographic aspects, lifestyle and health condition, and underwent a complete oral examination. Moreover, blood sampling was performed on mothers to extract the DNA from the white blood cells and subsequent analysis of genetic polymorphism of IL-6 (-174), TNF- $\alpha$  (-308) and IFN- $\gamma$  (+874) and IL-10 (-1082G / A, -819C / T, -592C / A) by polymerase chain reaction (PCR). The women were divided into two groups according to periodontal condition: Group with periodontitis (GP) and Group with no periodontitis (NP). The participants were further divided into two groups according to the gestational outcome: Group A - comprised of mothers of newborns with birth weight <2,500 grams and Group B - comprised of mothers of newborns with birth weight  $\geq$  2,500 grams. **Results:** The findings with regard to both outcome: birth weight <2,500 g as the maternal periodontitis, showed no statistically significant difference between the comparison groups in relation to the studied alleles, IL-6 (-174), TNF- $\alpha$  (-308) and IFN- $\gamma$  (+874), and genotypes, IL-10 (-1082, -819, -592), responsible for the inflammatory clinical phenotype. **Conclusion:** Although there was no statistically significant difference, the epidemiological measurement signaled to a possible association between the genotypes and alleles between the comparison groups. In the original study the researchers intend to clarify the issue of the research, which is still incipient.

**Keywords:** Periodontal disease. Low birth weight. Immunology. Genetic periodontitis.



## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1</b>	Diagrama do modelo teórico para imunomodulação frente a estímulos de periodontopatógenos e a patogênese da doença periodontal	14
-----------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Características gerais entre os grupos de mães de recém-nascidos com peso < 2.500g (GRUPO A) e o grupo de mães de recém-nascidos com peso ≥ 2.500g (GRUPO B) (N=77), Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2012	35
<b>Tabela 2</b>	Características comportamentais relacionadas à saúde bucal entre os grupos-caso (mães de nascidos vivos com peso ao nascer < 2.500 gramas) e controle (mães de nascidos vivos com peso ao nascer ≥ 2.500 gramas) (N=77), Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2012	37
<b>Tabela 3</b>	Frequências alélicas de IL-6 (-174), TNF- $\alpha$ (-308) e IFN- $\gamma$ (+874) e genotípica de IL-10 (-1082; -819; -592) entre o grupo de mães de recém-nascidos com peso < 2.500g (GRUPO A) e o grupo de mães de recém-nascidos com peso ≥ 2.500g (GRUPO B), Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2012	38
<b>Tabela 4</b>	Características gerais entre os grupos de mães com periodontite e o grupo de mães sem periodontite (N=76), Feira de Santana, Bahia, Brasil	39
<b>Tabela 5</b>	Características comportamentais relacionadas à saúde bucal entre os grupos de mães com periodontite e o grupo de mães sem periodontite (N=76). Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2012	41
<b>Tabela 6</b>	Frequências alélicas de IL-6 (-174), TNF- $\alpha$ (-308) e IFN- $\gamma$ (+874) e genotípica de IL-10 (-1082; -819; -592) entre o grupo de mães com periodontite e o grupo de mães sem diagnóstico de periodontite. Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2012	42

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	Interferon gamma
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Fator de necrose tumoral- $\alpha$
<b>IL-6</b>	Interleucina-6
<b>IL-10</b>	Interleucina-10
<b>IL-1<math>\alpha</math></b>	Interleucina- 1 alfa
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	Interleucina- 1 beta
<b>IL-8</b>	Interleucina-8
<b>Th1</b>	T-helper 1
<b>Th2</b>	T-helper 2
<b>LPS</b>	Lipopolissacarídeo
<b>CSIF</b>	Fator inibidor de síntese de citocinas
<b>C.E.P</b>	Comitê de ética em pesquisa
<b>IBGE</b>	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
<b>PCR</b>	Reação de polimerase em cadeia
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b>	11
2	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b>	14
2.1	O PAPEL DAS CITOCINAS NA DOENÇA PERIODONTAL	14
2.2	DOENÇA PERIODONTAL E PREMATURIDADE OU BAIXO PESO AO NASCER	17
3	<b>OBJETIVOS</b>	19
3.1	GERAL	19
3.2	ESPECÍFICOS	19
4	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	20
4.1	POPULAÇÃO E ÁREA DO ESTUDO	20
4.2	DESENHO DO ESTUDO	20
4.3	PROCEDIMENTOS DE AMOSTRAGEM	20
4.3.1	<b>Tamanho da amostra do estudo definitivo</b>	20
4.3.2	<b>Composição dos grupos em estudo</b>	21
4.3.3	<b>Procedimentos de coleta de dados</b>	21
4.3.4	<b>Instrumentos</b>	22
4.4	DIAGNÓSTICO DA DOENÇA PERIODONTAL	22
4.4.1	<b>Descritores clínicos avaliados</b>	23
4.5	AVALIAÇÃO DO DESFECHO GESTACIONAL – BAIXO PESO AO NASCER	24
4.6	AVALIAÇÃO IMUNOGENÉTICA	25
4.6.1	<b>Obtenção de células</b>	25
4.6.2	<b>Extração de DNA</b>	25
4.6.3	<b>Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)</b>	26
4.7	DEFINIÇÃO DAS VARIÁVEIS	26
4.7.1	<b>Variável dependente</b>	26
4.7.2	<b>Variáveis independentes</b>	27
4.7.3	<b>Covariáveis</b>	28
4.8	PROCEDIMENTOS DE ANÁLISE DOS DADOS	30
4.9	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	30
5	<b>RESULTADOS</b>	32
6	<b>DISCUSSÃO</b>	43

7	<b>CONCLUSÕES</b>	46
	<b>REFERÊNCIAS</b>	47
	<b>APÊNDICES</b>	52
	<b>APÊNDICE A – Consentimento Informado</b>	52
	<b>APÊNDICE B – Questionário</b>	53
	<b>ANEXO – Carta do Comitê de Ética em Pesquisa</b>	55

## 1 INTRODUÇÃO

A doença periodontal é uma infecção bacteriana crônica, multifatorial, caracterizada pela resposta inflamatória do hospedeiro aos microrganismos e seus produtos. Seu desenvolvimento inclui o comprometimento dos tecidos de proteção e suporte do dente. Sabe-se, ainda, que esse processo infeccioso e inflamatório pode ser apontado como um potencial fator na ocorrência de eventos adversos em outras partes do corpo, levando ao estabelecimento da interação entre a infecção oral e outras doenças ou condições sistêmicas. (FIGUEIREDO; TRINDADE, 2011; FREITAS et al., 2012)

Dentre as possíveis associações da influência da condição bucal com as condições sistêmicas, destaca-se aquela da doença periodontal e da prematuridade ou baixo peso ao nascer, amplamente estudada, o que se reflete no aumento considerável do número de pesquisas sobre o assunto, descritas na literatura. (TRINDADE et al., 2012) Tanto a condição bucal quanto os desfechos gestacionais são considerados importantes questões na área de saúde pública. A prematuridade - ou baixo peso ao nascer - é forte determinante da mortalidade infantil e da mortalidade neonatal, particularmente. A doença periodontal é a segunda condição bucal mais prevalente no mundo, com índices de 5 a 20 % da população mundial. (CRUZ et al., 2010)

A distribuição da infecção periodontal varia de acordo com o nível de desenvolvimento da região estudada em todo o mundo, a condição socioeconômica, a etnia, bem como de outros fatores relacionados ao processo de saúde e doença. (SRINIVAS; PARRY, 2012) Em investigação realizada em 2002, 90,8 % dos homens e 86,4% das mulheres também apresentavam diagnóstico da infecção periodontal. (DIAZ; PIMENTEL; RIOSL, 2002)

O índice de perda de inserção periodontal, de 0-3mm, no grupo etário de 35 a 44 anos, na região Nordeste, foi de 52,7%. (BRASIL. Ministério da Saúde, 2011) Já a prematuridade ou baixo peso ao nascer, importantes preditores de morbimortalidade infantil (LIMA; SAMPAIO, 2004; MAHAN; ESCOTT-STUMP; RAYMOND, 2012), não vêm apresentando tendência de redução, mesmo em países desenvolvidos, onde a prevalência se encontra em torno de 6% a 9%. (LAWN et al., 2004) No Brasil, essa ocorrência é, em média, de 8,0% (BRASIL. Ministério da Saúde, 2011), com variações nas macrorregiões. No Nordeste, atingiu 12,8%, mesmo em áreas cobertas pelo Programa de Agentes Comunitários e pelo Programa de Saúde da Família (BRASIL. Ministério da Saúde, 2011). Assim, esses dados

mostram a importância de se estudar essas duas doenças ou condições e a relevância da relação entre elas.

Apesar de a associação entre doença periodontal em gestantes e prematuridade ou baixo peso ao nascer se manter, mesmo quando são controlados os fatores que contribuem tanto para a doença bucal em gestantes, quanto para a ocorrência dos referidos desfechos (OFFENBACHER et al., 1996; DASANAYAKE, 1998; DAVENPORT et al., 1998; JEFFCOAT et al., 2001; LOURO et al., 2001; CRUZ et al., 2005; GAZOLLA et al., 2007; GOMES-FILHO et al., 2007; CRUZ et al., 2009; HEIMONEN et al., 2009; KHADER et al., 2009; CRUZ et al., 2010), essa questão permanece ainda não resolvida, na medida em que, em outras investigações ( BUDUNELI et al., 2005; MICHALOWICZ et al., 2006; VETTORE et al., 2008; MICHALOWICZ et al., 2009; NEWNHAM et al., 2009; OFFENBACHER et al., 2009; MOORE et al., 2004;), também recentes, não foram encontradas evidências da existência de relação entre doença periodontal e prematuridade ou baixo peso ao nascer, o que permite classificar essa temática como, ainda, controversa. Entretanto, segundo alguns autores, a condição clínica periodontal e bacteriológica da gestante, assim como os perfis imunológicos relacionados à doença periodontal são apontados como fatores de risco na relação com o parto prematuro e o baixo peso ao nascer. (CHALA; SANTANA 2003)

Nesse campo de estudo, a investigação imunogenética se apresenta como uma ferramenta complementar importante para tentar melhor elucidar a plausibilidade biológica da questão. Sabe-se que a produção de citocinas é determinada geneticamente e que indivíduos com perfil fenotípico de alta produção de mediadores pró-inflamatórios terão uma resposta exacerbada a estímulos de diferentes naturezas. Por outro lado, aqueles que têm um perfil fenotípico de baixa produção de citocinas imunorreguladoras apresentarão um menor controle sobre a resposta inflamatória gerada. (TREVILLATO et al., 2003; MOREIRA et al., 2007; YOSHIE et al., 2007; KALBURGI et al., 2010; NIBALI et al., 2010; ZHANG et al., 2011) Assim, nesse contexto, a infecção periodontal pode ser apontada como fator desencadeador dos referidos mediadores pró-inflamatórios, interferindo na homeostasia da interface materno-fetal, na passagem de nutrientes pela barreira placentária e, conseqüentemente, no desenvolvimento fetal. (XIONG et al., 2006)

Nesse sentido, considerando a relevância do problema, o presente trabalho tem o objetivo geral de contribuir para o conhecimento sobre os estudos que associam a periodontite materna e o baixo peso ao nascer. Para tanto, terá como objetivo específico uma avaliação imunogenética, em que serão comparadas as frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos genéticos das citocinas interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF-

$\alpha$ ), interleucina-6 (IL-6) e interleucina-10 (IL-10), nas puérperas classificadas de acordo com a presença ou não do desfecho gestacional, bem como da periodontite. Neste estudo-piloto, duas questões serão levantadas: – Existe maior frequência de polimorfismos genéticos das referidas citocinas nas puérperas que tiveram recém-nascidos com baixo peso, em comparação com aquelas com recém-nascidos de peso normal? – As puérperas com periodontite têm maior frequência de polimorfismos genéticos das referidas citocinas do que aquelas sem a infecção periodontal? Embora não se pretenda, com esta pesquisa, elucidar, de forma categórica e definitiva, o tema de associação em investigação, ela pode nortear futuros caminhos sobre essa questão ainda controvertida.



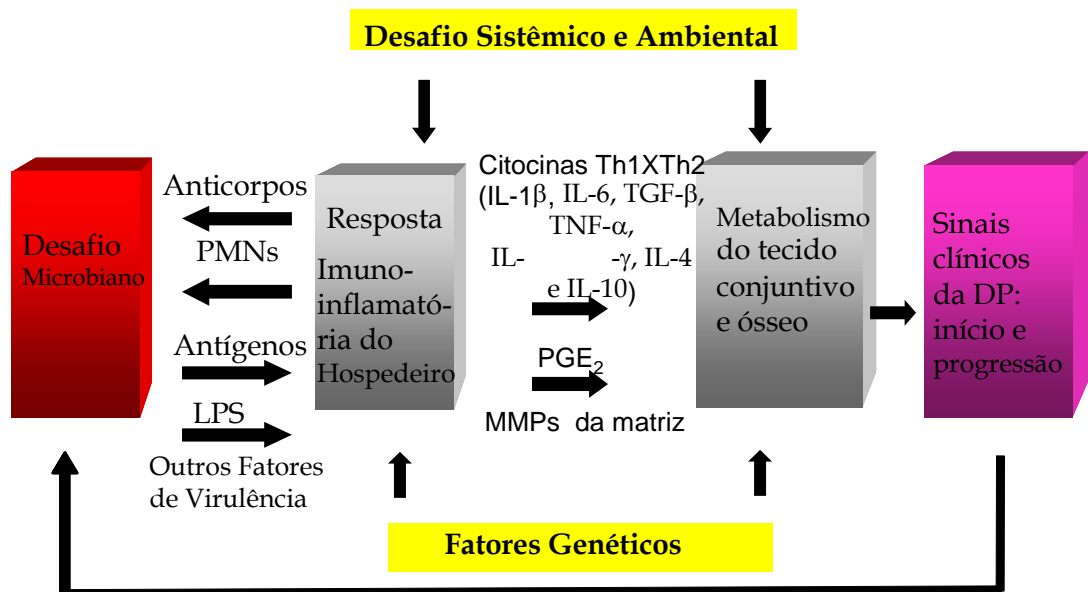
## 2 REVISÃO DA LITERATURA

Nesta seção, discorrer-se-á sobre os temas que envolvem a matéria objeto deste estudo, a saber: as citocinas na doença periodontal, relação entre a doença periodontal e a prematuridade ou baixo peso ao nascer.

### 2.1 O PAPEL DAS CITOCINAS NA DOENÇA PERIODONTAL

A periodontite é uma doença inflamatória crônica do periodonto, iniciada pelo acúmulo de biofilme nas superfícies dentais adjacentes aos tecidos gengivais. No entanto, de acordo com estudos epidemiológicos, não existe uma correlação positiva entre a quantidade de placa bacteriana e a gravidade da doença periodontal. (BORREL; PAPAPANOU, 2005) O conceito atual de etiologia multifatorial das doenças periodontais inclui o hospedeiro como componente fundamental na sua patogênese (Figura 1).

**Figura 1** – Diagrama do modelo teórico para a imunomodulação frente a estímulos de periodontopágenos e a patogênese da doença periodontal



**Fonte:** Adaptado de Page e Kornman (1997)

Dentre os diversos aspectos relacionados à resposta imune do hospedeiro, as citocinas pró-inflamatórias parecem exercer um papel importante na patogenia de várias formas de doença periodontal. Os efeitos dos produtos bacterianos, principalmente o lipopolissacarídeo, podem estimular a sua liberação, pois, além de intensificarem a resposta inflamatória,

aumentam a produção de colagenases, como as metaloproteinases da matriz, resultando em perda de tecido conjuntivo e osso alveolar. (LINDHE, 1999) Segundo Okada e Murakami (1998), citocinas inflamatórias, tais como IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-8, estão presentes nos tecidos acometidos pela doença periodontal e sua produção irrestrita parece desempenhar um papel importante no recrutamento de leucócitos e na destruição tecidual. A IL-1 $\beta$ , através da indução à produção de prostaglandinas, colagenases e outras proteases, é uma citocina com alto potencial estimulador da reabsorção óssea e da destruição de tecidos moles. (STASHENKO et al., 1991) Outras citocinas, como IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 (LUNDQVIST et al., 1994) e TGF- $\beta$  (WAHL et al., 1993), também foram observadas em ensaios imunológicos e estudos imuno-histoquímicos em biópsias gengivais de pacientes com periodontite.

Dos numerosos fatores predisponentes para a doença periodontal, os fatores genéticos estão recebendo cada vez mais atenção. Estudos sobre o estado periodontal, em gêmeos adultos, mostraram que percentuais de 38 a 82% da variância da população, para o estado periodontal, podem ser atribuídos a fatores genéticos. A identificação dos marcadores genéticos da periodontite e a investigação inicial do polimorfismo genético da interleucina-1 e sua associação com a periodontite grave, em pacientes não fumantes, foram fatores importante na abordagem inicial do polimorfismo de citocinas, no estudo da doença periodontal. Dados consideráveis podem ser obtidos sobre polimorfismos dos genes em relação à periodontite, mas muito pouco se sabe sobre os genes específicos nela envolvidos que podem agir como os chamados genes modificadores da doença. (YOSHIE et al., 2007; ZHANG et al., 2011)

A IL-6 é uma citocina multifuncional que desempenha papel central na defesa do hospedeiro. Muitos tipos de células são produtoras de IL-6 em resposta a estímulos nocivos, incluindo monócitos ou macrófagos, fibroblastos, células endoteliais, adipócitos, células T e mastócitos. Tem se observado o aumento de interleucina-6 no fluido gengival de pacientes com periodontite. O gene da IL-6 está localizado no cromossomo 7p21. O polimorfismo, na região promotora do gene de IL-6, pode provocar uma variação interindividual na transcrição e na expressão desse gene. Estudos que investigam a associação genética entre polimorfismos de IL-6 e a presença de doenças surgiram, principalmente, focados em três polimorfismos comuns de nucleotídeo na região promotora de IL-6, IL-6 (-174), IL-6 (-572 / - 634) e IL-6 (-597) (em ligação com desequilíbrio com -174). Vários estudos têm relatado que os polimorfismos de IL-6 estão associados à progressão da doença periodontal em populações brasileiras (TREVILLATO et al., 2003; MOREIRA et al., 2007; TRINDADE et al, 2012), do

sul da Alemanha (KALBURGI et al., 2010), do norte europeu (NIBALI et al., 2008) e de europeus brancos. (ZHANG et al., 2011)

O TNF- $\alpha$  é uma citocina pró-inflamatória, com ampla gama de funções imunorreguladoras, capaz de induzir a destruição tecidual e a reabsorção óssea. O TNF tem sido atribuído à patogênese da doença periodontal. O gene TNF- $\alpha$  está localizado no cromossomo 6, no agrupamento de genes de complexo principal de histocompatibilidade. A transição da guanina para adenosina, na posição -308 do TNF- $\alpha$  promotor, afeta a sequência de consenso para o sítio de ligação do fator de transcrição AP-2.3. O transporte do alelo -308A está significativamente associado à maior produção e transcrição de TNF- $\alpha$ . Além disso, o alelo A está associado ao maior risco de várias doenças inflamatórias e infecciosas, incluindo a periodontite. (MENEZES; COLOMBO, 2008)

A IL-10 é uma citocina anti-inflamatória com papel importante no controle da inflamação e na prevenção de danos nos tecidos, causados por excesso de infecções bacterianas e virais, bem como na resposta pró-inflamatória. (O'GARRA et al., 2010; OUYANG et al., 2011) A IL-10 influencia três importantes funções: a liberação de mediadores imunológicos, a apresentação de antígenos e a fagocitose. (PAUL et al., 2011) A IL-10 suprime todas as funções dos monócitos macrófagos, inibindo a liberação de mediadores pró-inflamatórios de monócitos macrófagos e, conseqüentemente, inibe a secreção de interferon gama e lipopolissacarídeos. A IL-10 tem um papel importante na resposta imunológica humoral. (JADARAT et al., 2012) Vários polimorfismos promotores foram descritos para o gene da IL-10: -1087, (-1082), -819, (-824), -627, -592, (-597) e -590. O polimorfismo da IL 10 -1082, -819 e -592 forma um desequilíbrio de ligação, originando dois haplótipos comuns. A IL-10 exerce um papel protetor para evitar a destruição do tecido periodontal, inibindo a ação das metaloproteinases de matriz e o sistema receptor ativador do fator nuclear- $\kappa$ B (CLAUDINO et al., 2008; PASSOJA et al., 2010; ATANASOVSKA-STOJANOVSKA et al., 2012; JADARAT et al., 2012; ZHONG et al., 2012)

O IFN- $\gamma$ , também conhecido como fator de ativação de macrófagos, é uma das citocinas-chave que regulam a resposta imune. Em contraste com o interferon- $\alpha$  e o interferon- $\beta$ , que podem ser expressos por todas as células, IFN- $\gamma$  é secretado por células T CD4 + do sistema Th1, por células CD8 citotóxicas ativadas e por células *natural killer*. O IFN- $\gamma$  altera a transcrição em um máximo de 30 genes, os quais produzem uma variedade de respostas fisiológicas e celulares. IFN- $\gamma$  está presente em níveis elevados em tecidos

periodontais doentes e está associado com lesões progressivas e com o grau de gravidade da doença periodontal. Em concordância, os estudos em roedores demonstraram claramente que o IFN- $\gamma$  está envolvido na reabsorção óssea alveolar na periodontite experimental. (DUTZAN et al., 2009; HOLLA et al., 2011) No gene do IFN- $\gamma$ , existe polimorfismo de um único nucleotídeo +874 A/T, associado a doenças infecciosas como tuberculose e brucelose.

## 2.2 DOENÇA PERIODONTAL E PREMATURIDADE OU BAIXO PESO AO NASCER

As doenças bucais maternas mais comuns e que potencialmente poderiam afetar o resultado da gravidez incluem a cárie dentária, a gengivite e a periodontite. Essas doenças são interrelacionadas com a progressão do acúmulo de placas supragengivais, infecções subgengivais, evoluindo para a cronicidade da doença periodontal. Na pior das hipóteses, a doença periodontal pode envolver a inflamação de todos os tecidos que suportam os dentes, incluindo a gengiva, o cemento, (camada exterior das raízes dos dentes), o osso alveolar (local em que as bases dos dentes estão ancoradas) e os ligamentos periodontais (fibras de tecido conjuntivo, entre o cemento e o osso alveolar). Aproximadamente 40% das mulheres grávidas têm algum tipo de doença periodontal e a taxa é maior entre as minorias raciais, étnicas e em mulheres de baixo nível socioeconômico. (SRINIVAS; PARRY, 2012)

Na década de 1990, foi apresentada por alguns autores a hipótese de associação entre doença periodontal e baixo peso ao nascer. Em estudo caso-controle, pioneiro, com a participação de 124 mulheres, observou-se que, mesmo com o controle dos fatores que poderiam influenciar no curso de um parto prematuro ou de baixo-peso ao nascer – como idade, hábito de fumar, uso de álcool, cuidados pré-natais e história de bacteremia – as mães que apresentavam quadros graves de doença periodontal geravam bebês prematuros e/ou com baixo peso. (OFFENBACHER et al., 1996) Subsequentemente, outros estudos fortaleceram os achados nos estudos pioneiros realizados na mesma década. (CRUZ et al., 2005; GOMES-FILHO et al., 2007; CRUZ et al., 2009; HEIMONEN et al., 2009; KHADER et al., 2009; CRUZ et al., 2010) Em contrapartida, alguns estudos realizados por outros autores não evidenciaram essa associação. (VETTORE et al., 2008; MICHALOWICZ et al., 2009; NEWNHAM et al., 2009; OFFENBACHER et al., 2009)

Dos 25 estudos (13 casos-controle, 9 coorte, e 3 ensaios clínicos controlados) incluídos em uma meta-análise, 18 sugerem associação entre doença periodontal e aumento do risco de gravidez com desfecho positivo para prematuridade e (ou) baixo peso ao nascer; e 7 não encontraram evidência alguma de tal associação. (XIONG et al., 2006) Em outra meta-

análise composta por 17 estudos, com *odds ratio* de 2,83, foi observada a existência de forte associação entre a gravidade da doença periodontal e a prematuridade ou baixo peso ao nascer. Além disso, os autores recomendam a realização de estudos em larga escala, bem delineados, metodologicamente rigorosos, como, por exemplo, estudos multicêntricos, necessários para a confirmação de tal associação. (VERGNES; SIXOU, 2007)

### 3 OBJETIVOS

A seguir apresentam-se os objetivos estabelecidos para o desenvolvimento deste estudo.

#### 3.1 GERAL

Investigar, em puérperas, a associação entre os polimorfismos genéticos das citocinas interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) e interleucina-10 (IL-10), com:

- Desfecho gestacional (peso ao nascer <2.500 gramas);
- Condição periodontal (presença de periodontite).

#### 3.2 ESPECÍFICOS

Descrever o perfil epidemiológico das puérperas de acordo com:

- Desfecho gestacional (peso ao nascer <2.500 gramas);
- Condição periodontal (presença de periodontite).

Comparar as frequências alélicas das citocinas IL-6 (-174), TNF- $\alpha$  (-308) e IFN- $\gamma$  (+874), bem como a frequência genotípica da IL-10 (-1082G/A; -819C/T; -592C/A), segundo:

- Desfecho gestacional (peso ao nascer <2.500 gramas);
- Condição periodontal (presença de periodontite).

Estimar a associação entre os polimorfismos das citocinas IL-6 (-174), TNF- $\alpha$  (-308), IFN- $\gamma$  (+874) e IL-10 (-1082G/A; -819C/T; -592C/A) com:

- Desfecho gestacional (peso ao nascer <2.500 gramas);
- Condição periodontal (presença de periodontite).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

Esta seção, na perspectiva metodológica, compreende os seguintes elementos: população, desenho do estudo, amostragem com coleta de dados e respectivos instrumentos, descritores clínicos avaliados, desfecho gestacional, análise imunogenética e definição das variáveis intervenientes.

### 4.1 POPULAÇÃO E ÁREA DO ESTUDO

O estudo foi realizado em puérperas que buscaram atendimento no Hospital Inácia Pinto dos Santos – Hospital da Mulher, localizado no Bairro Jardim Cruzeiro, em Feira de Santana (Bahia). A instituição referida é pública e presta atendimento predominantemente pelo SUS. A amostra deste estudo foi composta por mulheres, em geral, de baixa renda e integra uma das etapas de um estudo multicêntrico conduzido em mais cinco cidades: Salvador, Juazeiro (Bahia), Petrolina (Pernambuco), São Luís (Maranhão) e Montes Claros (Minas Gerais).

### 4.2 DESENHO DO ESTUDO

Foi desenvolvido um estudo-piloto observacional, do tipo transversal e analítico. Os dados avaliados são provenientes de um estudo maior, cujo objetivo foi investigar a influência da periodontite materna no baixo peso ao nascer, sendo considerado estudo-piloto para a temática de investigação imunogenética.

### 4.3 PROCEDIMENTOS DE AMOSTRAGEM

Aqui se detalham todos os elementos envolvidos na amostragem.

#### 4.3.1 Tamanho da amostra do estudo definitivo

Para se estabelecer o tamanho da amostra do estudo definitivo, escolheu-se o desfecho de menor frequência: peso ao nascer inferior a 2500 gramas. Considerou-se, portanto, uma prevalência de 5,5% na população do Nordeste, com renda inferior a 70 reais, não participante do Programa Bolsa-Família. (SANTOS et al., 2011) Assim, admitindo-se uma margem de

erro de 5% e um intervalo de confiança de 95%, os grupos de comparação tiveram, cada qual, pelo menos 80 participantes, com um total de, no mínimo, 160 indivíduos na amostra. O pacote estatístico empregado para o cálculo da amostra foi o EpiInfo versão 7.1.

#### 4.3.2 Composição dos grupos em estudo

A busca ativa das voluntárias participantes dos grupos em comparação foi realizada a partir de um levantamento semanal de informações sobre o peso de recém-nascidos, contidas no livro de registros de nascimento do referido hospital. Posteriormente, as participantes foram classificadas de acordo com a presença dos desfechos em estudo. A composição dos grupos foi realizada da seguinte forma. O *grupo A* foi composto por todas as mães de recém-nascidos com peso <2.500 gramas, que ainda estavam na instituição após o parto no momento da seleção, bem como aquelas cujo retorno ao hospital estivesse agendado para até uma semana após o parto, para eventual acompanhamento médico ou odontológico. O *grupo B* também foi levantado da mesma fonte e durante o mesmo período de tempo do grupo A, constituindo-se por mães de recém-nascidos de peso  $\geq 2.500$  gramas, sendo selecionado com o emprego da tabela de números aleatórios. Para cada participante do grupo A, identificada como tal e que aceitava participar do estudo, outra participante para o grupo B era identificada na instituição de saúde. As mulheres foram ainda classificadas de acordo com o desfecho da condição periodontal, em *grupo com periodontite* e *grupo sem periodontite*, conforme se descreve na seção 4.4.

As participantes receberam as devidas informações sobre a pesquisa e, posteriormente, foram preenchidos formulários para obtenção de Consentimento Informado (APÊNDICE A).

Não foram incluídas no estudo, segundo a história médica, as que apresentavam doenças cardiovasculares ou alguma outra alteração sistêmica (a exemplo de hipertensão e diabetes), bem como as que necessitaram de profilaxia antibiótica para os procedimentos odontológicos ou, ainda, que foram submetidas a tratamento periodontal, durante a gestação.

#### 4.3.3 Procedimentos de coleta de dados

Foram realizados, no máximo, até sete dias após o parto. Os dados referentes ao peso do recém-nato foram coletados no livro de registro de nascimento do referido hospital. Todas as participantes voluntárias foram convidadas a responder um questionário, mediante entrevista, em horário agendado, com as seguintes seções: identificação, dados



sociodemográficos, história gestacional, hábitos de vida e aspectos relacionados com a saúde bucal (APÊNDICE B).

Após a entrevista, um cirurgião-dentista, submetido a treinamento prévio, realizou-se o exame clínico periodontal completo em cada participante, direcionado para a obtenção de medidas, de acordo com os descritores clínicos apresentados na seção 4.4.1.

Em seguida, uma enfermeira, com treinamento prévio, coletou, da fossa antecubital das puérperas, 5mL de sangue para proceder às análises imunogenéticas.

#### 4.3.4 Instrumentos

O questionário elaborado para este estudo foi estruturado em duas seções temáticas, cujo conteúdo engloba: 1 *Dados de identificação e sociodemográficos*: idade, sexo, cor da pele, situação conjugal, local de residência, escolaridade e renda familiar; ocupação atual e anteriores; 2 *História gestacional*: patologias existentes, tipo de parto, número de gestações, uso de medicamentos, peso pré-gestacional; 2.1 *Hábitos de vida* – consumo de fumo ou de bebidas alcoólicas; 2.2 *Aspectos relacionados com a saúde bucal* – atenção odontológica, tipo e frequência de higienização.

Elaborou-se uma ficha clínica apresentando roteiro padronizado com todos os descritores clínicos contemplados no estudo, mencionados a seguir.

#### 4.4 DIAGNÓSTICO DA DOENÇA PERIODONTAL

Foram consideradas com diagnóstico de periodontite aquelas puérperas que apresentaram pelo menos quatro dentes com, no mínimo, um sítio, com profundidade de sondagem maior ou igual a 4mm, perda de inserção maior ou igual a 3mm e sangramento à sondagem, no mesmo sítio. (GOMES-FILHO et al., 2007). Desse modo, as participantes do presente estudo foram divididas em dois grupos de acordo com a condição periodontal: *Grupo com Periodontite (CP)*: mães de recém-nascidos classificadas de acordo com os critérios descritos acima; *Grupo sem Periodontite (SP)*: mães de recém-nascidos que não se enquadraram na classificação referida.

#### 4.4.1 Descritores clínicos avaliados

##### a) Exame de profundidade de sondagem de sulco ou bolsa

A profundidade de sondagem de sulco foi registrada em seis locais para cada dente, conforme é descrito por Pihlstrom e colaboradores (1981); consistiu em quatro medidas proximais (referente aos ângulos méso-vestibular, méso-lingual, disto-vestibular e disto-lingual), uma medida na região médio-vestibular e uma medida na região médio-lingual .

Todas as medidas foram feitas com sonda milimetrada do tipo Williams (HUFRIEDY, EUA) e as mesmas sondas foram usadas durante toda a investigação. A profundidade de sondagem de sulco ou bolsa foi registrada em cada local, significando a distância da margem gengival à extensão mais apical de penetração da sonda.

Os procedimentos de sondagem de sulco ou bolsa foram executados colocando-se a sonda delicadamente no sulco gengival de cada face, previamente seca com gaze estéril, até que encontrasse uma resistência tecidual mínima à penetração. Nesse momento, com a sonda colocada na posição mais paralela possível ao longo eixo do dente, foi observada a marcação mais próxima da margem gengival e, então, essa medida, em milímetros, foi anotada pelo auxiliar em ficha própria. Caso a margem gengival se encontrasse localizada entre duas marcas da sonda, adotava-se o valor inteiro da marca mais próxima e, se a margem ficasse numa posição equidistante de duas marcas, era considerada a maior.

##### b) Índice de recessão ou hiperplasia

As medidas da altura da margem gengival em relação à junção cimento-esmalte foram registradas em seis locais para cada dente, conforme descrito anteriormente, na medida de profundidade de sondagem de sulco ou bolsa, com as mesmas sondas milimetradas utilizadas para a obtenção da profundidade de sondagem de sulco ou bolsa. No caso de uma recessão gengival, o valor em milímetros era considerado positivo; se a margem gengival se localizasse coronalmente à junção cimento-esmalte, ou seja, no caso de uma hiperplasia gengival, o valor em milímetros da margem gengival à junção cimento-esmalte era considerado negativo.

Essas medidas foram obtidas com o posicionamento da ponta da sonda na margem gengival; e o valor em milímetros, a partir desse ponto, até a junção cimento-esmalte, sendo imediatamente anotadas em ficha por auxiliar. Com a sonda milimetrada paralela ao longo do eixo do dente e as superfícies dentárias secas com jato de ar, uma sequência era estabelecida,

como já descrito no item anterior, assim como os procedimentos de aproximação numérica quando a junção cimento-esmalte ficasse localizada entre as marcas da sonda.

c) Nível de inserção clínica

A medida de inserção clínica (RAMFJORD, 1959) foi obtida através da somatória dos valores da profundidade de sondagem de sulco ou bolsa e medidas de recessão ou hiperplasia gengivais. No caso de uma recessão, a perda de inserção clínica era a soma dos valores de profundidade de bolsa e da medida de recessão. No caso de uma hiperplasia gengival, era a somatória do valor positivo da profundidade de bolsa com o valor negativo dado à hiperplasia, ou seja, na prática, representou a subtração do valor da hiperplasia daquele atribuído à profundidade de sondagem de bolsa. Finalmente, seis medidas de perda de inserção clínica foram obtidas: méso-vestibular, médio-vestibular, disto-vestibular, disto-lingual, médio-lingual e méso-lingual.

d) Índice de sangramento à sondagem

A condição gengival foi avaliada através do índice de sangramento (AINAMO; BAY, 1976), usando-se o critério da presença de sangramento após a sondagem.

Aproveitando a oportunidade da obtenção dos registros de profundidade de sondagem de sulco ou bolsa e após a secagem das superfícies dentárias e medição da profundidade dessa sondagem, observava-se, passados 10 segundos, se havia ou não a presença de sangramento após a remoção da sonda milimetrada da bolsa ou sulco. Se fosse observado sangramento subsequente à sondagem em determinada face, o registro era feito na ficha. A proporção de faces sangrantes em relação ao total de faces examinadas foi calculada, determinando-se, assim, o índice de sangramento para cada indivíduo.

#### 4.5 AVALIAÇÃO DO DESFECHO GESTACIONAL – BAIXO PESO AO NASCER

Após o parto, o registro do peso ao nascer foi coletado do certificado de nascimento ou cartão do recém-nascido. Considerou-se baixo peso ao nascer quando o recém-nascido apresentava peso inferior a 2500g, ao passo que o peso ao nascer maior e igual a 2500g foi considerado normal. Salienta-se que, de acordo com o protocolo do Ministério da Saúde, *Manual de assistência neonatal*, empregado nas instituições hospitalares públicas, o peso dos recém-nascidos é realizado por uma enfermeira ou auxiliar de enfermagem, uma hora após o parto, usando-se uma balança digital, isto é, antes da perda de peso pós-natal. Assim, as

participantes do presente estudo foram também divididas em dois grupos, de acordo com o desfecho gestacional: *Grupo A* – composto por mães de recém-nascidos com peso ao nascer < 2.500 gramas; e *Grupo B* – composto por mães de recém-nascidos com peso ao nascer  $\geq$  2.500 gramas.

#### 4.6 AVALIAÇÃO IMUNOGENÉTICA

Trata-se, nesta seção, da obtenção de células, da extração do DNA e da reação em cadeia da polimerase.

##### 4.6.1 Obtenção de células

O sangue das puérperas foi coletado na fossa antecubital, num volume de 5mL, com o sistema de coleta a vácuo (VACUTAINER, BD, SP). Após centrifugação por 5 minutos a 2500g, as células brancas foram separadas e armazenadas -20°C para as análises posteriores.

##### 4.6.2 Extração de DNA

A purificação do DNA sanguíneo foi efetuada com o uso do kit PureLink (INVITROGEN, USA). A solução de proteinase (20 $\mu$ L) foi adicionada a 200 $\mu$ L de sangue total e misturada por turbilhonamento por 15 segundos. Em seguida, a solução de RNase (20 $\mu$ L) foi adicionada e misturada por turbilhonamento (Vórtex) por 15 segundos, seguida da solução de Lise (200 $\mu$ L). Após incubação por 30 minutos a 55°C, acrescentou-se álcool absoluto (200 $\mu$ L) à mistura, que foi transferida para uma coluna de sílica, para, então, ser centrifugada a 10.000g, com um rotor de ângulo fixo na posição 18 por um minuto. Descartou-se o filtrado e colocou-se a coluna de sílica dentro de um novo tubo coletor.

A lavagem do material coletado foi realizada com 500 $\mu$ L de solução de lavagem I, centrifugando-se em seguida a 12000g por três minutos. A coluna de sílica foi, em seguida, transferida para um tubo novo e o tubo coletor foi descartado. Foram aplicados, então, 500 $\mu$ L de solução de lavagem II, centrifugando-se a 12000g por um minuto. O último passo da extração consistiu em acrescentar o tampão de eluição (50 $\mu$ L), diretamente para a matriz de sílica na coluna. A incubação foi feita por um minuto, em temperatura ambiente. Em seguida, o tubo foi centrifugado a 12000g por um minuto para recuperar o DNA purificado.

A dosagem do DNA foi feita por leitura em absorbância de 260 nm, utilizando-se espectrofotômetro (Bio-rad Laboratories, USA).

#### 4.6.3 Reação em cadeia da polimerase (PCR)

Os polimorfismos genéticos das citocinas IL-6 (-174), TNF- $\alpha$  (-308), IFN- $\gamma$  (+874) e IL-10 (-1082; -819; -592) foram determinados por reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando-se o kit *Cytokine Genotyping Tray* (ONE LAMBDA, CA). A amplificação por PCR foi realizada em volumes de 50  $\mu$ L, contendo tampão 1X PCR/Mg<sup>++</sup> (BOEHRING MANNHEIM, USA), 0,2mM de dNTP (PHARMACIA, NJ, USA), 0,5 U *Taq* DNA polimerase (BOEHRING MANNHEIM, USA), 0,4 $\mu$ M de cada par de *primer* e 10ng de base. A amplificação foi realizada em termociclador (PERKIN ELMER, GeneAmp PCR System 2400, USA), programado para 94°C (5 minutos), acompanhado por 30 ciclos com a temperatura de anelamento adequada para cada par de *primer*, de acordo com o fabricante. Depois dos 30 ciclos, foi empregada uma temperatura de 72°C por 5 minutos, para a completa extensão do DNA.

Os produtos da amplificação foram comparados por eletroforese em gel de agarose a 1%, em tampão 1XTBE (Tris 1M, ácido bórico 0,9M, EDTA 0,01M, pH8,4) (GIBCO, USA), corados com brometo de etídio (0,5 $\mu$ g/mL) e fotografados sob um transiluminador com luz UV (KODAK DIGITAL SCIENCE SYSTEM, USA). Foi incluído o padrão de massa molecular 1-Kb (GIBCO, USA).

O registro da presença dos alelos e genótipos para cada citocina foi registrado em ficha apropriada, também fornecida pelo fabricante.

#### 4.7 DEFINIÇÃO DAS VARIÁVEIS

Estabeleceram-se, para efeito deste estudo, três tipos de variáveis, conforme se explicita a seguir.

##### 4.7.1 Variável dependente

Foram avaliadas duas variáveis dependentes, a saber:

- *Periodontite: variável dicotômica*

Considerou-se a presença ou ausência da doença, de acordo com os critérios de diagnóstico descritos anteriormente (item 4.4)

- *Peso ao nascer: variável dicotômica.*

Considerou-se a presença (ou ausência) do peso ao nascer <2.500 gramas, de acordo com os critérios descritos anteriormente (item 4.5).

#### 4.7.2 Variáveis principais

O polimorfismo genético foi considerado variável independente para o presente estudo e, de acordo com o tipo de citocina avaliada, essa variável foi categorizada, conforme se descreve adiante. Para as citocinas IL-6, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , empregaram-se análises das frequências alélicas. Já para a IL-10, as frequências genótípicas foram escolhidas em função da necessidade de combinação do polimorfismo, em três diferentes posições no *locus* para determinação da predição do fenótipo.

- *IL-6 (-174G/C): variável dicotômica*

- Presença do alelo G na posição -174, podendo determinar uma predição fenotípica de alta produção de IL-6, seja em genótipo homozigoto, seja em genótipo heterozigoto.
- Presença do alelo C na posição -174, indicando uma predição fenotípica de baixa produção de IL-6, quando em homozigose.

- *TNF- $\alpha$  (-308G/A): variável dicotômica*

- Presença do alelo A na posição -308, com predição fenotípica, em homozigose ou em heterozigose, de alta produção de TNF- $\alpha$ .
- Presença do alelo G na posição -308, que, em homozigose, pode determinar um fenótipo de baixa produção da citocina.

- *IFN- $\gamma$  (+874A/T): variável dicotômica*

- Presença do alelo T na posição +874. A condição de homozigose (genótipo TT) leva a uma previsão de alta produção, enquanto que a heterozigose indicaria um perfil de produção intermediária da citocina (ambas consideradas como risco).
- Presença do alelo A na posição +874, cujo genótipo em homozigose indica um fenótipo de baixa produção de IFN- $\gamma$ .

- *IL-10 (-1082G/A; -819C/T; -592C/A): variável dicotômica*

A possível combinação de polimorfismos de IL-10, nas posições -1082, -819 e -592, gera seis genótipos possíveis: GCC/GCC (previsão fenotípica de alta produção de IL-10); GCC/ACC, GCC/ATA (previsão de produção intermediária); ACC/ACC, ACC/ATA e ATA/ATA (predição de baixa produção de IL-10). Dessa forma, a presença de determinado alelo pode indicar ou não o risco, a depender da combinação em que se encontra. Para a

análise, os genótipos foram agrupados de acordo com a predição fenotípica de produção da IL-10:

- Presença do genótipo GCC/GCC (previsão fenotípica de alta produção de IL-10).
- Presença dos genótipos GCC/ACC, GCC/ATA (previsão de produção intermediária); ACC/ACC, ACC/ATA e ATA/ATA (predição de baixa produção de IL-10).

#### 4.7.3 Covariáveis

##### *Sociodemográficas:*

- Idade – idade em anos, referida na data da entrevista;
- Cor da pele – definida segundo observação do entrevistador e da entrevistada, em negra, branca, parda, amarela ou indígena (IBGE);
- Nível socioeconômico – indicador baseado em escolaridade materna e renda familiar *per capita*;
- Tamanho da família (número de pessoas que residem no domicílio);
- Situação conjugal (com ou sem cônjuge).

##### *História gestacional*

- Patologias existentes: infecção urinária, hipertensão, diabetes insulino-dependente, doença pulmonar, entre outras – resposta sim ou não.
- Uso de medicamentos durante a gestação – respostas sim ou não; frequência – eventual ou regular; tipo – antibiótico, suplemento vitamínico ou outros.
- Tipo de parto: classificado como normal, normal com fórceps, cesárea e cesárea com fórceps.
- Exame pré-natal – resposta sim ou não e frequência de exame.
- Número de gestações.
- Peso pré-gestacional.

- Controle glicêmico (nos últimos três meses anteriores ao parto) – avaliado através de exame de hemoglobina glicosilada, em percentual.

*Hábitos de vida (período gestacional)*

- Condição de fumante – sim ou não.
  - Frequência: classificada de acordo com os seguintes intervalos: raramente; 1 dia na semana; 2 a 3 dias na semana; e todo dia ou quase todo dia.
- Uso de bebidas alcólicas: sim ou não.
  - Frequência de ingestão de álcool: classificada de acordo com os seguintes intervalos: raramente; 1 dia na semana; 2 a 3 dias na semana; todo dia ou quase todo dia.
- Uso de drogas: sim ou não.
  - Frequência: classificada de acordo com três intervalos: raramente; 1 dia na semana; 2 a 3 dias na semana; todo dia ou quase todo dia.

*Higiene bucal*

- Tipo de escova dental – tipo de escova utilizada normalmente, macia ou outras.
- Uso e frequência de fio ou fita dentais – frequência estimada de uso: nunca, eventualmente e frequentemente.
- Frequência diária de escovação dos dentes – classificada de acordo com três categorias: apenas uma vez, duas a três vezes, mais vezes.

*Atenção odontológica*

- Consultas realizadas ao dentista: respostas sim ou não.
- Número de consultas.
- Informações recebidas acerca da saúde bucal – respostas sim ou não.



#### 4.8 PROCEDIMENTOS DE ANÁLISE DOS DADOS

Inicialmente, foi realizada uma análise descritiva das variáveis gerais de caracterização dos grupos em estudo, obtendo-se as frequências simples e relativa para as variáveis categóricas e as medidas de tendência central e de dispersão para as variáveis contínuas, observando-se graficamente a natureza das distribuições.

A frequência genotípica foi obtida com a contagem direta dos alelos identificados no PCR. A frequência alélica foi calculada pela divisão do número de alelos encontrados pelo número total de genes analisados por *locus*. Para os fenótipos previstos de produção de cada citocina, utilizaram-se os padrões do fabricante do *kit* de genotipagem, que seguem aqueles descritos na literatura. (TURNER et al., 1997; WILSON et al., 1997; PRAVICA et al., 2000; HOFFMAN et al., 2001)

Para avaliar o grau de homogeneidade ou comparabilidade entre os grupos, no que se refere tanto às suas características de interesse quanto às frequências alélicas e genotípicas, foi empregado o teste qui-quadrado ou teste de Fisher, com nível de significância de 5%. Ao final da realização desses procedimentos, estimou-se a OR bruta para cada tipo de associação em estudo, através do teste de Mantel Hanzel. Construiu-se o banco de dados no *software* SPSS® versão 13, e a análise do banco, no STATA® 10.

#### 4.9 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

No hospital, considerando o período pós-parto, as mulheres portadoras ou não de doença periodontal foram convidadas para a realização de exame clínico bucal e coleta de sangue, além da entrevista para o resgate da história médico-odontológica e saúde geral.

Aquelas que apresentaram interesse no convite feito receberam as devidas informações sobre o protocolo de estudo e o objetivo do trabalho e, concordando, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A), autorizando sua inclusão na pesquisa.

A participação das mulheres no estudo foi voluntária em todas as etapas, podendo desligar-se a qualquer momento. Foram assegurados o anonimato e a confidencialidade no uso das informações, excluindo-se o nome da participante das bases de dados, como também dos relatórios e demais publicações que venham a ser gerados.

Dessa forma, diante da metodologia empregada, dos critérios estabelecidos e com base na Resolução nº 196/96, do Ministério da Saúde sobre pesquisa envolvendo seres humanos, as

mulheres que participaram deste estudo o fizeram espontaneamente, após a assinatura do consentimento informado.

Ademais, submeteu-se o projeto da pesquisa à apreciação e aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), da Universidade Estadual de Feira de Santana (152/2008) (ANEXO A).

## 5 RESULTADOS

A amostra deste estudo foi formada por 77 mulheres. Para efeito de análise dos dados, elas foram classificadas de acordo com dois desfechos: peso do recém-nascido ao nascer e periodontite materna. Desse modo, 32 (41,59%) formaram o *grupo de mães de recém-nascidos com peso < 2.500g* e 45 (58,41%), o *grupo de mães de recém-nascidos com peso ≥ 2.500g*. Adicionalmente, foram ainda agrupadas 24 (31,17%) *mulheres com periodontite* e 53 (68,83%) *sem periodontite*. A média de idade das participantes foi de 22,74 anos ( $\pm 5,86$  anos), com mediana igual a 23 anos, limite mínimo de 13 anos e máximo de 42 anos.

A Tabela 1 apresenta características gerais das mulheres, divididas em dois grupos, segundo o baixo peso ao nascer (grupo de mães de nascidos vivos com peso ao nascer < 2.500g e grupo de mães de nascidos vivos com peso ao nascer  $\geq 2.500$  g). A avaliação realizada entre os grupos demonstrou que eles são homogêneos para a maioria das características, sendo comparáveis. Foram observadas diferenças estatisticamente significantes apenas para idade ( $p = 0,00$ ), número de consultas no pré-natal ( $p = 0,04$ ), infecção urinária ( $p = 0,00$ ) e índice de massa corporal pré-gestacional ( $p = 0,00$ ).

As mães de nascidos vivos com peso ao nascer < 2.500g apresentaram maior frequência de idade nas faixas de menor e igual a 18 anos ou maior e igual a 35 anos (58,06% vs 19,57%); de número de consultas no pré-natal inferior e igual a 6 (67,86% vs 43,48%); e de índice de massa corporal pré-gestacional menor e igual a 18,5 (29,17% vs 5,88%), quando comparadas às mães do grupo com filhos de peso normal. Por outro lado, as mães do grupo de comparação (> 2500 gramas) apresentaram maior frequência de infecção urinária (42,22% vs 9,68%), quando comparadas às mães de nascidos vivos com peso ao nascer < 2.500g.

No que se refere às características comportamentais relacionadas à saúde bucal (Tabela 2), os grupos de comparação foram homogêneos para todos os aspectos analisados.

A Tabela 3 apresenta a distribuição da frequência alélica de IL-6, na região promotora -174, TNF- $\alpha$ , na região promotora - 308, e IFN- $\gamma$ , no intron + 874, além da frequência genotípica de IL-10, nas posições -1082; -819; -592, entre o grupo de mães de recém-nascidos com peso < 2.500g e o grupo de mães de recém-nascidos com peso  $\geq 2.500$ g. De acordo com os resultados, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos de comparação ( $p > 0,05$ ). No entanto, uma maior frequência foi detectada daqueles alelos relacionados a uma predição fenotípica de alta produção das citocinas IL-6, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ ,

no grupo de mães de nascidos vivos com peso < 2.500g. Por exemplo, a frequência do alelo G da região promotora -174 da IL-6 foi maior nesse grupo (83,87%) em comparação com a frequência desse alelo no grupo de mães de recém-nascidos com peso  $\geq$  2.500g (74,45%). A medida de associação (OR) foi de 1,79, com intervalo de confiança 0,79 – 4,08.

Em relação ao polimorfismo do gene da IL-10 nas posições estudadas, a interpretação dos achados levou em consideração a ocorrência dos genótipos relacionados à predição de fenótipo de baixa produção (ACC/ACC, ACC/ATA, ATA/ATA) ou intermediária (GCC/ACC, GCC/ATA) da referida citocina. Embora não tenha havido diferença estatisticamente significativa entre os grupos de comparação, observou-se que, entre as mães de recém-nascidos com peso inferior a 2500g, a frequência desses genótipos foi maior (90,62%), quando comparada à daquelas mães de recém-nascidos com peso  $\geq$  2.500g (88,64%). A medida de associação (OR) foi de 1,24, com intervalo de confiança 0,27-5,61.

A Tabela 4 apresenta características gerais das mulheres agrupadas de acordo com a condição periodontal. Os grupos se mostraram homogêneos para a maioria das características. Observaram-se diferença apenas para infecção urinária ( $p = 0,01$ ). As mães do grupo controle apresentaram maior frequência de infecção urinária (35,85% vs 9,09%), quando comparadas às mães de nascidos vivos com peso ao nascer < 2.500g.

No que se refere às características comportamentais relacionadas à saúde bucal (Tabela 5), os grupos de comparação foram homogêneos para todos os aspectos analisados.

A Tabela 6 apresenta a distribuição da frequência alélica de IL-6, na região promotora -174, TNF- $\alpha$ , na região promotora - 308, e IFN- $\gamma$ , no intron + 874, além da frequência genotípica de IL-10, nas posições -1082; -819; -592, entre o grupo de mães com periodontite e o grupo de mães sem o diagnóstico de periodontite. Da mesma forma como ocorreu na Tabela 3, as diferenças entre os grupos investigados não se apresentaram estatisticamente significantes ( $p > 0,05$ ). Foi observada uma maior proporção daqueles alelos relacionados a uma predição fenotípica de alta produção, apenas das citocinas IL-6 e IFN- $\gamma$  entre mães com periodontite. A exemplo do IFN- $\gamma$ , a proporção do alelo T do intron +874 foi maior nesse grupo (31,25%), em comparação com a frequência desse mesmo alelo entre mães sem periodontite (27,36%). A medida de associação (OR) foi de 1,52, com intervalo de confiança 0,71 - 3,28.

Outro achado relacionado ao polimorfismo genético de citocinas se refere à frequência

alélica do TNF- $\alpha$ , na região promotora -308. Entre as mães sem periodontite, uma maior ocorrência foi observada do alelo A (14%), responsável pela predição de alta produção, em comparação com as mães com periodontite (4%).

Quanto ao polimorfismo do gene da IL-10 nas posições estudadas, a ocorrência dos genótipos relacionados à predição de fenótipo de baixa produção (ACC/ACC, ACC/ATA, ATA/ATA) ou intermediária (GCC/ACC, GCC/ATA) foi maior entre as mães com periodontite (95,65%), quando comparadas àquelas mães sem periodontite (86,79%). Essa diferença também se apresentou sem significância estatística. A medida de associação (OR) foi de 3,35, com intervalo de confiança 0,39 – 28,91.

**Tabela 1** - Características gerais entre os grupos de mães de recém-nascidos com peso < 2.500g (grupo A) e o grupo de mães de recém-nascidos com peso ≥ 2.500g (grupo B) (N=77) - Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2012.

Características	GRUPO A N =31	GRUPO B N = 46	P*
<b>Nível de escolaridade materna <sup>1/1</sup></b>			
> 4 anos	25 (80,65%)	38 (84,44%)	
0-4 anos	6 (19,35%)	7 (15,56%)	0,66
<b>Renda familiar (em salários mínimos) <sup>1/1</sup></b>			
>1 salário mínimo	10 (33,33%)	12 (26,67%)	
1 salário mínimo	12 (40,0%)	22 (48,89%)	0,73
<1 salário mínimo	8 (26,67%)	11 (24,44%)	
<b>Internação durante a gestação</b>			
Não	10 (100%)	16 (94,12%)	
Sim	0 (0%)	1 (5,88%)	0,43
Dados não informados	21	29	
<b>Tipo de parto</b>			
Normal	15(48,39%)	18 (39,13%)	
Cesárea	16 (51,61%)	28 (60,87%)	0,43
<b>Número de gestações</b>			
Primiparidade	23 (74,19%)	30 (66,67%)	
Multiparidade	8 (25,81%)	15 (33,33%)	0,48
<b>Histórico de nascidos com baixo peso</b>			
Não	7 (70%)	16 (94,12%)	
Sim	3 (30%)	1 (5,88%)	0,08
Dados não informados	21	29	
<b>Situação conjugal <sup>1/1</sup></b>			
Casada ou união estável	22 (73,33%)	35 (77,78%)	
Solteira, viúva ou divorciada	8 (26,67%)	10 (22,22%)	0,65
<b>Densidade familiar <sup>1/1</sup></b>			
≥ 4 pessoas	12 (38,71%)	15 (33,33%)	
< 4 pessoas	19 (61,29%)	30 (66,67%)	0,63
<b>Local de residência</b>			
Feira de Santana	20 (64,52%)	23 (50%)	
Outros municípios	11 (35,48%)	23 (50%)	0,20
<b>Idade (em anos)</b>			
<=18 ou >=35 anos	18 (58,06%)	9 (19,57%)	
19-34 anos	13 (41,94%)	37 (80,43%)	0,00
<b>Fumou durante a gestação <sup>1/1</sup></b>			
Sim	1 (3,23%)	0 (0%)	
Não	30 (96,77%)	45 (100%)	0,22
<b>Bebeu durante a gestação <sup>1/1</sup></b>			

Sim	1 (3,23%)	3 (0%)	
Não	30 (96,77%)	42 (100%)	0,50
<b>Raça ou cor materna</b>			
Branca, amarela / <sup>1</sup>	2 (6,45%)	4 (8,89%)	
Preta	11 (35,49%)	12 (26,67%)	0,69
Parda	18 (58,06%)	29 (64,44%)	
<b>Pré-natal de risco <sup>1/</sup></b>			
Sim	12 (38,71%)	14 (30,43%)	
Não	19 (61,29%)	32 (69,57%)	0,45
<b>Nº de consultas no pré-natal</b>			
< 6	9 (32,14%)	26 (56,52%)	0,04
≥ 6	3	-	
Dados não informados	3	-	
<b>Infecção urinária /<sup>1</sup></b>			
Sim	3 (9,68%)	19 (42,22%)	
Não	28 (90,32%)	26 (57,78%)	0,00
<b>Hipertensão /<sup>1</sup></b>			
Sim	5 (16,13%)	4 (8,89%)	
Não	26 (83,87%)	41 (91,11%)	0,33
<b>Diabetes /<sup>1</sup></b>			
Sim	1 (3,23%)	0 (0%)	
Não	30 (96,77%)	45 (100%)	0,23
<b>Índice de massa corporal pré-gestacional</b>			
>18,5	7 (29,17%)	2 (5,88%)	
≤18,5	17 (70,83%)	32 (94,12%)	0,01
Dados não informados	7	12	
<b>Atividade educativa durante o pré-natal <sup>1/1</sup></b>			
Sim	9(30%)	17 (37,78%)	
Não	21 (70%)	28 (62,22%)	0,48

**Fonte:** Dados da pesquisa, coletados pelo autor.

\* Valor de p: nível de significância  $\leq 0,05$ ;

<sup>1</sup> – Uma informação perdida;

**Tabela 2** – Características comportamentais relacionadas à saúde bucal entre os grupos caso (mães de nascidos vivos com peso ao nascer < 2.500 gramas) e controle (mães de nascidos vivos com peso ao nascer ≥ 2.500 gramas) (N=77) - Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2012.

Características	GRUPO A N = 31	GRUPO B N = 46	P*
<b>Periodontite <sup>1/1</sup></b>			
Não	19 (61,29%)	35(77,78%)	
Sim	12 (38,71%)	10(22,22%)	0,11
<b>Escovação após refeições <sup>1</sup></b>			
Sim	31 (100,00%)	41 (91,11%)	0,08
Não	0 (0,00%)	4 (8,89%)	
<b>Frequência do uso do fio dental <sup>2</sup></b>			
Uma vez	6 (60,00%)	5 (31,25%)	
Duas vezes dia	3 (30%)	5 (31,25%)	0,23
Três vezes dia ou mais	1 (10%)	6 (37,5%)	
Dados não informados	15	36	
<b>Uso de fio dental <sup>1</sup></b>			
Não	21 (67,74%)	29 (64,44%)	
Sim	10 (32,26%)	16 (35,56%)	0,76
<b>Frequência de escovações por dia</b>			
Uma vez	6 (13,64%)	6 (19,35%)	
Duas vezes ao dia	12 (38,71%)	10 (22,73%)	0,17
Três vezes ao dia ou mais	28 (63,64%)	13 (41,94%)	
<b>Visitas periódicas ao dentista <sup>1</sup></b>			
Não	25 (80,65%)	29 (64,44%)	
Sim	6 (19,35%)	16 (35,56%)	0,12
<b>Número de consultas com dentista <sup>2</sup></b>			
≤ 3	5 (83,33%)	9 (60,00%)	
>3	1 (16,67%)	6 (40,00%)	0,30
Dados não informados	16	40	
<b>Aconselhamento profissional sobre higiene bucal <sup>1</sup></b>			
Não	27 (87,10%)	33 (73,33%)	
Sim	4 (12,90%)	12 (26,67%)	0,14

**Fonte:** Dados da pesquisa, coletados pelo autor.

\* Valor de p: nível de significância ≤ 0,05;

<sup>1</sup> – Uma informação perdida;

<sup>2</sup> – Duas informações perdidas.



**Tabela 3** – Frequências alélicas de IL-6 (-174), TNF- $\alpha$  (-308) e IFN- $\gamma$  (+874) e genotípica de IL-10 (-1082; -819; -592) entre o grupo de mães de recém-nascidos com peso < 2.500g (GRUPO A) e o grupo de mães de recém-nascidos com peso  $\geq$  2.500g (GRUPO B). Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2012.

Alelos, Genótipos (n)	GRUPO A	GRUPO B	P	OR (IC95%)
<b>IL-6 -174 G/C (62<sup>1</sup>/ 90)</b>				
Alelo C	10 (16,13%)	23 (25,55%)		1,79
Alelo G	52 (83,87%)	67 (74,45%)	0.17	(0,78 – 4,08)
<b>TNF-<math>\alpha</math> -308 G/A (64 / 90)</b>				
Alelo G	55 (85,94%)	83 (92,20%)		1,94
Alelo A	9 (14,06%)	7 (7,80%)	0.21	(0,68 – 5,52)
<b>IFN-<math>\gamma</math> +874 A/T (58<sup>2</sup>/ 90)</b>				
Alelo A	41 (70,69%)	69 (76,66%)		1,36
Alelo T	17 (29,31%)	21 (23,34%)	0.42	(0,65 - 2,88)
<b>IL-10 -1082 G/A; -819C/T; -592C/A (32 / 44<sup>3</sup>)</b>				
Genótipo GCC/GCC (alta produção)	3 (9,38%)	5 (11,36%)		1,24
Genótipos GCC/ACC, GCC/ATA (produção intermediária); ACC/ACC, ACC/ATA, ATA/ATA (baixa produção)	29 (90,62%)	39 (88,64%)	0.78	(0,27 – 5,61)

**Fonte:** Dados da pesquisa, coletados pelo autor.

<sup>1</sup> Duas leituras de alelos perdidas;

<sup>2</sup> Seis leituras de alelos perdidas;

<sup>3</sup> Uma leitura de genótipo perdida;

\* P = Valor de p: nível de significância  $\leq$  0,05;

\*\* OR (IC): *Odds Ratio* (Intervalo de Confiança).

**Tabela 4** – Características gerais entre os grupos de mães com periodontite e o grupo de mães sem periodontite (N=76) - Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2012.

Características	SEM		P*
	PERIODONTITE N = 22	PERIODONTITE N = 54	
<b>Nível de escolaridade materna /<sup>1</sup></b>			
> 4 anos	18 (81,82%)	44 (83,02%)	0,90
0-4 anos	4 (18,18%)	9 (16,98%)	
<b>Renda familiar (em salário mínimo) <sup>1/2</sup></b>			
>1 salário mínimo	5 (22,73%)	17 (32,69%)	0,51
1 salário mínimo	12 (54,55%)	21 (40,38%)	
<1 salário mínimo	5 (22,73%)	14 (26,92%)	
Dados não informados			
<b>Internação durante a gestação</b>			
Não	11 (100%)	14 (93,33%)	
Sim	0(0%)	1 (6,67%)	0,38
Dados não informados	20	39	
<b>Tipo de parto</b>			
Normal	12 (54,55%)	21 (38,89%)	0,21
Cesárea	10 (45,45%)	33 (61,11%)	
<b>Número de gestações</b>			
Primiparidade	13 (59,09%)	39 (73,58%)	0,21
Multiparidade	9 (40,91%)	14 (26,42%)	
<b>Histórico de nascidos com baixo peso</b>			
Não	9 (81,82%)	13 (86,67%)	0,73
Sim	2 (18,18%)	2 (13,33%)	
Dados não informados	11	39	
<b>Situação conjugal <sup>1/1</sup></b>			
Casada, união estável	19 (90,48%)	38 (71,70%)	0,08
Solteira, viúva ou divorciada	2 (9,52%)	15 (28,30%)	
<b>Densidade familiar /<sup>1</sup></b>			
≥ 4 pessoas	6 (27,27%)	21 (39,62%)	0,31
< 4 pessoas	16 (72,73%)	32 (60,38%)	
<b>Local de residência</b>			
Feira de Santana	9 (40,91%)	33 (61,11%)	0,10
Outros municípios	13 (59,09%)	21 (38,89%)	
<b>Idade (em anos)</b>			
<=18 ou >=35 anos	9 (40,91%)	18 (33,33%)	0,53
19-34 anos	13 (59,09%)	36 (66,67%)	
<b>Fumou durante a gestação /<sup>1</sup></b>			
Sim	0 (0%)	1 (1,89%)	0,51
Não	22 (100%)	52 (98,11%)	
<b>Bebeu durante a gestação /<sup>1</sup></b>			

Sim	1 (4,55%)	3 (5,66%)	0,84
Não	21 (95,45%)	50 (94,34%)	
<b>Raça ou cor materna /<sup>1</sup></b>			
Branca, amarela	0 (0%)	6 (11,32%)	0,21
Preta	6 (27,27%)	16 (30,19%)	
Parda	16 (72,73%)	31 (58,49%)	
<b>Pré-natal de risco</b>			
Sim	9 (40,91%)	16 (29,63%)	0,34
Não	13 (59,09%)	38 (70,37%)	
<b>Nº de consultas no pré-natal <sup>1/2</sup></b>			
< 6	9 (42,86%)	30 (57,69%)	0,25
≥ 6	12 (57,14%)	22 (42,31%)	
<b>Infecção urinária /<sup>1</sup></b>			
Sim	2 (9,09%)	19 (35,85%)	0,01
Não	20 (90,91%)	34 (64,15%)	
<b>Hipertensão /<sup>1</sup></b>			
Sim	2 (9,09%)	6 (11,32%)	0,77
Não	20 (90,91%)	47 (88,68%)	
<b>Diabetes /<sup>1</sup></b>			
Sim	0 (0%)	1 (1,89%)	0,51
Não	22 (100%)	52 (98,11%)	
<b>Índice de massa corporal pré-gestacional</b>			
>18,5	2 (11,76%)	7 (17,5%)	0,58
≤18,5	15 (88,24)	33 (82,5%)	
Dados não informados	5	14	
<b>Atividade educativa durante o pré-natal /<sup>2</sup></b>			
Sim	6 (27,27%)	20 (38,46%)	0,35
Não	16 (72,73%)	32 (61,54%)	

**Fonte:** Dados da pesquisa, coletados pelo autor.

\* Valor de p: nível de significância  $\leq 0,05$ ;

<sup>1</sup> – Uma informação perdida.

<sup>2</sup> – Duas informações perdidas.

**Tabela 5** – Características comportamentais relacionadas à saúde bucal entre os grupos de mães com periodontite e o grupo de mães sem periodontite (N=76). Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2012.

Características	PERIODONTITE N = 22	SEM PERIODONTITE N=54	P*
<b>Escovação após refeições /<sup>1</sup></b>			
Sim	22 (100%)	49 (92,45%)	0,18
Não	0 (0%)	4 (7,55%)	
<b>Frequência do uso do fio dental /<sup>2</sup></b>			
Uma vez	4 (57,14%)	7 (36,84%)	
Duas vezes dia	2 (28,57%)	6 (34,50%)	0,58
Três vezes dia ou mais	1 (14,29%)	6 (31,58%)	
<b>Uso de fio dental /<sup>1</sup></b>			
Não	15 (68,18%)	34 (64,15%)	0,73
Sim	7 (31,85%)	19 (35,85%)	
<b>Frequência escovações por dia/<sup>2</sup></b>			
Uma vez	4 (18,18%)	8 (15,38%)	0,89
Duas vezes ao dia	7 (31,82%)	15 (28,85%)	
Três vezes ao dia ou mais	11 (50%)	29 (55,77%)	
<b>Visitas periódicas ao dentista /<sup>1</sup></b>			
Não	15 (68,18%)	38 (71,70%)	0,76
Sim	7 (31,82%)	15 (28,30%)	
<b>Número de consultas com dentista /<sup>2</sup></b>			
≤ 3	7 (100%)	7 (50,00%)	
>3	0	7 (50,00%)	0,02
Dados não informados	15	30	
<b>Aconselhamento profissional sobre higiene bucal /<sup>1</sup></b>			
Não	17 (77,27%)	42 (79,25%)	0,84
Sim	5 (22,73%)	11 (20,75%)	

**Fonte:** Dados da pesquisa, coletados pelo autor.

\* Valor de p: nível de significância ≤ 0,05;

<sup>1</sup> – Uma informação perdida;

<sup>2</sup> – Duas informações perdidas.

**Tabela 6** – Frequências alélicas de IL-6 (-174), TNF- $\alpha$  (-308) e IFN- $\gamma$  (+874) e genotípica de IL-10 (-1082; -819; -592), entre o grupo de mães com periodontite e o grupo de mães sem diagnóstico de periodontite - Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2012.

Alelos, genótipos (n)	PERIODONTITE	SEM PERIODONTITE	P*	OR (IC95%)
<b>IL-6 -174 G/C (46<sup>1</sup>/ 106)</b>				
Alelo C	9 (19,56%)	24 (22,64%)	0.67	1,20 (0,51 – 2,84)
Alelo G	37 (80,44%)	82 (77,36%)		
<b>TNF-<math>\alpha</math> -308 G/A (48 / 106)</b>				
Alelo G	46 (95,84%)	92 (86,79%)	0.09	0,29 (0,06 – 1,31)
Alelo A	2 (4,16%)	14 (13,21%)		
<b>IFN-<math>\gamma</math> +874 A/T (46 / 100<sup>2</sup>)</b>				
Alelo A	33 (68,75%)	77 (72,64%)	0.28	1,52 (0,71 – 3,28)
Alelo T	15 (31,25%)	23 (27,36%)		
<b>IL-10 -1082 G/A; -819C/T; -592C/A (23<sup>3</sup>/ 53)</b>				
Genótipo GCC/GCC (alta produção)	1 (4,35%)	7 (13,21%)	0.25	3,35 (0,39 – 28,91)
Genótipos GCC/ACC, GCC/ATA (produção intermediária);				
ACC/ACC, ACC/ATA, ATA/ATA (baixa produção)	22 (95,65%)	46 (86,79%)		

**Fonte:** Dados da pesquisa, coletados pelo autor.

<sup>1</sup> Duas leituras de alelos perdidas;

<sup>2</sup> Seis leituras de alelos perdidas;

<sup>3</sup> Uma leitura de genótipo perdida;

\* P = Valor de p: nível de significância  $\leq 0,05$ ;

\*\* OR (IC): *Odds Ratio* (Intervalo de Confiança).

## 6 DISCUSSÃO

Achados principais do estudo-piloto foram discutidos de acordo com a categorização da amostra, quanto ao peso ao nascer e à condição periodontal. Independentemente da forma de classificação da amostra, os achados sinalizaram que não houve relação entre os alelos e genótipos maternos estudados e os respectivos desfechos: mães de recém-nascidos com peso <2.500g, bem como periodontite materna.

Tratando-se de um estudo-piloto, os achados não demonstraram significância estatística, diante da falta de poder para análise do estudo. Mesmo assim, devem ser interpretados pelo olhar da Epidemiologia, uma vez que as medidas epidemiológicas sinalizam associação, embora estatisticamente não haja diferença entre os grupos.

Ao se interpretarem os achados frente ao desfecho de peso ao nascimento, pode-se observar que todos os alelos IL-6 (-174), TNF- $\alpha$  (-308) e IFN- $\gamma$  (+874) e genótipos, IL-10 (-1082; -819; -592) estudados, responsáveis pelo fenótipo clínico inflamatório, tiveram maior frequência entre mães de recém-nascidos com peso < 2.500g. A literatura sobre o polimorfismo dessas citocinas, associado ao desfecho peso ao nascimento, é escassa, porém outros desfechos – como a prematuridade – têm sido avaliados. A maioria dos estudos tem apontado para um aumento de partos prematuros associados ao polimorfismo de citocinas pró-inflamatórias (MOORE et al., 2004; ENGEL et al., 2005; SPEER et al., 2006; HOLLEGAARD et al., 2008; MENON, 2008; VRACHNIS et al., 2010) Ao se interpretarem os achados à luz do desfecho periodontite, verificou-se que os alelos IL-6 (-174) e IFN- $\gamma$  (+874) e genótipos de IL-10 (-1082; -819; -592), responsáveis pelo fenótipo clínico inflamatório, tiveram maior frequência entre mães com periodontite. Esses achados estão de acordo com algumas investigações (HOLLA et al., 2002; TERVONEN et al., 2007; CLAUDINO et al., 2008; NIBALI et al., 2008; TRINDADE et al., 2012; TRINDADE, 2012) e vão de encontro aos estudos de Moore e colaboradores (2004), Babel e colaboradores (2006) e Reicgert e colaboradores (2008).

Com relação ao achado obtido para o polimorfismo do TNF- $\alpha$ , que se mostrou de forma contrária ao observado para os outros alelos e genótipos anteriormente citados, alguns estudos, como o de Babel e colaboradores (2006), não foram capazes de confirmar a influência da distribuição dos alelos na periodontite, enquanto outros autores observaram que a maior frequência de indivíduos que carregavam variantes do gene do TNF- $\alpha$  estava associada à periodontite grave. (SOGA et al., 2003)

A pesquisa epidemiológica, em âmbito molecular, ainda é incipiente, dificultando a comparabilidade entre os estudos, pois algumas características das investigações da Imunogenética necessitam ser adaptadas às ferramentas de análise e à construção do método da Epidemiologia moderna. É nesse sentido que o presente estudo-piloto se propôs a identificar itens importantes em um campo de investigação com grandes avanços.

Outra dificuldade de comparação dos diversos estudos é a variabilidade das predições fenotípicas, a partir de polimorfismos genéticos em diferentes populações. Alguns estudos têm apontado disparidades étnicas com relação aos desfechos gestacionais e uma das razões pode ser a variabilidade genética entre populações. (ANUM et al., 2009; MENON, 2008)

Vale destacar que as mulheres que fizeram parte deste estudo apresentaram características gerais semelhantes na maioria dos aspectos avaliados nesta pesquisa. Desse modo, a comparação dos achados entre os grupos se torna mais real. As diferenças encontradas nas variáveis idade, número de consultas no pré-natal e índice de massa corporal pré-gestacional deverão ser controladas na análise final dos dados, com a incorporação de covariáveis confundidoras, na modelagem da regressão logística, por meio do ajustamento do modelo.

No que se refere ao tamanho amostral, vale ressaltar que o tamanho mínimo calculado foi de 160 mulheres participantes no estudo, divididas em dois grupos: mães de nascidos vivos com peso  $< 2.500\text{g}$  e mães de nascidos vivos com peso  $\geq 2.500\text{g}$ , assumindo-se que o desfecho peso ao nascimento tem menor frequência que a periodontite materna. Assim, confirma-se que o poder do estudo se torna comprometido para afirmar categoricamente quanto aos achados aqui apresentados.

Dessa forma, pretende-se, ao final da coleta de dados de todos os participantes do estudo, compondo o tamanho mínimo calculado da amostra, proceder à análise final dos achados, quando novos sujeitos serão incorporados para dar poder ao estudo e para permitir que as medidas de associação que se quer obter, ao final da pesquisa, sejam confiáveis.

Um avanço neste estudo-piloto é a dicotomização da IL-10. Como se trata de uma herança em haplotipo, as análises dos alelos, individualmente, dificultam a interpretação dos resultados, já que a predição fenotípica, a partir da presença alélica,

depende da combinação de genótipos herdada em bloco. Assim, o estudo das frequências genóticas facilita a análise dos dados. A literatura a respeito do tema aborda os genótipos em três categorias, de acordo com a predição fenotípica de produção da IL-10: alta, intermediária e baixa. (TURNER et al., 1997; HOFFMANN et al., 2001) No presente estudo, optou-se por dividir os genótipos da citocina em duas categorias. A primeira comportou os genótipos com predição fenotípica de alta produção de IL-10, enquanto que, na segunda, foram agrupados os perfis preditores de produção baixa e intermediária. Para a análise final dos achados, novas participantes serão incorporadas e as análises dessas categorias serão refeitas, com o objetivo de confirmar ou refutar a forma de dicotomização escolhida.

Por fim, considerando a relevância do conhecimento sobre o tema que associa a periodontite materna e o baixo peso ao nascer e a não pretensão de responder, com esta pesquisa, de forma categórica e definitiva, ao tema de associação em investigação, espera-se que, na sua conclusão final, possam ser obtidas informações que contribuam para nortear caminhos futuros sobre essa questão ainda controversa.



## 7 CONCLUSÕES

De acordo com o método empregado neste estudo-piloto e diante de suas limitações, conclui-se que houve maior frequência de alelos IL-6 (-174) e IFN- $\gamma$  (+874) e genótipos de IL-10 (-1082; -819; -592) estudados, considerados responsáveis pelo fenótipo clínico inflamatório, tanto no peso ao nascimento <2.500g, quanto na periodontite materna. Salienta-se que essas diferenças não se apresentaram estatisticamente significantes.

## REFERÊNCIAS

- ANUM, E. A. et al. Genetic contributions to disparities in preterm birth. **Pediatr Res**, v. 65, n. 1, p. 1-9, Jan. 2009. ISSN 1530-0447. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18787421>>. Acesso em: 11. fev. 2012.
- ATANASOVSKA-STOJANOVSKA, A. et al. IL10 -1082, IL10 -819 and IL10 -592 polymorphisms are associated with chronic periodontitis in a Macedonian population. **Hum Immunol**, v. 73, n. 7, p. 753-758, Jul. 2012. ISSN 1879-1166. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22537751>>. Acesso em : 11. fev. 2012.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **projeto sbbrasil 2010: pesquisa nacional de saúde bucal – resultados principais**. Brasília, DF, 2011.
- CLAUDINO, M. et al. The broad effects of the functional IL-10 promoter-592 polymorphism: modulation of IL-10, TIMP-3, and OPG expression and their association with periodontal disease outcome. **J Leukoc Biol**, v. 84, n. 6, p. 1565-1573, Dec. 2008. ISSN 0741-5400. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18725394>>. Acesso em: 12. fev. 2012.
- CRUZ, S. S. et al. Contribution of periodontal disease in pregnant women as a risk factor for low birth weight. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 37, n. 6, p. 527-533, Dec. 2009. ISSN 1600-0528. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19694773>>. Acesso em: 12. fev. 2012.
- CRUZ, S. S. et al. [Maternal periodontal disease as a factor associated with low birth weight]. **Rev Saúde Pública**, v. 39, n. 5, p. 782-787, Oct. 2005. ISSN 0034-8910. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16254655>>. Acesso em: 12. fev. 2012.
- CRUZ, S. S. et al. Periodontal therapy for pregnant women and cases of low birthweight: an intervention study. **Pediatr Int**, v. 52, n. 1, p. 57-64, Feb. 2010. ISSN 1442-200X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19460126>>. Acesso em: 12. fev. 2012.
- DIAZ, M. E. G.; PIMENTEL, B. T.; RIOSL, C. N. Enfermedad periodontal y factores locales y sistémicos asociados. **Rev. Cubana Estomatología**, v. 39, n. 3, p. 374-395, 2002. ISSN 1561-297X .
- DUTZAN, N. et al. Levels of interferon-gamma and transcription factor T-bet in progressive periodontal lesions in patients with chronic periodontitis. **J Periodontol**, v. 80, n. 2, p. 290-296, Feb. 2009. ISSN 0022-3492. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19186970>>. Acesso em : 12. fev. 2012.
- FIGUEIREDO, L. M. G.; TRINDADE, S. C. Periodontite versus diabetes *mellitus*: estado da arte **J Med Biol Sci**, v. 10, n. 3, p. 270-276, Set. 2011. ISSN: 2236-5222. Disponível em:< <http://www.portalseer.ufba.br/index.php/cmbio/article/view/5888/4241>>. Acesso em: 12.fev.2012.
- FREITAS, C. O. et al. Influence of periodontal therapy on C-reactive protein level: a systematic review and meta-analysis. **J Appl Oral Sci**, v. 20, n. 1, p. 1-8, Feb. 2012. ISSN

1678-7765. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22437670>>. Acesso em: 12. fev. 2012.

GOMES-FILHO, I. S. et al. Exposure measurement in the association between periodontal disease and prematurity/low birth weight. **J Clin Periodontol**, v. 34, n. 11, p. 957-963, Nov. 2007. ISSN 0303-6979. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17935500>>. Acesso em : 12. fev. 2012.

HEIMONEN, A. et al. Oral inflammatory burden and preterm birth. **J Periodontol**, v. 80, n. 6, p. 884-891, Jun. 2009. ISSN 0022-3492. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19485817>>. Acesso em : 12. fev. 2012.

HOFFMANN, S. C. et al. Association of cytokine polymorphic inheritance and in vitro cytokine production in anti-CD3/CD28-stimulated peripheral blood lymphocytes. **Transplantation**, v. 72, n. 8, p. 1444-1450, Oct. 2001. ISSN 0041-1337. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11685118>>. Acesso em : 12. fev. 2012.

HOLLA, L. I. et al. 5 polymorphisms in the transforming growth factor-beta 1 gene (TGF-beta 1) in adult periodontitis. **J Clin Periodontol**, v. 29, n. 4, p. 336-341, Apr. 2002. ISSN 0303-6979. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11966931>>. Acesso em: 12. fev. 2012.

\_\_\_\_\_. Interferon- $\gamma$  +874A/T polymorphism in relation to generalized chronic periodontitis and the presence of periodontopathic bacteria. **Arch Oral Biol**, v. 56, n. 2, p. 153-158, Feb 2011. ISSN 1879-1506. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20932510>>. Acesso em : 12. fev. 2012.

HOLLEGAARD, M. V. et al. Polymorphisms in the tumor necrosis factor alpha and interleukin 1-beta promoters with possible gene regulatory functions increase the risk of preterm birth. **Acta Obstet Gynecol Scand**, v. 87, n. 12, p. 1285-1290, 2008. ISSN 1600-0412. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18951205>>. Acesso em: 12. fev. 2012.

JARADAT, S. M. et al. Association of interleukin-10 gene promoter polymorphisms with chronic and aggressive periodontitis. **Oral Dis**, v. 18, n. 3, p. 271-279, Apr 2012. ISSN 1601-0825. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22077544>>. Acesso em: 12. fev. 2012.

KALBURGI, N. B. et al. Interleukin-6 promoter polymorphism (-174 G/C) in Indian patients with chronic periodontitis. **J Oral Sci**, v. 52, n. 3, p. 431-437, Sep 2010. ISSN 1880-4926. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20881337>>. Acesso em: 13 fev. 2012.

KHADER, Y. et al. Maternal periodontal status and preterm low birth weight delivery: a case-control study. **Arch Gynecol Obstet**, v. 279, n. 2, p. 165-169, Feb 2009. ISSN 1432-0711. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18523793>>. Acesso em: 13 fev. 2012.

LAWN, J. E. et al. Why are 4 million newborns babies dying each year? **Lancet**, v. 364, p. 399-401, 2004. ISSN 1474-547X. Disponível em: <[http://www.who.int/maternal\\_child\\_adolescent/documents/pdfs/lancet\\_neonatal\\_survival\\_4\\_mill\\_dying.pdf](http://www.who.int/maternal_child_adolescent/documents/pdfs/lancet_neonatal_survival_4_mill_dying.pdf)>. Acesso em: 13 fev. 2012.

LIMA, G. S; SAMPAIO, H. A. C. Influência de fatores obstétricos, socioeconômicos e nutricionais da gestante sobre o peso do recém-nascido: estudo realizado em uma maternidade em Teresina, Piauí. **Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.**, v. 4, n. 3, p. 253-261, 2004.

ISSN 1806-3829. Disponível em:

<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1519-38292004000300005](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-38292004000300005)>.

Acesso em: 13 fev. 2012.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S.; RAYMOND, J. L. Krause: alimentos nutrição e dietoterapia. 13. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. p.1227

MENEZES, N. G.; COLOMBO, A. P. Lack of association between the TNF-alpha -308 (G/A) genetic polymorphism and periodontal disease in Brazilians. **Braz Oral Res**, v. 22, n. 4, p. 322-327, 2008 Oct-Dec 2008. ISSN 1807-3107. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19148387>>. Acesso em: 13 fev. 2012.

MICHALOWICZ, B. S. et al. Change in periodontitis during pregnancy and the risk of pre-term birth and low birthweight. **J Clin Periodontol**, v. 36, n. 4, p. 308-314, Apr. 2009. ISSN 1600-051X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19426177>>. Acesso em: 13 fev. 2012.

MOORE, S. et al. A prospective study to investigate the relationship between periodontal disease and adverse pregnancy outcome. **Br Dent J**, v. 197, n. 5, p. 251-258; discussion 247, Sep. 2004. ISSN 0007-0610. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15359324>>. Acesso em: 13 fev. 2012.

MOREIRA, P. R. et al. Interleukin-6 expression and gene polymorphism are associated with severity of periodontal disease in a sample of Brazilian individuals. **Clin Exp Immunol**, v. 148, n. 1, p. 119-26, Apr. 2007. ISSN 0009-9104. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17286759>>. Acesso em: 13 fev. 2012.

NEWNHAM, J. P. et al. Treatment of periodontal disease during pregnancy: a randomized controlled trial. **Obstet Gynecol**, v. 114, n. 6, p. 1239-1248, Dec. 2009. ISSN 1873-233X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19935025>>. Acesso em: 13 fev. 2012.

NIBALI, L. et al. Association between interleukin-6 -174 polymorphism and Aggregatibacter actinomycetemcomitans in chronic periodontitis. **J Periodontol**, v. 81, n. 12, p. 1814-1819, Dec. 2010. ISSN 1943-3670. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20681812>>. Acesso em: 13 fev. 2012.

\_\_\_\_\_. A familial analysis of aggressive periodontitis - clinical and genetic findings. **J Periodontal Res**, v. 43, n. 6, p. 627-634, Dec. 2008. ISSN 1600-0765. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18752567>>. Acesso em: 13 fev. 2012.

OFFENBACHER, S. et al. Effects of periodontal therapy on rate of preterm delivery: a randomized controlled trial. **Obstet Gynecol**, v. 114, n. 3, p. 551-559, Sep. 2009. ISSN 0029-7844. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19701034>>. Acesso em: 13 fev. 2012.

\_\_\_\_\_. Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight. **J Periodontol**, v. 67, n. 10 Suppl., p. 1103-1113, Oct. 1996. ISSN 0022-3492. Disponível em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8910829>>. Acesso em: 13 fev. 2012.

- OUYANG, W. et al. Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease. **Annu Rev Immunol**, v. 29, p. 71-109, 2011. ISSN 1545-3278. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21166540>>. Acesso em: 13 fev. 2012.
- PASSOJA, A. et al. Serum levels of interleukin-10 and tumour necrosis factor- $\alpha$  in chronic periodontitis. **J Clin Periodontol**, v. 37, n. 10, p. 881-887, Oct. 2010. ISSN 1600-051X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20718895>>. Acesso em: 13 fev. 2012.
- SANTOS, L.M.P; PASQUIM, E.M; SANTOS, S.M.C. Programas de transferência de renda no Brasil: um estudo multidimensional da implementação do Bolsa Escola, Bolsa Alimentação e Cartão Alimentação. **Cienc Saude Coletiva**, v.16, n. 3, p.1821-1834, mar. 2011. ISSN 1678-4561. Disponível em < <http://www.scielo.br/pdf/rsp/v47n6/0034-8910-rsp-47-06-01159.pdf>>. Acesso em: 13 fev. 2012.
- SOGA, Y. et al. Tumor necrosis factor-alpha gene (TNF-alpha) -1031/-863, -857 single-nucleotide polymorphisms (SNPs) are associated with severe adult periodontitis in Japanese. **J Clin Periodontol**, v. 30, n. 6, p. 524-531, Jun. 2003. ISSN 0303-6979. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12795791>>. Acesso em: 13 fev. 2012.
- SPEER, E. M. et al. Role of single nucleotide polymorphisms of cytokine genes in spontaneous preterm delivery. **Hum Immunol**, v. 67, n. 11, p. 915-923, Nov 2006. ISSN 0198-8859. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17145371>>. Acesso em : 13 fev. 2012.
- SRINIVAS, S. K.; PARRY, S. Periodontal disease and pregnancy outcomes: time to move on? **J Womens Health (Larchmt)**, v. 21, n. 2, p. 121-125, Feb. 2012. ISSN 1931-843X. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21992584>>. Acesso em: 13 fev. 2012.
- TERVONEN, T. et al. Polymorphisms in the CD14 and IL-6 genes associated with periodontal disease. **J Clin Periodontol**, v. 34, n. 5, p. 377-83, May 2007. ISSN 0303-6979. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17448042>>. Acesso em: 14 mar. 2012.
- TRINDADE, S. C. et al. Induction of interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-10, IL-8 and immunoglobulin G by Porphyromonas gingivalis HmuY in humans. **J Periodontol Res**, v. 47, n. 1, p. 27-32, Feb. 2012. ISSN 1600-0765. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21848614>>. Acesso em : 14 mar. 2012.
- \_\_\_\_\_. Porphyromonas gingivalis antigens differently participate in the proliferation and cell death of human PBMC. **Arch Oral Biol**, v. 57, n. 3, p. 314-320, Mar. 2012. ISSN 1879-1506. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21944906>>. Acesso em : 14 mar. 2012.
- TURNER, D. M. et al. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. **Eur J Immunogenet**, v. 24, n. 1, p. 1-8, Feb. 1997. ISSN 0960-7420. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9043871>>. Acesso em : 14 mar. 2012.
- VERGNES, J. N.; SIXOU, M. Preterm low birth weight and maternal periodontal status: a meta-analysis. **Am J Obstet Gynecol**, v. 196, n. 2, p. 135 e 1-7, Feb. 2007. ISSN 1097-6868. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17306654>>. Acesso em : 14 mar. 2012.

VETTORE, M. V. et al. The relationship between periodontal disease and preterm low birthweight: clinical and microbiological results. **J Periodontal Res**, v. 43, n. 6, p. 615-26, Dec. 2008. ISSN 1600-0765. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18702632>>. Acesso em: 14 mar. 2012.

VRACHNIS, N. et al. Intrauterine inflammation and preterm delivery. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1205, p. 118-122, Sep. 2010. ISSN 1749-6632. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20840262>>. Acesso em: 14 mar. 2012.

XIONG, X. et al. Periodontal disease and adverse pregnancy outcomes: a systematic review. **BJOG**, v. 113, n. 2, p. 135-143, Feb. 2006. ISSN 1470-0328. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16411989>>. Acesso em : 14 mar. 2012.

YOSHIE, H. et al. The role of genetic polymorphisms in periodontitis. **Periodontol 2000**, v. 43, p. 102-132, 2007. ISSN 0906-6713. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17214838> >. Acesso em : 14 mar. 2012.

ZHANG, J. et al. Gene polymorphisms and periodontitis. **Periodontol 2000**, v. 56, n. 1, p. 102-124, 2011. ISSN: 1600-0757. Disponível em: <[http://www.readcube.com/articles/10.1111%2Fj.1600-0757.2010.00371.x?r3\\_referer=wol&tracking\\_action=preview\\_click&show\\_checkout=1&purchase\\_referrer=onlinelibrary.wiley.com&purchase\\_site\\_license=LICENSE\\_DENIED\\_NO\\_CUSTOMER](http://www.readcube.com/articles/10.1111%2Fj.1600-0757.2010.00371.x?r3_referer=wol&tracking_action=preview_click&show_checkout=1&purchase_referrer=onlinelibrary.wiley.com&purchase_site_license=LICENSE_DENIED_NO_CUSTOMER)>. Acesso em: 14 mar. 2012.

ZHONG, Q. et al. Interleukin-10 gene polymorphisms and chronic/aggressive periodontitis susceptibility: a meta-analysis based on 14 case-control studies. **Cytokine**, v. 60, n. 1, p. 47-54, Oct. 2012. ISSN 1096-0023. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22698805>>. Acesso em : 14 mar. 2012.

## APÊNDICE A – Consentimento Informado

### UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Esse trabalho de pesquisa será desenvolvido em mulheres atendidas em um Consultório Odontológico portátil na própria maternidade. As participantes serão mães de recém-nascidos portadoras ou não de doença de gengiva. Tanto mulheres recém-paridas com filho de baixo peso ao nascer/ prematuridade ou não serão convidadas a participar do estudo. Cada participante deste trabalho permitirá que sejam feitas perguntas a respeito dos seus hábitos que poderão ajudar no conhecimento do grupo estudado, além de exames clínicos de rotina para avaliar a saúde da boca. As perguntas serão feitas através de um questionário e os exames bucais serão feitos pela pesquisadora participante. Os exames na boca servem para avaliar a presença e a gravidade da doença da gengiva, com o uso de um espelho bucal e um instrumento metálico esterilizado, em volta de todos os dentes. Esses exames não apresentam risco à saúde da participante, mas podem causar um leve desconforto e podem necessitar de um certo tempo com a boca aberta. O tratamento da gengiva (limpeza dos dentes) será fornecido independente do participante aceitar ou não participar desta pesquisa, realizado no próprio consultório portátil. Os resultados dos exames registrados nos cartões das gestantes e prontuários médicos serão também avaliados, bem como o peso e idade gestacional ao nascer para observar se existe a relação com a condição bucal. Os resultados desta pesquisa servirão para dentistas e outros profissionais de saúde compreenderem melhor a participação da doença de gengiva, como um possível fator de risco nos fenômenos de prematuridade e/ou baixo peso ao nascimento. Os dados obtidos serão confidenciais e de responsabilidade dos profissionais que trabalharão na pesquisa, sendo guardados por um período de 5 anos. Quando os resultados forem publicados, as participantes não serão identificadas. Caso não seja a vontade da voluntária ou seu responsável em participar do estudo, terá liberdade de recusar ou abandonar a participação, sem qualquer prejuízo para a mesma. Portanto, atenção: sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Em caso de dúvida quanto aos seus direitos, escreva para o Comitê de Ética em Pesquisas da UEFS, no endereço Av. Universitária, s/n-Km03 da BR116 Campus Universitário CEP: 44031-460 Feira de Santana-BA-Brasil. Os pesquisadores responsáveis por essa pesquisa também estão disponíveis para maiores esclarecimentos pelo telefone e endereço abaixo. Duas Vias serão assinadas e uma via será retida pelo participante da pesquisa.

LOCAL, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

---

*Nome da voluntária*

---

*Assinatura da voluntária ou responsável*

Pesquisador/Coordenador responsável:

**Isaac Suzart Gomes Filho**

**Endereço: Av Getúlio Vargas, 379, Centro. CEP 44.025-410**

**Feira de Santana-Ba**

**APÊNDICE B – Questionário**

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Nº: \_\_\_\_\_

**Identificação recém -nascido**

Nome: \_\_\_\_\_

Data Nasc. \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ sexo \_\_\_\_\_

Cor da pele (auto-referida):  Branco  Negro  Amarelo  Pardo

Vida intra-uterina:

Peso \_\_\_\_\_

Idade \_\_\_\_\_

**Identificação da mãe**

Nome: \_\_\_\_\_

Data Nasc. \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

Cor da Pele (auto-referida):  Branco  Negro  Amarelo  Pardo

Bairro: \_\_\_\_\_ Cidade: \_\_\_\_\_

CEP: \_\_\_\_\_ Estado: \_\_\_\_\_ Telefone \_\_\_\_\_ RG \_\_\_\_\_

Escolaridade(anos de estudo): \_\_\_\_\_

Prof/Ocupação (p. gestacional): \_\_\_\_\_

Prof/Ocupação Anterior : \_\_\_\_\_

Renda Familiar (em SM) \_\_\_\_\_

Situação Conjugal \_\_\_\_\_ Nº de filhos \_\_\_\_\_

Nº de pessoas que residem no domicílio \_\_\_\_\_

**História gestacional**

Infecção urinária Sim ( ) Não ( ); Hipertensão Sim ( ) Não ( );

Diabetes insulínica Sim ( ) Não ( ); Cardiopatia Sim ( ) Não ( );

Doença pulmonar Sim ( ) Não ( )

outras patologias \_\_\_\_\_

Uso de medicamento? Antibiótico: \_\_\_\_\_ Supl. Vitamínicos:

Motivo: \_\_\_\_\_ Período: \_\_\_\_\_ frequência:  regular  eventualRealização do pre-natal:  Sim  Não ; Quantas consultas? \_\_\_\_\_

Peso (pré-gestacional ): \_\_\_\_\_ altura \_\_\_\_\_

**Parto:** ( ) Normal ( ) Cesárea

( ) Normal com fórceps ( ) Cesária com fórceps

Número de gestações \_\_\_\_\_

Tabaco:

Você fumou?

 Sim  Não



Você fuma cigarros

Sim  Não

*Outros* \_\_\_\_\_

Quanto tempo, durante a gestação? \_\_\_\_\_

Frequência: [ ] 0- raramente 1- 1 dia/sem. 2- 2 a 3 dias /sem. 3- todo dia ou quase todo dia

Obs.: \_\_\_\_\_

Bebidas Alcoólicas:

Sim  Não

Quanto tempo, durante a gestação? \_\_\_\_\_

Frequência [ ] 0- raramente 1- 1 dia/sem. 2- 2 a 3 dias /sem. 3- todo dia ou quase todo dia

Obs.: \_\_\_\_\_

Uso de Drogas

Sim  Não

Quanto tempo, durante a gestação? \_\_\_\_\_

Frequência [ ] 0- raramente 1- 1 dia/sem. 2- 2 a 3 dias /sem. 3- todo dia ou quase todo dia

Obs.: \_\_\_\_\_

### **Higiene Bucal (período gestacional)**

Escovação após as refeições

Sim  Não

Frequência:  nunca  eventualmente  freqüentemente;

Uso do fio dental

Sim  Não

Frequência:  nunca  eventualmente  freqüentemente

Atenção Odontológica:

Visita ao dentista:  Sim  Não n° de consultas \_\_\_\_\_

Recebeu algum tipo de orientação  Sim  Não

Qual? \_\_\_\_\_

## ANEXO I - Carta do Comitê de Ética em Pesquisa

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA / CEP-UEFS**

Av. Universitária, S/N – Módulo I – 44.031-460 – Feira de Santana-BA  
Fone: (75) 224-8124 Fax: (75) 224-8019 E-mail: cep@uefs.br

Feira de Santana, 06 de maio de 2009  
O f. CEP-UEFS nº 048/2009

Senhor(a) Pesquisador(a): Simone Seixas da Cruz

Tenho muita satisfação em informar-lhe que o atendimento às pendências referentes ao seu Projeto de Pesquisa intitulado “**Relação entre Doença Periodontal em Gestantes e Nascidos prematuras e/ou baixo peso**”, registrado neste CEP sob **Protocolo N.º 152/2008 (CAAE 0151.0.059.000-08)**, satisfaz às exigências da *Res. 196/96*. Assim, seu projeto foi **Aprovado** podendo ser iniciada a coleta de dados com os sujeitos da pesquisa conforme orienta o *Cap. IX.2, alínea a – Res. 196/96*.

Na oportunidade informo que qualquer modificação feita no projeto, após aprovação pelo CEP, deverá ser imediatamente comunicada ao Comitê, conforme orienta a *Res. 196/96, Cap. IX.2, alínea b*.

Relembro que conforme instrui a *Res. 196/96, Cap. IX.2, alínea c*, Vossa Senhoria deverá enviar a este CEP relatórios anuais de atividades pertinentes ao referido projeto e um relatório final tão logo a pesquisa seja concluída.

Em nome dos membros do CEP-UEFS, desejo-lhe pleno sucesso no desenvolvimento dos trabalhos e, em tempo oportuno, um ano **(06/05/2010)** este CEP aguardará o recebimento do seu relatório.

Atenciosamente,

Maria Ângela Alves do Nascimento  
Coordenadora do CEP-UEFS.