



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

CAMILA SALVADOR SESTARIO

**EFEITOS DA PERIODONTITE NA GESTAÇÃO, DESENVOLVIMENTO
FETAL E PÓS NATAL EM FILHOTES DE RATAS WISTAR**

Londrina
2024

CAMILA SALVADOR SESTARIO

**EFEITOS DA PERIODONTITE NA GESTAÇÃO, DESENVOLVIMENTO
FETAL E PÓS NATAL EM FILHOTES DE RATAS WISTAR**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Estadual de Londrina - UEL, como
requisito parcial para a obtenção do título de Doutor
em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof. Dra. Maria José Sparça Salles

Londrina
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Sestario, Camila Salvador.

EFEITOS DA PERIODONTITE NA GESTAÇÃO, DESENVOLVIMENTO FETAL E PÓS NATAL EM FILHOTES DE RATAS WISTAR / Camila Salvador Sestario. - Londrina, 2024.
96 f.

Orientador: Maria José Sparça Salles.

Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2024.

Inclui bibliografia.

1. Gestação - Tese. 2. Doença Periodontal - Tese. 3. Teratogênese - Tese. 4. Pós Natal - Tese. I. Sparça Salles, Maria José. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. III. Título.

CDU 61

CAMILA SALVADOR SESTARIO

EFEITOS DA PERIODONTITE NA GESTAÇÃO, DESENVOLVIMENTO FETAL E PÓS NATAL EM FILHOTES DE RATAS WISTAR

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa.Dra Maria José Sparça Salles
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa.Dra. Edna Maria Vissoci Reiche
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr Gerson Nakazato
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr Alberto João Zortéa Júnior
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra Kelly Regina Micheletti Cerqueira
Universidade Positivo de Londrina - UP

Londrina, 22 de janeiro de 2024.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente à Deus, por ter me dado saúde, ter me aberto caminhos e possibilitar essa trajetória, sem Ele eu não seria nada.

Agradecer à minha família, minha mãe Leila Salvador, meu pai Osvaldo Sestario Filho, minha irmã Lauren Sestario por todo o apoio e paciência comigo. Quero agradecer principalmente a minha avó Leonilda Salvador, que sempre me incentivou e nunca me deixou desistir dos meus sonhos.

Quero agradecer ao meu namorado Hiago Carmagnani por todo o suporte e carinho durante essa trajetória.

Agradeço a minha orientadora e professora Dra. Maria José Sparça Salles por todos os ensinamentos e orientações.

Quero agradecer a professora Dra. Solange de Paula Ramos, que sempre me incentivou e despertou logo cedo a paixão e vontade de fazer ciência, que sempre se dispôs a ajudar e esclarecer dúvidas.

Agradeço aos meus colegas de laboratório Aline Campos Zeffa, Caio César Nantes Martins, Viviane Mestre, por sempre estarem presentes e por toda a ajuda no desenvolvimento do trabalho.

Agradeço aos colaboradores da UEL Carlos Lourenço, Melyssa Amorim Pasciusci da Costa e João Pereira dos Santos por toda a ajuda técnica e amizade.

Agradeço aos professores Edna Maria Vissoci Reiche, Gerson Nakazato, Kelly Regina Micheletti Cerqueira e Alberto João Zortéa Júnior por terem aceitado participar da banca e fazerem parte de algo muito importante para a minha vida profissional e acadêmica.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio institucional e financeiro para realização desta tese.

"Se A é o sucesso, então A é igual a X mais Y mais Z. O trabalho é X; Y é o lazer; e Z é manter a boca fechada. "

Albert Einstein

RESUMO

SESTARIO, Camila Salvador. **Efeitos da periodontite na gestação, desenvolvimento fetal e pós-natal em filhotes de ratas Wistar.** 2024. 96 f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

A periodontite é uma inflamação crônica em resposta ao acúmulo e não remoção da placa bacteriana que provoca a destruição dos tecidos periodontais de suporte e tem impactos sistêmicos. Na gestação, as flutuações hormonais aumentam os efeitos inflamatórios, tornando as gestantes mais suscetíveis à periodontite. Este estudo investigou os efeitos da periodontite no desenvolvimento intrauterino e embriofetal de ratas Wistar. No primeiro estudo, a periodontite foi induzida em 15 ratas no grupo doença periodontal induzida (DPI) por meio do uso de ligadura com fio de algodão nº 40 nos primeiros molares superiores. Após 14 dias, os grupos DPI e C (grupo controle, n=15) foram acasalados com machos saudáveis. Após 20 dias, as ratas foram submetidas a eutanásia, laparotomia e histerectomia para avaliar o desenvolvimento intrauterino, incluindo o número de reabsorções, perda pós-implantação, taxa de reabsorção e viabilidade fetal. Além disso, foram examinadas as malformações congênitas ósseas e viscerais na prole. No segundo estudo, ratas prenhes foram divididas em dois grupos, o grupo C e o grupo DPI (n=12). A periodontite foi induzida nos primeiros molares superiores 14 dias antes do acasalamento. O parto ocorreu ao 21º dia de gestação, e quatro filhotes de cada ninhada foram avaliados por 30 dias para verificar o desenvolvimento físico, motor, reflexivo e a erupção dos incisivos. As alterações nos primeiros molares e no tecido ósseo alveolar foram avaliadas em animais de 30 dias usando microtomografia e análise histopatológica. Os dados paramétricos foram analisados pelo teste t de Student e os não paramétricos pelo teste de Mann-Whitney, com um nível de significância de 5%. Os resultados do primeiro estudo revelaram um aumento do número de reabsorções ($p=0,0003$), perdas pós-implantação ($p=0,0002$) e redução da viabilidade fetal ($p=0,0002$) nos fetos do grupo DPI quando comparados aos do grupo C. Os fetos do grupo DPI apresentaram peso ($p < 0,0001$) e tamanho ($p < 0,0001$) inferiores ao grupo C. O grupo DPI apresentou hematomas (7,0%) e alteração de forma e/ou ausência nos ossos do esterno (12,6%) e ausência de costelas (11,6%). No segundo estudo, não houve diferenças no ganho de peso corporal materno ($p > 0,05$), porém o grupo DPI apresentou menor número de filhotes vivos em relação a C ($p=0,03$). Os filhotes do grupo DPI apresentaram diminuição de peso ($p < 0,0001$), comprimento ($p < 0,0001$), atraso no crescimento de pelos ($p = 0,01$) e erupção dos dentes incisivos (0,001). Os filhotes do grupo DPI apresentaram atraso no endireitamento postural ($p=0,01$) na marcha adulta ($p=0,01$) e na geotaxia negativa ($p=0,01$). Não foram observadas anomalias de desenvolvimento nos primeiros molares superiores. No entanto, grupo DPI apresentou diminuição no número de trabéculas ósseas ($p=0,02$) e aumento na distância entre as trabéculas ($p = 0,007$). Não houve correlação entre o baixo peso e o atraso nos marcadores físicos e reflexológicos, indicando independência dessas variáveis. Sua relação parece estar associada à Doença Periodontal Induzida (DPI). Os resultados indicam que o surgimento da periodontite na gravidez está ligado a reduções na viabilidade fetal, baixo peso ao nascer, e o desenvolvimento de malformações ósseas e hemorragia perinatal. A periodontite gestacional pode ter impactos importantes na saúde dos filhotes, afetando seu desenvolvimento físico, habilidades motoras, erupção dentária, e a estrutura óssea maxilar.

Palavras-chave: Biofilme Dentário, Gengivite, Gravidez, Teratogênese, Ratas Wistar

ABSTRACT

SESTARIO, Camila Salvador. **Effects of periodontitis on pregnancy, fetal development, and postnatal outcomes in Wistar rat offspring.** 2024. 96 p. Doctoral Thesis in Health Sciences, State University of Londrina, Londrina, 2024.

Periodontitis is a chronic inflammation in response to the accumulation and non-removal of bacterial plaque that causes destruction of the supporting periodontal tissues and has systemic impacts. During pregnancy, hormonal fluctuations intensify inflammatory effects, rendering pregnant individuals more susceptible to periodontitis. This study investigated the effects of periodontitis on intrauterine and embryofetal development in Wistar rats. In the first study, periodontitis was induced in 15 rats in the induced periodontal disease (IPD) group using cotton ligatures on the upper first molars. After 14 days, IPD and control (C) groups (n=15) were mated with healthy males. After 20 days, euthanasia, laparotomy, and hysterectomy were performed to assess intrauterine development, including the number of resorptions, post-implantation loss, resorption rate, and fetal viability. Additionally, congenital bone and visceral malformations in offspring were examined. In the second study, pregnant rats were divided into two groups, C and IPD (n=12). Periodontitis was induced 14 days before mating on the upper first molars. Delivery occurred on the 21st gestational day, and four pups from each litter were evaluated for 30 days to assess physical, motor, reflex, and incisor eruption development. Changes in the first molars and alveolar bone tissue were evaluated in 30-day-old animals using microtomography and histopathological analysis. Parametric data were analyzed using Student's t-test, and non-parametric data were analyzed using the Mann-Whitney test, with a significance level of 5%. The first study results revealed an increase in the number of resorptions ($p=0.0003$), post-implantation losses ($p=0.0002$), and reduced fetal viability ($p=0.0002$) in the IPD group compared to the C group. IPD group fetuses exhibited lower weight ($p<0.0001$) and size ($p<0.0001$) than the C group. The IPD group showed hematomas (7.0%) and alterations or absence of sternum bones (12.6%) and absence of ribs (11.6%). In the second study, there were no differences in maternal body weight gain ($p>0.05$), but the IPD group had a lower number of live pups compared to C ($p=0.03$). IPD group pups showed decreased weight ($p<0.0001$), length ($p<0.0001$), delayed hair growth ($p=0.01$), and incisor eruption ($p=0.001$). IPD group pups experienced delayed postural straightening ($p=0.01$) in adult gait ($p=0.01$) and negative geotaxis ($p=0.01$). No developmental anomalies were observed in the upper first molars. However, the IPD group showed a decrease in the number of bone trabeculae ($p=0.02$) and an increase in trabecular distance ($p=0.007$). There was no correlation between low weight and delay in physical and reflexological markers, indicating independence of these variables. Their association seems to be linked to Induced Periodontal Disease (IPD). The results suggest that the onset of periodontal pockets during pregnancy is associated with reduced fetal viability, low birth weight, and the development of bone malformations and perinatal hemorrhage. Gestational periodontitis may have significant impacts on offspring health, affecting their physical development, motor skills, dental eruption, and maxillary bone structure.

Key words: Biofilme Dentário, Gengivite, Gravidez, Teratogênese, Ratas Wistar

LISTA DE FIGURAS

Artigo 1

Figura 1 – <i>Delineamento experimental</i>	33
Figura 2 – <i>Imagens de micro-CT reconstruídas</i>	37
Figura 3 – <i>Vista lateral de fetos de ratas ao 20º dia de prenhez</i>	39
Figura 4 – <i>Vista frontal dos ossos que compõe o osso esterno de fetos de ratas ao 20º dia de gestação</i>	40
Figura 5 – <i>Vista lateral esquerda de costelas em fetos de ratas ao 20º dia de gestação</i>	41
Figura 6 – <i>Vista lateral direita de costelas em fetos de ratas ao 20º dia de gestação</i>	41

Artigo 2

Figura 1 – <i>Delineamento experimental</i>	56
Figura 2 – <i>Comprimento corporal (a) e ganho de peso (b) da prole de ratas fêmeas do Dia 1 ao Dia 21 dos grupos C e P</i>	60
Figura 3 – <i>Lesão hemorrágica no dia do nascimento de animal do grupo DPI (a), e completo desaparecimento após 10 dias (b)</i>	62
Figura 4 – <i>Imagens de micro-CT reconstruídas</i>	63
Figura 5 – <i>Número de trabéculas (a) e da distância entre trabéculas do osso alveolar de filhotes de ratas com 30 dias de idade, nascidos de ratas com doença periodontal induzida (DPI) e controle (C)</i>	64
Figura 6 – <i>Análise histopatológica dos tecidos dentários e periodontais de ratos de 30 dias nascidos de fêmeas C (a,b) e DPI (c,d). (a,c)</i>	65
Figura 7 – <i>Correlação do baixo peso nos filhotes do grupo DPI com os marcadores físicos e reflexológicos</i>	66

LISTA DE TABELAS

Artigo 1

Tabela 1 – *Peso do animal, ganho de peso e peso de órgãos e tecidos de ratas no 20º dia de prenhez, submetidas a (DPI) e controle (C)38*

Tabela 2 – *Parâmetros reprodutivos e desenvolvimentos fetais em ratas prenhes submetidas a (DPI) e controle (C)38*

Artigo 2

Tabela 1 – *Ganho de peso na gestação e número de filhotes nascidos vivos de ratas submetidas a (DPI) e grupo controle (C) durante a gestação59*

Tabela 2 – *Desenvolvimento físico pós-natal em filhotes de ratas com (DPI) e controle (C) durante a gestação.....61*

Tabela 3 – *Desenvolvimento reflexológico pós-natal em filhotes de ratas com (DPI) e controle (C) durante a gestação61*

Tabela 4 – *Análise microtomográfica do primeiro molar superior direito e osso alveolar de filhotes de ratas aos 30 dias pós-nascimento de ratas com (DPI) e controle (C)64*

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ARRIVE	<i>Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments</i>
APIP	Adequação a idade de prenhez
BV	Volume do osso
BS	Superfície óssea
BS/BV	Superfície/volume
BV/TV	Volume ósseo/volume tecidual
C	Controle
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
DPI	Doença periodontal induzida
DS	Superfície da dentina
DS/DV	Superfície/volume da dentina
EDTA	<i>EDETETIC ACID</i>
EV	Volume do esmalte
ES	Superfície do esmalte
EUA	Estados Unidos da América
HE	Hematoxilina-eosina
IL- 6	Interleucina - 6
kV	Quilovolt
KOH	Hidróxido de potássio
µA	Microampere
Micro - CT	Microtomografia computadorizada
µL	Microlitros
µm	Micrômetro
PMSD	Primeiro Molar Superior Direito
ROI	Região de interesse
Tb.N	Número trabecular
Tb.Sp	Distância entre as trabéculas
Tb.Th	Média da espessura trabecular
VOI	Volume de interesse
UEL	Universidade Estadual de Londrina
UE	União Europeia

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	18
2.1	Objetivo Geral	18
2.2	Objetivos Específicos	18
3	MATERIAIS E MÉTODOS	19
3.1	Artigo 1	19
3.1.1	Animais	19
3.1.2	Delineamento experimental	19
3.1.3	Indução da periodontite	20
3.1.4	Indução de prenhez e eutanásia.....	20
3.1.5	Análise microtomográfica da lesão periodontal.....	21
3.1.6	Avaliação dos sinais clínicos de toxicidade materna.....	21
3.1.7	Avaliação do desenvolvimento intrauterino e malformações congênitas externas, viscerais e esqueléticas.....	22
3.1.8	Análise estatística.....	23
3.2	Artigo 2	23
3.2.1	Animais	23
3.2.2	Delineamento experimental	24
3.2.3	Avaliação dos sinais clínicos de toxicidade materna.....	25
3.2.4	Avaliação do desenvolvimento pós-natal.....	25
3.2.5	Avaliação da Microtomografia Computadorizada por Raios X	26
3.2.6	Análise histopatológica	26
3.2.7	Análise estatística.....	27
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1	Efeitos da doença periodontal induzida na gestação e desenvolvimento fetal em ratas Wistar	29
4.2	Efeitos pós-natal da exposição pré-natal à periodontite em filhotes de ratas Wistar.....	51
5	CONCLUSÕES	77
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	78

REFERÊNCIAS	79
APÊNDICES	90
APÊNDICE A – Ficha controle no tratamento/prenhez de ratas	91
APÊNDICE B – Ficha de análise esquelética	92
APÊNDICE C – Ficha de análise visceral.....	93
APÊNDICE D – Ficha de análise pós-natal	94
ANEXOS	95
ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética	96

1. INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença inflamatória crônica que provoca a destruição dos tecidos periodontais de suporte. A doença é causada por uma disbiose no biofilme dentário e apresenta uma característica multifatorial, com influências do meio interno e externo (SLOTS, 2017). Dentre os fatores de risco para a doença estão: fatores socioeconômicos, idade avançada, higiene oral pobre, abuso de substâncias nocivas como álcool e tabaco, doenças crônicas como diabetes mellitus não controlado e obesidade. É ainda associada a desfechos adversos durante a gestação (ALJEHANI *et al.*, 2014; DARBY, 2022). A formação do biofilme contendo periodontopatógenos induz uma resposta inflamatória que é a responsável por quase 80% dos danos causados ao tecido (MARSH; ZAURA, 2017).

A resposta inflamatória aos microrganismos pode evoluir e se tornar mais exacerbada sob a influência de diversos fatores. Sendo os fatores genéticos e epigenéticos os mais significativos, seguidos pelo uso de medicamentos ou abuso de drogas. Já os fatores ambientais, comportamentais e a estrutura anatômica também desempenham papéis cruciais nesse processo, porém menos significativos (AKCALI; LANG, 2018).

O início da periodontite se dá pela inflamação de baixo grau, com a presença de neutrófilos no periodonto sem sinais flogísticos aparentes. O hospedeiro desempenha um papel fundamental ao fornecer um ambiente propício para os microrganismos, principalmente pelo do acúmulo regular do biofilme na margem gengival dos dentes. Se não houver a desorganização do biofilme, a inflamação da gengiva marginal, chamada gengivite, pode se manifestar (PAGE; KORNMAN, 1997, BARTOLD; VAN DYKE, 2019). A gengivite é uma inflamação crônica e destrutiva que causa a perda local de colágeno, a qual pode ser revertida após o término da inflamação, porém se persistente, pode evoluir para a destruição do tecido conjuntivo subjacente e do osso alveolar, resultando em periodontite (KUMAR, 2019).

À medida que a inflamação progride, os feixes de fibras colágenas do ligamento gengival são destruídos e ocorre o aprofundamento do sulco gengival abrindo mais espaço para o desenvolvimento do biofilme. A progressão da inflamação promove, então a desorganização das fibras colágenas do ligamento periodontal e a perda de osso alveolar, caracterizando o desenvolvimento da periodontite (ARMITAGE, 2004). O microambiente criado na bolsa periodontal estimula o desenvolvimento de patógenos periodontais que se beneficiam dos produtos de degradação da resposta inflamatória como subprodutos resultantes da degradação de tecidos, da quebra do colágeno, aminoácidos, ferro, entre outros (ROSIER *et al.*, 2018). Embora o fator microbiano seja necessário para o início da doença, a resposta inflamatória do hospedeiro é a principal força motriz por trás da destruição do tecido. Segundo Page e Schroeder (1976), a periodontite se divide em quatro estágios imunológicos distintos que marcam a evolução da doença: (1) a lesão inicial, a presença

38 predominante de neutrófilos; (2) a fase seguinte da lesão inicial, observam-se macrófagos e
39 células T em maior quantidade; e nas (3) lesões mais avançadas e (4) estabelecidas, é
40 característica a participação de células B e células plasmáticas.

41 A periodontite é a principal causa de perda de dentes em adultos em nível
42 global. Indivíduos que sofrem com a forma grave da doença periodontal enfrentam um risco
43 significativo de perder muitos dentes, levando ao edentulismo e à disfunção na mastigação
44 (BENJAMIN, 2010; AL-RAFEE 2020). Isso, por sua vez, afeta a nutrição, a qualidade de vida
45 e a autoestima e impõe um impacto socioeconômico considerável. A periodontite grave, que
46 pode culminar na perda de dentes, afeta de 5% a 30% da maioria das populações adultas ao
47 redor do mundo (KASSEBAUM *et al.*, 2010; SLOTS, 2020).

48 Em uma revisão sistemática realizada por Trindade e colaboradores (2023)
49 entre 2011 e 2020, observaram que a periodontite continua a ser um preocupante problema
50 de saúde pública global, com uma prevalência agregada de quase 62,0% em adultos com
51 dentes. A prevalência agregada para casos de moderados a graves foi de 53,2%, enquanto
52 para a periodontite grave foi de 23,6%. As estimativas agregadas usando definições de casos
53 confiáveis mostraram quase o dobro da prevalência (TRINDADE *et al.*, 2023).

54 Na periodontite, a inflamação crônica de baixa intensidade é uma
55 característica comum que contribui para distúrbios inflamatórios sistêmicos. A periodontite
56 pode influenciar condições metabólicas inflamatórias, aumentando a carga inflamatória
57 sistêmica (GARDE *et al.*, 2019; TANG *et al.*, 2023). Embora estudos clínicos de intervenção
58 sugiram que o tratamento periodontal local reduz os níveis séricos de fatores inflamatórios e
59 melhora o controle metabólico, perfil lipídico e outros marcadores substitutos de doença
60 sistêmica, ainda não há evidência definitiva de que o tratamento bem-sucedido da periodontite
61 possa reduzir o risco ou a incidência de condições associadas epidemiologicamente
62 (HAJISHENGALLIS e CHAVAKIS, 2021).

63 A presença de biofilme em superfícies dentárias, tanto na região oclusal
64 quanto próxima à gengiva, é um indicativo de inadequação na higiene oral. Esse problema é
65 uma crescente preocupação de saúde pública em escala global, com conexões profundas
66 com desigualdades sociais e comportamentos de alto risco, como o tabagismo e dietas não
67 saudáveis. Muitos desses comportamentos de alto risco são considerados fatores de risco
68 comuns, compartilhados por outras doenças crônicas não transmissíveis, como diabetes
69 mellitus e doenças cardiovasculares (DYE, 2017; KASSEBAUM *et al.*, 2017). As evidências
70 demonstram que pacientes com periodontite generalizada, especialmente aqueles
71 colonizados por organismos Gram-negativos, como *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella*
72 *forsythia* e *Prevotella intermedia*, apresentam níveis significativamente mais elevados de

73 marcadores inflamatórios no soro, em particular a proteína C reativa, interleucina (IL) - 6 e
74 fibrinogênio, em comparação com pessoas sem periodontite (NEMESH *et al.*, 2021). Estes
75 dados demonstram que a periodontite tem implicações inflamatórias sistêmicas e pode estar
76 correlacionada a outras doenças sistêmicas.

77 As alterações hormonais e comportamentais associadas a gravidez tornam
78 a gengivite e a periodontite doenças mais prevalentes em mulheres grávidas do que não
79 grávidas. A gengivite é mais comum em mulheres grávidas em comparação com mulheres
80 não grávidas. Além disso, formas mais graves de gengivite são mais frequentemente
81 observadas em mulheres grávidas. Em locais onde o acesso aos serviços de saúde bucal e o
82 comportamento de higiene bucal são menos frequentes do que as práticas recomendadas, a
83 prevalência de gengivite em mulheres em idade fértil pode chegar até 40% (ERCHICK *et al.*,
84 2019). Uma pesquisa conduzida na Índia constatou que a gengivite e a periodontite eram mais
85 prevalentes em mulheres grávidas, com uma taxa de 71,9%, em comparação com mulheres
86 não grávidas, que apresentaram uma taxa de 60,0%. Além disso, observou-se que as
87 mulheres grávidas tinham quase o dobro de chances (1,94 vezes mais) de desenvolver
88 gengivite em comparação com as mulheres não grávidas (REZVI *et al.*, 2021).

89 A periodontite pode aumentar o risco de resultados adversos na gravidez
90 incluindo complicações na gravidez, como parto prematuro, baixo peso ao nascer, recém-
91 nascidos pequenos para a idade gestacional e pré-eclâmpsia. Embora em menor escala,
92 também foram examinados outros desfechos adversos na gravidez, tais como diabetes
93 gestacional e perda fetal (IHEOZOR-EJIOFOR *et al.*, 2017; CHOI *et al.*, 2021; GARE *et al.*,
94 2021; LE *et al.*, 2022). A Organização Mundial da Saúde (OMS) definiu o parto prematuro
95 como o nascimento antes de 37 semanas completas. O baixo peso ao nascer não está
96 limitado a considerações cronológicas e abrange qualquer recém-nascido com um peso
97 inferior a 2.500 g; no entanto, em praticamente todos os casos de parto prematuro, o baixo
98 peso é uma consequência associada (JAJOO *et al.*, 2020;). A associação entre periodontite e
99 baixo peso ao nascer foi evidenciada pelo estudo de Collins *et al.* (1994), que demonstrou
100 que a indução de doença periodontal em *hamsters* resultou em um peso significativamente
101 inferior nos filhotes ao nascimento (COLLINS *et al.*, 1994).

102 Muitas teorias têm sido propostas para explicar a suscetibilidade à gengivite
103 e periodontite durante a gravidez. Uma delas se relaciona com as flutuações hormonais de
104 estrogênio e progesterona. No final do terceiro trimestre, os níveis plasmáticos do estrogênio
105 e progesterona atingem picos que são 10 e 30 vezes mais elevados, respectivamente, do que
106 aqueles observados durante o ciclo menstrual (VITTEK *et al.*, 1982; ERIKSEN *et al.*, 1988).
107 Além disso, foram identificados receptores para esses hormônios em vários subconjuntos de
108 células periodontais, sugerindo que os tecidos periodontais podem ser alvos dessas

109 alterações hormonais (GUNCU *et al.*, 2005; BOBETSIS *et al.*, 2020). Outras ainda sustentam
110 que mecanismos indiretos, mediados por mediadores inflamatórios produzidos localmente nos
111 tecidos periodontais, afetam diretamente a unidade fetal-placentária ou circulam até o fígado,
112 aumentando o estado inflamatório sistêmico por meio de respostas de proteínas de fase
113 aguda, como a proteína C reativa, o que posteriormente afetaria a unidade fetal-placentária
114 (FIGUERO *et al.*, 2020).

115 Estudos anteriores relacionaram a gestante exposta a mediadores
116 inflamatórios com alterações no desenvolvimento de diferentes sistemas do corpo, incluindo
117 o cardiovascular, a displasia broncopulmonar, o sistema ósseo, o sistema nervoso e o
118 desenvolvimento motor e cognitivo (GIAMBELLUCA *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2022; GREEN
119 *et al.*, 2023), porém sem evidências sobre alterações que envolvam o desenvolvimento
120 dentário de neonatos.

121 Os estudos estabelecem uma conexão entre problemas como baixo peso
122 ao nascimento, pré-eclâmpsia, parto prematuro e alterações no desenvolvimento
123 subsequentes a esses eventos. A periodontite possui uma grande quantidade de bactérias
124 ou processo inflamatório extenso, com perda óssea extensa, envolvimento de lesões de furca
125 em geral atingindo mais de um sítio com mobilidade; porém, não apresentam dados sobre
126 lesões incipientes que envolvam baixo grau de inflamação ou trauma na região do periodonto
127 (KALHAN *et al.*, 2022; KOMINE-AIZAWA *et al.*, 2019; GONZÁLEZ *et al.*, 2017).

128 Os dados apresentados neste estudo são de grande importância para
129 aprofundar o entendimento sobre o tema em futuras pesquisas na área. Isso é particularmente
130 relevante, considerando que a grande maioria das gestações não é planejada e o pré-natal
131 odontológico não é amplamente adotado. Essa lacuna é crítica, pois tem um impacto direto
132 na saúde pública, nos custos de assistência médica, na qualidade de vida e no progresso
133 científico. Portanto, esses resultados representam uma oportunidade significativa para
134 aprimorar a saúde tanto das mães quanto dos bebês, além de chamar atenção para o
135 desenvolvimento de estratégias para prevenção da doença periodontal aplicadas a mulheres
136 em idade fértil.

137

138

139 **2. OBJETIVOS**

140

141 2.1 Objetivo Geral

142

143 Avaliar os possíveis efeitos da periodontite sobre o desenvolvimento
144 intrauterino de ratas Wistar, as possíveis malformações congênitas na prole e as alterações
145 sobre o desenvolvimento pós-natal, odontogênese e osso trabecular da mandíbula.

146

147 2.2 Objetivos Específicos

148

149 Avaliar o desenvolvimento intrauterino da prole de ratas fêmeas expostas à
150 doença periodontal induzida durante a gestação;

151

152 Identificar as malformações estruturais externas, viscerais e esqueléticas
153 nos fetos de ratas Wistar com DPI previamente a gestação;

154

155 Avaliar o efeito da DPI na cronologia de erupção dos dentes incisivos da
156 prole de ratas expostas à DPI durante a gestação;

157

158 Avaliar o desenvolvimento neurológico, físico e motor da prole de ratas
159 fêmeas expostas à DPI durante a gestação;

160

161 Analisar as possíveis alterações nos processos de amelogênese e
162 dentinogênese e no desenvolvimento ósseo trabeculado adjacente ao primeiro molar superior
163 direito (PMSD).

164

165 Correlacionar o baixo peso ao nascimento com marcadores físicos e
166 reflexológicos associados à DPI.

166

167

168 3. MATERIAIS E MÉTODOS

169

170 Este estudo foi conduzido de acordo com os Princípios Éticos da
171 Experimentação Animal adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação
172 Animal - CONCEA sob a Lei nº 11.794, de 08/10/2008, e aprovados pelo Comitê de Ética em
173 Experimentação Animal da Universidade Estadual de Londrina, (UEL), Londrina, Paraná,
174 Brasil (Parecer n. CEUA -UEL nº17614.2018.59). (Anexo A, p. 91).

175

176 3.1 Artigo 1

177

178 3.1.1 Animais

179

180 Foram utilizadas 30 ratas e 30 ratos, adultos, da espécie *Rattus norvegicus*,
181 linhagem Wistar, com aproximadamente 250 g de massa corporal, provenientes do
182 Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas. Os animais passaram por um período
183 prévio de aclimatação no biotério setorial do Departamento de Biologia Geral da UEL e
184 mantidos em grupos de três animais em gaiolas de polipropileno (18 x 34 x 41 cm) com
185 tampa de arame zincado e contendo maravalha. Durante a execução deste trabalho, os
186 animais foram mantidos em regime de luminosidade controlada, ciclo de 12 horas
187 claro/escuro, a 22 ± 2 °C, com água e ração normocalórica (Nuvital®, Campo Largo,
188 Brasil) à vontade. O número de fêmeas por grupo foi estimado considerando o tempo
189 médio de gestação em ratas submetidas a doença periodontal experimental, que
190 resultando em animais com baixo peso ao nascer, em relação a fêmeas normais (LIANG
191 *et al.*, 2018). Para obtenção de um poder estatístico de 80%, com erro tipo I máximo de
192 5%, seriam necessárias 12 ratas. Considerando até 20% de perdas de animais durante a
193 experimentação, por falhas na indução de periodontite ou perdas em processamento de
194 amostras, foram incluídas 15 fêmeas por grupo de estudo.

195

196 3.1.2 Delineamento experimental

197

198 As ratas foram alocadas de forma aleatória nos grupos:

199 a) Grupo Rata Prenhe Controle (C, n=15) animais sem ligadura que foram
200 acasalados e passaram por eutanásia no 20º dia de prenhez.

201 b) Grupo Rata Prenhe com Doença Periodontal Induzida (DPI, n=15) animais
202 com ligadura para indução de periodontite que foram acasalados 14 dias após a
203 colocação da ligadura e passaram por eutanásia no 20º dia de prenhez.

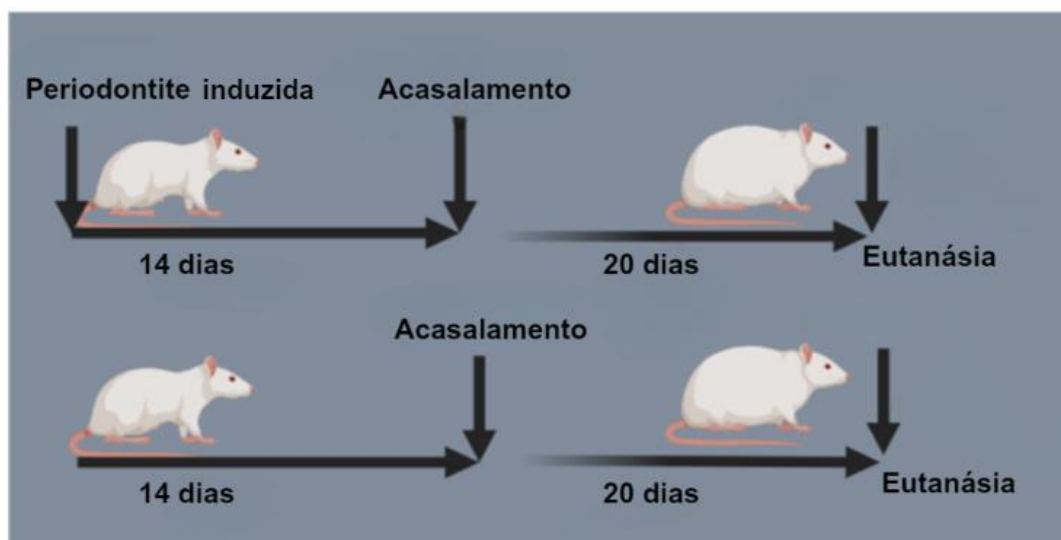


Figura 1. Delineamento experimental. As ratas do grupo DPI foram submetidas e indução de periodontite, 14 dias antes do acasalamento e pareadas por peso as ratas do grupo C. Os animais prenhes foram acompanhados por 20 dias até o procedimento de eutanásia.

3.1.3 Indução da periodontite

A indução da periodontite foi realizada sob anestesia geral, via intramuscular com solução de 16 mg/kg de xilazina a 2% cloridrato de sódio (Rompum-Bayer®, São Paulo, SP, Brasil) e 40 mg/kg de cloridrato de quetamina (Francotar-Virbac®, Roseira, SP, Brasil). Uma ligadura de algodão número de fio 40 (Coats Corrente Ltda., São Paulo, Brasil) foi posicionada em torno da região cervical do primeiro molar maxilar de cada rata e firmemente amarrado. A periodontite foi determinada clinicamente pela observação do fio em posição e se houve sangramento gengival, durante 14 dias do posicionamento da ligadura e posteriormente a indução de prenhez até o momento da eutanásia. Posteriormente, os primeiros molares superiores foram avaliados por microtomografia computadorizada (micro-CT), quanto a áreas de destruição do periodonto de inserção e formação de bolsas infraósseas (SALLAY *et al.*, 1982).

3.1.4 Indução da prenhez e eutanásia

Após 14 dias da instalação da ligadura, as fêmeas identificadas como em estro, por meio do esfregaço vaginal, foram alocadas para acasalamento. Para a confirmação de que houve a cópula, foram injetados 20 µL de solução de cloreto de sódio a 9% no canal vaginal da fêmea com uma pipeta de pequeno calibre. Em seguida, a solução foi aspirada e realizado o esfregaço em lâminas para verificar, ao microscópio óptico, a presença de espermatozoides. Além disso, foi feita uma inspeção visual nos genitais externos das

232 fêmeas buscando-se aspectos clínicos indicativos do acasalamento, como sangramento ou
233 vermelhidão na vagina. Quando a gestação foi confirmada, as fêmeas foram separadas dos
234 machos e colocadas em gaiolas individuais (MARCONDES *et al.*, 2002).

235 Ao 20º dia de gestação as ratas foram submetidas a eutanásia, via
236 intramuscular, com 100 mg/kg de cloridrato de quetamina (Francotar, Virbac) e 10 mg/kg de
237 xilazina (Rompum, Bayer), e realizado a laparotomia e histerectomia. Foi realizada a remoção
238 da cabeça das fêmeas para avaliação clínica intrabucal. As ligaduras foram retiradas e o
239 crânio foi fixado em formalina tamponada a 10%, por 48 horas. O 20º dia de prenhez foi eleito,
240 por ser um dia antes do término do período médio de gestação do rato, de 21.8 dias, quando
241 expostos a periodontite (FOGACCI *et al.*, 2016; LIANG *et al.*, 2018).

242

243

244 3.1.5 Análise microtomográfica da lesão periodontal

245

246 As amostras do osso alveolar dos primeiros molares superiores das ratas
247 prenhes, foram analisadas por microtomografia de raios-X, no Laboratório de Análise por Raio
248 X (LARX) da UEL. A aquisição das imagens das amostras foi realizada num microtomógrafo
249 Skyscan modelo 1173 (Bruker, Billerica, MS, EUA). Os parâmetros usando para aquisição das
250 imagens foi 50 KV de tensão e 160 µA para corrente do tubo de raios-X, com um passo angular
251 de rotação de 0, 35º, usada uma resolução espacial de 8 µm. A reconstrução das imagens a
252 partir das aquisições foi feita no *software* NRecon (Micro Photonics, Allentown, PA, EUA),
253 onde foi realizado a correção de *beamhard, ring artifact and smoothing*. Com as imagens 2D
254 e 3D reconstruídas, foram analisadas as perdas ósseas em torno do dente de interesse. Para
255 padronizar o volume analisado, foi construída uma rotina de análise na aba *custom processes*
256 do *software* CTan (Bruker, Billerica, MS, EUA). Após a obtenção do volume de interesse (VOI),
257 a imagem foi binarizada utilizando o algoritmo Otsu, 1979 variação proposta por Liao (2001)
258 e realizada a análise 3D para obter volume de osso e espaço vazio dentro do VOI para cada
259 amostra.

260

261 3.1.6 Avaliação dos sinais clínicos de toxicidade materna

262

263 As ratas prenhes foram pesadas a cada três dias, durante o período gestacional.
264 Também foram avaliados os sinais clínicos de toxicidade, tais como piloereção, olhos
265 avermelhados, diarreia, dificuldade na coordenação motora e morte. Após a eutanásia e
266 laparotomia, o coração, pulmão, fígado e rins foram retirados e analisados externamente
267 quanto a presença de hemorragias, áreas de necrose e coloração dos tecidos e

268 posteriormente pesados (STUCKHARDT & POPPE, 1984). (Apêndice A p. 86).

269

270 3.1.7 Avaliação do desenvolvimento intrauterino e malformações congênitas externas,
271 viscerais e esqueléticas

272

273 O conteúdo intrauterino das fêmeas foi avaliado quanto à presença de
274 reabsorções, número de fetos vivos e mortos, peso fetal e placentário, comprimento fetal e
275 presença de malformações congênitas externas, sendo calculados os seguintes índices: taxa
276 de viabilidade fetal, taxa de perda pós-implantação, taxa de reabsorção embrionária e índice
277 placentário (MORAES-SOUZA *et al.*, 2017).

278

279 O útero e os ovários foram removidos e contado o número de corpos
280 lúteos gravídicos, com o auxílio de um estereomicroscópio estereomicroscópio trinocular 40x
281 (modelo ES-130, Marte Científica, Brasil). A seguir os fetos foram retirados e os cornos
282 uterinos inspecionados quanto ao número de implantações e respectivas placentas. A
283 presença de reabsorção, número de fetos vivos e mortos, peso fetal e placentário e
malformações externas também foram analisados (MORAES-SOUZA *et al.*, 2017).

284

285 Foram determinados a viabilidade fetal [(número de fetos vivos/número
286 de locais de implantação) X 100], após perda de implantação [(número de locais de
287 implantação - número de fetos vivos/número de locais de implantação) X 100], taxa de
288 reabsorção embrionária [(número de reabsorções /número de locais de implantação) X 100]
289 e índice placentário (peso da placenta/peso do feto). A taxa de perda pré-implantação foi
290 calculada pela fórmula [(número de corpos lúteos, número de implantações) / número de
291 corpos lúteos] x 100. A porcentagem de perdas pós-implantação foi calculada pela fórmula
292 [(número de implantações, número de fetos vivos) / número de implantações] x 100
(MORAES-SOUZA *et al.*, 2017).

293

294 Os fetos foram analisados quanto à presença de malformações
295 congênitas externas. Cerca de metade deles foram destinados à análise de malformações
296 viscerais, sendo fixados em solução de Bodian e posteriormente examinados por meio de
297 cortes e microdissecção (BARROW e TAYLOR, 1969). Essa avaliação foi realizada em
298 microscópio estereoscópico (Motic SMZ 140, Motic Co, Xiamen, China). O restante dos fetos
299 foram destinados à análise de malformações esqueléticas (COSTA *et al.*, 2016), sendo
300 inicialmente fixados em acetona, eviscerados, diafanizados e corados em solução aquosa de
301 hidróxido de potássio, alizarina e solução clareadora. Posteriormente, cada feto foi analisado
302 em microscópio estereoscópico (Motic SMZ 140, Motic Co, Xiamen, China). Foi realizada
303 também a adequação do peso à idade de prenhez (APIP) (ALDERMAN *et al.*, 1998).
(Apêndice B e C, p. 87 e 88).

304

305 3.1.8 Análise estatística

306

307 Os dados foram analisados no programa *GraphPad Prism 5*®
308 (*GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, EUA*) utilizando o teste t de Student para dados
309 paramétricos e o teste de Mann-Whitney para dados não paramétricos. O teste de
310 normalidade adotado foi o teste de D'Agostino Pearson. Para dados de frequência, foi
311 utilizado o teste exato de Fisher ou o teste qui-quadrado com correção de Yates. As variáveis
312 categóricas foram expressas como número absoluto (n) e percentual (%) e as variáveis
313 contínuas como média \pm desvio padrão (DP) e dados não paramétricos expressos em
314 mediana e intervalos interquartis. As diferenças foram consideradas significativas quando
315 $P < 0,05$.

316

317 3.2 Artigo 2

318

319 3.2.1 Animais

320

321 Este estudo foi conduzido de acordo com os Princípios Éticos da
322 Experimentação Animal, e aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da
323 Universidade Estadual de Londrina, (UEL), Londrina, Paraná, Brasil (Parecer n. CEUA -UEL
324 nº17614.2018.59)

325 Ratos Wistar fêmeas (n=24) e machos (n=2), aproximadamente 250g,
326 foram alojados em grupos de três animais, em gaiolas forradas com maravalha, sob condições
327 de iluminação artificial controlada em um ciclo claro-escuro de 12 horas, a uma temperatura
328 de $22 \pm 2^\circ$ C, com água e ração normocalórica (Nuvilab, Nuvital, Campo Largo, Brasil) *ad*
329 *libitum*. Os animais foram aclimatados ao ambiente de alojamento durante um período de 14
330 dias antes do início dos procedimentos experimentais.

331

332 3.2.2 Indução da periodontite

333

334 A indução da periodontite foi realizada sob anestesia geral, via intramuscular com
335 solução de 16 mg/kg de xilazina a 2% cloridrato de sódio (Rompum-Bayer®, São Paulo, SP,
336 Brasil) e 40 mg/kg de cloridrato de quetamina (Francotar-Virbac®, Roseira, SP, Brasil). Uma
337 ligadura de algodão número de fio 40 (Coats Corrente Ltda., São Paulo, Brasil) foi posicionada
338 em torno da região cervical do primeiro molar maxilar de cada rata e firmemente amarrado. A
339 periodontite foi determinada clinicamente pela observação do fio em posição e se houve

340 sangramento gengival, durante 14 dias do posicionamento da ligadura e posteriormente a
341 indução de prenhez até o momento da eutanásia. Posteriormente, os primeiros molares
342 superiores foram avaliados através da micro-CT, quanto a áreas de destruição do periodonto
343 de inserção e formação de bolsas infraósseas. (SALLAY *et al.*, 1982).

344

345 3.2.3 Delineamento experimental

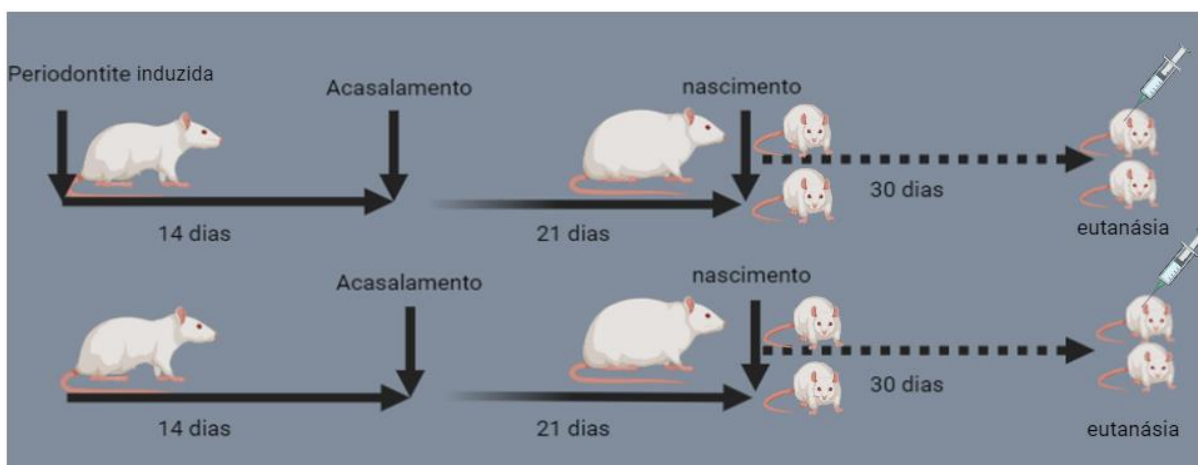
346

347 As ratas foram pesadas e distribuídas aleatoriamente em um grupo controle
348 (C, n=12) e um grupo doença periodontal induzida (DPI, n=12). O grupo P foi submetido a
349 indução de periodontite durante 14 dias, antes do acasalamento (Figura 1) (SALLAY *et al.*,
350 1982). Considerando que animais expostos a inflamação materna perdem aproximadamente
351 10% de função motora nos primeiros 21 dias pós-natal (JANTZIE *et al.*, 2014), cerca de 12
352 filhotes por grupo foram necessários para a análise de desenvolvimento motor pós-natal e
353 então atingir 80% de poder estatístico com um erro tipo I máximo de 5%. Um mínimo de 12
354 ratas para o grupo DPI foi necessário, considerando que aproximadamente 50% das ratas
355 submetidas a indução de periodontite podem não ficar prenhes após duas tentativas de
356 acasalamento (FOGACCI *et al.*, 2016), e seriam necessários 12 filhotes machos e 12 fêmeas
357 de cada grupo experimental para análise de desenvolvimento motor.

358 Ratas identificadas como em estro foram acasaladas na proporção de duas
359 fêmeas para um macho. A gestação foi confirmada pela presença de espermatozoides no
360 esfregaço vaginal e considerada o dia zero da gestação. No 21º dia de gestação, o parto
361 ocorreu de forma natural (Figura 1).

362 Quatro animais (dois machos e duas fêmeas) de cada prole dos grupos DPI
363 e C foram acompanhados diariamente durante 30 dias para avaliação do desenvolvimento,
364 comportamento motor e odontogênese (Figura 1). Após 30 dias, os animais passaram por
365 eutanásia para avaliação microtomográfica da região do primeiro molar superior.

366



367

368 **Figura 2. Delineamento experimental.** As ratas do grupo DPI foram submetidas e indução de
 369 periodontite, 14 dias antes do acasalamento e pareadas por peso as ratas do grupo C. Os animais
 370 prenhes foram acompanhados por 21 dias até o nascimento da prole. Dois filhotes machos e dois
 371 filhotes fêmeas de cada ninhadas das ratas dos grupos C e DPI foram selecionados aleatoriamente e
 372 acompanhados durante 30 dias. Após o nascimento foi avaliado o desenvolvimento físico e
 373 reflexológico. Após 30 dias, os filhotes passaram por eutanásia e o osso alveolar e primeiros molares
 374 superiores foram avaliados por Microtomografia.

375

376 3.2.4 Avaliação dos sinais clínicos e de toxicidade materna

377

378 Para análise da toxicidade, as fêmeas prenhes foram pesadas a cada três
 379 dias durante o período gestacional até o dia anterior ao parto (20º dia). Também foram
 380 avaliados sinais clínicos de estresse e toxicidade, tais como piloereção, olhos avermelhados,
 381 diarreia, dificuldade na coordenação motora e morte.

382

383 3.2.5 Avaliação do desenvolvimento físico pós-natal

384

385 No primeiro dia pós-natal (dia 1), dois filhotes machos e dois filhotes fêmeas
 386 de cada ninhada foram selecionados aleatoriamente para avaliação do desenvolvimento pós-
 387 natal. Os animais foram medidos e pesados nos dias 1, 7, 14 e 21 pós-natal.

388

389 Os filhotes foram observados diariamente para registrar o dia em que
 390 ocorreu a abertura do pavilhão auricular (a partir do dia 2), medida da distância anogenital (a
 391 partir do dia 2 e no Dia 17), crescimento de pelos (começando no dia 4), mamilos evidentes
 392 nas fêmeas, 5 pares de glândulas mamárias (a partir da 1º semana), desdobramento de
 393 orelhas (começando no dia 10), abertura dos olhos (começando no dia 12), descida dos
 394 testículos (a partir do dia 15) e abertura vaginal (a partir do dia 28) e os aspectos anatômicos
 395 foram observados na busca de possíveis alterações (SANCHES *et al.*, 2019).

396

396 No desenvolvimento reflexológico foram avaliados o endireitamento postural
 (começando no dia 1), preensão palmar (começando no dia 2), geotaxia negativa (começando

397 no dia 4) e marcha adulta (começando no dia 9) (KISS *et al.*, 2012; HORVATH *et al.*, 2015).
398 (Apêndice D, p. 89).

399 A erupção dos dentes incisivos foi acompanhada do primeiro até o 30º dia
400 pós-natal. O Dia 30 foi escolhido por corresponder ao processo final de desenvolvimento
401 radicular e formação do cimento celular (KANEKO *et al.*, 1999).

402 No dia 30, oito animais de cada grupo foram selecionados aleatoriamente
403 para análise do primeiro molar superior direito e osso trabecular adjacente. Os animais
404 passaram por eutanásia por overdose da associação de 100 mg/kg de cloridrato de quetamina
405 (Francotar-Virbac®, Roseira, SP, Brasil) e 10 mg/kg de xilazina (Rompum-Bayer®, São Paulo,
406 SP, Brasil), por via intramuscular, e as maxilas direitas foram dissecadas e colocadas em
407 formol neutro tamponado a 10% por 24 h e mantidos em álcool 70% até análise por
408 microtomográfica (LOPES *et al.*, 2021).

409

410 3.2.6 Avaliação da Microtomografia Computadorizada por Raios X

411

412 As medidas de micro-CT foram realizadas com o microtomógrafo SkyScan-
413 Bruker, modelo 1172 (Bruker BioSpin Corporation, Kontich, Bélgica). A varredura da amostra
414 foi padronizada usando uma tensão de 44 kV e uma corrente de 226 μ A. A resolução das
415 imagens obtidas foi de 3 μ m. A reconstrução foi realizada com o programa NRecon (Bruker
416 BioSpin Corporation, Kontich, Bélgica, versão 1.7.4.2) e as análises quantitativas foram
417 realizadas com o programa CTan (Bruker BioSpin Corporation, Kontich, Bélgica, versão
418 1.20.8). As imagens 2D ou 3D foram obtidas usando o *software* DataViewer (Bruker BioSpin
419 Corporation, Kontich, Bélgica, versão 1.6.0.0) e CTVox (Bruker BioSpin Corporation, Kontich,
420 Bélgica, versão 3.3.1), respectivamente. Os parâmetros avaliados no primeiro molar superior
421 direito foram o volume de esmalte (EV, mm^3) e volume de dentina (DV, mm^3). Para a análise
422 do osso trabecular adjacente, foram considerados os seguintes parâmetros: volume ósseo
423 (BV, mm^3), superfície óssea (BS, mm^2), relação superfície/volume ósseo (BS/BV, mm^{-1}),
424 volume ósseo-relação tecido (BV/TV, %), número trabecular (Tb.N, mm^{-1}), distância entre
425 trabéculas (Tb.Sp, mm) e espessura trabecular média (Tb.Th, mm).

426

427 3.2.7 Análise histopatológica

428

429 Após a obtenção das imagens microtomográficas, as amostras foram
430 submetidas a descalcificação em solução de EDTA 10% em corrente elétrica contínua de 100
431 mV. Após a descalcificação, as amostras foram desidratadas, diafanizadas em solução de
432 xileno e incluídas em parafina histológica. Cortes de 7 μ m do longo eixo da coroa dos primeiros

433 molares superiores, foram submetidos a coloração em hematoxilina-eosina (HE). As lâminas
434 foram analisadas em microscópio óptico (Motic BA210, Motic Co, Xiamen, China) com
435 aumento de 40X. Foram identificadas alterações na formação da matriz dentinária, polpa
436 dentária, cemento radicular, ligamento periodontal e osso alveolar. A avaliação histopatológica
437 foi realizada por um patologista cego para a alocação dos grupos experimentais.

438

439 3.2.8 Análise estatística

440

441 Os dados referentes a cada análise foram tabulados e posteriormente
442 analisados no programa *GraphPad Prism 5* (*GraphPad Software, Inc.*, La Jolla, CA, EUA). A
443 distribuição de normalidade dos dados contínuos foram determinadas com o teste de Shapiro-
444 Wilk. Dados com distribuição normal foram expressos em média e desvio padrão. Para
445 variáveis com distribuição normal e homogeneidade de variância, a significância das
446 diferenças entre os grupos foi determinada pelo teste t de Student, ou foi avaliada usando
447 análise de variância de duas vias (*two-way* ANOVA; fatores: antropometria e tempo) com o
448 teste *post hoc* de Bonferroni. Os dados que não apresentaram distribuição normal e/ou não
449 apresentaram homogeneidade de variância foram analisados por meio dos testes não
450 paramétricos de Mann-Whitney, ou Kruskal-Wallis seguido do teste *post hoc* de Dunn. As
451 variáveis categóricas foram expressas como número absoluto (n) e percentual (%). O nível de
452 significância adotado foi de 5%. Para avaliar a força e a direção da relação linear entre duas
453 variáveis contínuas, foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson, que varia de -1 a 1.
454 Um valor de $r=1$ indica uma correlação perfeita positiva, onde à medida que uma variável
455 aumenta, a outra também aumenta linearmente. O nível de significância adotado foi de 5%.

456

457 **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

458

459 Os resultados obtidos na tese estão descritos em dois artigos que serão submetidos
460 às revistas científicas.

461

462 4.1 *Efeitos da doença periodontal induzida na gestação e desenvolvimento fetal*
463 *em ratas Wistar*

464 4.2 *Efeitos pós-natal da exposição pré-natal à periodontite em filhotes de ratas*
465 *Wistar*

466

467

468

469 **ARTIGO 1.**470 **Revista:** Archives of Oral Biology

471

472 **Efeitos da doença periodontal induzida na gestação e desenvolvimento fetal em ratas**473 **Wistar**

474

475 Camila Salvador Sestario ^a476 Aline Campos Zeffa ^a477 Caio César Nantes Martins ^a478 Viviane de Fátima Mestre ^a479 Avacir Casanova Andrello ^a480 Solange de Paula Ramos^a481 Maria José Sparça Salles ^{a,*}

482

483 ^a Universidade Estadual de Londrina. Rodovia Celso Garcia Cid, Km 380, Londrina, Paraná,

484 Brasil. CEP: 86057970. camilasestario@hotmail.com, alinezeffa@hotmail.com, k-

485 yow@hotmail.com, vivianemestre@yahoo.com.br, acandrello@gmail.com,

486 ramosolange@uel.br, salmjs00@gmail.com.

487

488 Autor de correspondência:

489 Maria José Sparça Salles (salmjs@gmail.com)

490 Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Biologia Geral

491 Rodovia Celso Garcia Cid, Km 380

492 Caixa postal: 10.011

493 CEP: 86057970

494

495 **Destaques:**

496 • Lesões destrutivas dos tecidos periodontais leves e moderadas durante a gestação
497 em ratas, mesmo na ausência de periodontopatógenos, podem causar abortos e baixo
498 peso ao nascimento.

499 • A presença de doença periodontal induzida durante a gestação em ratas promove
500 alterações vasculares hemorrágicas nos recém-nascidos.

501 • A presença de doença periodontal induzida durante a gestação em ratas provoca
502 alterações teratogênicas no tecido ósseo da prole.

503

504 **Declaração de interesse:** nenhum.

505 Resumo

506

507 Objetivo: Verificar os efeitos da doença periodontal induzida (DPI) no desenvolvimento
508 intrauterino e embriofetal de ratas Wistar.

509 Design: A periodontite foi induzida em 15 ratas (grupo DPI) com ligadura com fio de algodão
510 nº 40 nos primeiros molares superiores. Após 14 dias, o grupo DPI e grupo C (n=15 cada)
511 foram acasaladas com machos saudáveis. Após 20 dias, as fêmeas foram submetidas a
512 eutanásia, avaliação microtomográfica do osso alveolar da maxila, laparotomia e
513 histerectomia para avaliar o desenvolvimento intrauterino (número de reabsorções, perda pós-
514 implantação, taxa de reabsorção e viabilidade fetal) e a presença de malformações congênitas
515 ósseas e viscerais da prole. Dados paramétricos foram analisados pelo teste t de Student e
516 não-paramétricos, pelo teste de Mann-Whitney, com significância de 5%.

517 Resultados: O volume de perda óssea na região cervical do osso alveolar no grupo DPI ($0,34$
518 $\pm 0,08$ mm²) foi maior em relação a C ($0,25 \pm 0,04$, $P < 0,05$). Ocorreu um aumento do número
519 de reabsorções no grupo DPI ($1,00$ [$1,00 - 2,00$) em relação a C ($0,0$ [$0,0 - 0,0$], $p = 0,0003$),
520 perdas pós-implantação (DPI = $7,69$ [$0,0 - 9,09$]; C = $0,0$ [$0,0 - 0,0$], $p = 0,0002$) e redução da
521 viabilidade fetal (DPI = $90,91$ [$76,92 - 92,31$]; C = $100,0$ [$100,0 - 100,0$], $p = 0,0002$). Os fetos do
522 grupo DPI apresentaram peso (DPI = $4,60 \pm 0,56$ g; C = $3,50 \pm 0,34$ g, $p < 0,0001$) e tamanho
523 (DPI = $3,89 \pm 3,18$; C = $3,19 \pm 1,87$, $p < 0,0001$) inferiores ao grupo C. O grupo DPI apresentou
524 hematomas (n = 9, 7%) e alteração de forma e/ou ausência nos ossos do esterno (n = 16,
525 12,6%) e ausência de costelas (n = 15, 11,6%).

526 Conclusões: Os resultados sugerem que o desenvolvimento de periodontite durante o período
527 gestacional está associado a diminuição da viabilidade, baixo peso ao nascer e
528 desenvolvimento de malformações ósseas e hematomas perinatal.

529

530 Palavras-chave: Periodontite; Gestação; Malformações; Aborto.

531

532

533

534 **Introdução**

535

536 A periodontite é uma doença inflamatória crônica que afeta os tecidos de suporte dos
537 dentes. O acúmulo de biofilme dentário é o principal fator de risco para doença, promovendo
538 as reações inflamatórias que provocam a destruição dos tecidos periodontais de sustentação
539 do dente (Slots, 2017; Tonetti, Greenwell, & Kornman, 2018). Alterações hormonais,
540 metabólicas, inflamatórias e imunológicas que ocorrem durante a gestação podem promover
541 a disbiose do biofilme bucal e exacerbar reações inflamatórias o que contribui para a
542 exacerbação das doenças periodontais em gestantes (Lieske et al., 2022; Ortiz-Sanchez,
543 Legorreta-Herrera, & Rodriguez-Sosa, 2021). Durante a gestação, a periodontite tem uma alta
544 prevalência e aproximadamente 62,0 a 66,7% das gestantes apresentam sinais de gengivite
545 e 40,0 a 47,0% são diagnosticadas com periodontite (Chen, Hong, & Yu, 2022; Kim, Kim, Choi,
546 & Chung, 2023; Machado, Ferreira, Lopes, Mendes, & Botelho, 2023; Thomas et al., 2023).
547 Evidências clínicas sugerem que os mediadores inflamatórios liberados nos tecidos
548 periodontais em resposta aos microrganismos do biofilme dental podem causar também danos
549 a outros órgãos e tecidos e aumentar o risco de complicações durante a gestação (Chopra,
550 Radhakrishnan, & Sharma, 2020; de Mello-Neto et al., 2023; Green et al., 2023; Mahapatra et
551 al., 2021; Mohr et al., 2019).

552 A gengivite e a periodontite não tratadas em gestantes estão relacionadas ao risco de
553 aborto (Merchant, Sutherland, Liu, Pitiphat, & Dasanayake, 2018), prematuridade (Kim et al.,
554 2023; Machado et al., 2023; Sinha et al., 2022) e baixo peso ao nascimento (Machado et al.,
555 2023; Mahapatra et al., 2021; Sinha et al., 2022; Volgyesi et al., 2023). Embora as respostas
556 inflamatórias induzidas pela periodontite possam aumentar o risco de prematuridade e baixo
557 peso ao nascer, evidências de que a periodontite durante a gestação cause alterações sobre
558 a organogênese e malformações em recém-nascidos ainda são escassas na literatura
559 (Starzynska et al., 2022). Estudos sugerem que a inflamação sistêmica e intrauterina pode
560 alterar o desenvolvimento do sistema cardiovascular (Giambrone, Logue, Shao, Bidwell, &
561 Warrington, 2019; Leon et al., 2022; Seliga-Siwecka & Kornacka, 2013; Ward et al., 2023),
562 aumentar a frequência de anomalias da desenvolvimento de estruturas nervosas e derivadas
563 da crista neural (Kalish et al., 2021; Li et al., 2022; Seliga-Siwecka & Kornacka, 2013) e
564 promover atraso de desenvolvimento do tecido ósseo (Balasuriya et al., 2017; Hussein,
565 Khazaeel, Ranjbar, Tabandeh, & Alahmed, 2023; Perrone et al., 2022; Wang et al., 2022). No
566 entanto, não está estabelecido se a inflamação dos tecidos periodontais durante a gestação
567 pode promover alterações de desenvolvimento em fetos.

568 Considerando que alterações inflamatórias em gestantes aumentam o risco de
569 complicações durante a gestação e promovem alterações de desenvolvimento nos fetos, o

570 objetivo do presente estudo foi avaliar a hipótese de que a destruição dos tecidos periodontais,
571 por indução de periodontite, aumente o risco de reabsorções fetais e atraso de
572 desenvolvimento fetal.

573

574 **Materiais e métodos**

575

576 **Animais**

577

578 Este estudo foi conduzido de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação
579 Animal adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA
580 sob a Lei nº 11.794, de 08/10/2008, e aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação
581 Animal da Universidade Estadual de Londrina, (UEL), Londrina, Paraná, Brasil (Parecer n.
582 CEUA -UEL nº17614.2018.59). Todos os experimentos com animais foram realizados em
583 conformidade com as diretrizes ARRIVE (*Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments*
584 2.0, <https://www.arriveguidelines.org/resources>) e de acordo com a Lei de Animais
585 (Procedimentos Científicos) do Reino Unido de 1986 e diretrizes associadas, a Diretiva da
586 União Europeia (UE) 2010/63/UE para experimentos com animais ou o Guia do Conselho
587 Nacional de Pesquisa para o *Care and Use of Laboratory Animals*.

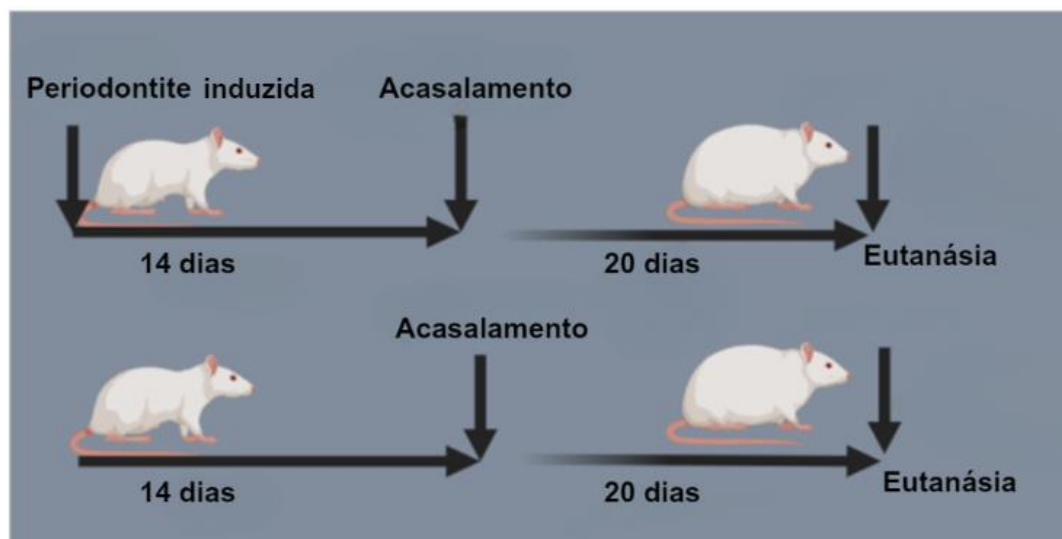
588 Foram utilizadas 30 ratas e 30 ratos, adultos, da espécie *Rattus norvegicus*,
589 linhagem Wistar, com aproximadamente 250 g de massa corporal, provenientes do Biotério
590 Central do Centro de Ciências Biológicas da UEL e passaram por um período prévio de
591 aclimatação no biotério setorial do Departamento de Biologia Geral da UEL. Os animais foram
592 mantidos em grupos de três animais em gaiolas de polipropileno (18 x 34 x 41 cm) com tampa
593 de arame zincado e contendo maravalha. Durante a execução deste trabalho, os animais
594 foram mantidos em regime de luminosidade controlada, ciclo de 12 horas claro/escuro, a 22 ± 2
595 °C, com água e ração normocalórica (Nuvital, Campo Largo, Brasil) à vontade. O número
596 de fêmeas por grupo foi estimado considerando o tempo médio de gestação em ratas
597 submetidas a doença periodontal induzida, resultando em animais com baixo peso ao nascer,
598 em relação a ratas controle (Liang et al., 2018). Para obtenção de um poder estatístico de
599 80%, com erro tipo I máximo de 5%, seriam necessárias 12 ratas. Considerando até 20% de
600 perdas de animais durante a experimentação, por falhas na indução de periodontite ou perdas
601 em processamento de amostras, foram incluídas 15 ratas por grupo.

602

603 As ratas foram alocadas de forma aleatória nos grupos:

604 a) Grupo Rata Prenhe Controle (C, n=15) animais sem ligadura que foram acasalados e
605 passaram por eutanásia no 20º dia de prenhez.

- 606 b) Grupo Rata Prenhe com Doença Periodontal Induzida (DPI, n=15) animais com ligadura
 607 para indução de periodontite que foram acasalados 14 dias após a colocação da ligadura
 608 e passaram por eutanásia no 20° dia de prenhez.



609 **Figura 1. Delineamento experimental.** As ratas do grupo DPI foram submetidas e
 610 indução de periodontite, 14 dias antes do acasalamento e pareadas por peso as ratas do
 611 grupo C. Os animais prenhes foram acompanhados por 20 dias até o procedimento de
 612 eutanásia.
 613

614 **Indução da periodontite**

615

616 A indução da periodontite foi realizada sob anestesia geral, via intramuscular com
 617 solução de 16 mg/kg de xilazina a 2% cloridrato de sódio (Rompum-Bayer®, São Paulo, SP,
 618 Brasil) e 40 mg/kg de cloridrato de quetamina (Francotar-Virbac®, Roseira, SP, Brasil). Uma
 619 ligadura de algodão número de fio 40 (Coats Corrente Ltda., São Paulo, Brasil) foi posicionada
 620 em torno da região cervical do primeiro molar maxilar de cada rata e firmemente amarrado. A
 621 periodontite foi determinada clinicamente pela observação do fio em posição e se houve
 622 sangramento gengival, durante 14 dias do posicionamento da ligadura e posteriormente a
 623 indução de prenhez até o momento da eutanásia. Posteriormente, os primeiros molares
 624 superiores foram avaliados através da micro-CT, quanto a áreas de destruição do periodonto
 625 de inserção e formação de bolsas infraósseas. (Sallay et al., 1982).

626

627 **Indução da prenhez e eutanasia**

628

629 Após 14 dias da instalação da ligadura, as fêmeas identificadas como em estro, por
 630 meio do esfregaço vaginal, foram alocadas para acasalamento. Para a confirmação de que
 631 houve a cópula, foram injetados 20 µL de solução de cloreto de sódio a 9% no canal vaginal

632 da fêmea com uma pipeta de pequeno calibre. Em seguida, a solução foi aspirada e realizado
633 o esfregaço em lâminas para verificar, ao microscópio óptico, a presença de espermatozoides.
634 Além disso, foi feita uma inspeção visual nos genitais externos das fêmeas buscando-se
635 aspectos clínicos indicativos do acasalamento, como sangramento ou vermelhidão na vagina.
636 Quando a gestação foi confirmada, as ratas foram separadas dos ratos e colocadas em
637 gaiolas individuais. Após o acasalamento os ratos foram submetidos a eutanásia (Marcondes,
638 Bianchi, & Tanno, 2002).

639 Ao 20º dia de gestação as ratas foram submetidas a eutanasiadas, com 100 mg/kg de
640 cloridrato de quetamina via intramuscular, (Francotar-Virbac®, Roseira, SP, Brasil) e 10 mg/kg
641 de xilazina (Rompum-Bayer®, São Paulo, SP, Brasil), e realizado a laparotomia e
642 histerectomia. Foi realizada a remoção da cabeça das fêmeas para avaliação clínica
643 intrabucal. As ligaduras foram retiradas e o crânio foi fixado em formalina tamponada a 10%,
644 por 48 horas. O 20º dia de prenhez foi eleito, por ser um dia antes do término do período
645 médio de gestação do rato, de 21,8 dias, quando expostos a periodontite (Fogacci et al., 2016;
646 Liang et al., 2018).

647

648 **Análise microtomográfica da lesão periodontal**

649

650 As amostras do osso alveolar dos primeiros molares superiores das ratas prenhes,
651 foram analisadas por microtomografia de raios-X, no Laboratório de Análise por Raio X (LARX)
652 da UEL. A aquisição das imagens das amostras foi realizada num microtomógrafo Skyscan
653 modelo 1173 (Bruker, Billerica, MS, EUA). Os parâmetros usando para aquisição das imagens
654 foi 50 KV de tensão e 160 µA para corrente do tubo de raios-X, com um passo angular de
655 rotação de 0, 35º, usada uma resolução espacial de 8 µm. A reconstrução das imagens a
656 partir das aquisições foi feita no *software* NRecon (Micro Photonics, Allentown, PA, EUA),
657 onde foi realizado a correção de *beamhard, ring artifact and smoothing*. Com as imagens 2D
658 e 3D reconstruídas, foram analisadas as perdas ósseas em torno do dente de interesse. Para
659 padronizar o volume analisado, foi construída uma rotina de análise na aba *custom processes*
660 do *software* CTan (Bruker, Billerica, MS, EUA). Após a obtenção do volume de interesse (VOI),
661 a imagem foi binarizada utilizando o algoritmo Otsu, 1979 variação proposta por Liao (2001)
662 e realizada a análise 3D para obter volume de osso e espaço vazio dentro do VOI para cada
663 amostra.

664

665 **Avaliação dos sinais clínicos de toxicidade materna**

666

667 As ratas prenhes foram pesadas a cada três dias, durante o período gestacional.

668 Também foram avaliados os sinais clínicos de toxicidade, tais como piloereção, olhos
669 avermelhados, diarreia, dificuldade na coordenação motora e morte. Após a eutanásia e
670 laparotomia, o coração, pulmão, fígado e rins foram retirados e analisados externamente
671 quanto a presença de hemorragias, áreas de necrose e coloração dos tecidos e
672 posteriormente pesados (Stuckhardt & Poppe, 1984).

673

674 **Avaliação do desenvolvimento intrauterino e malformações congênitas externas,** 675 **viscerais e esqueléticas**

676

677 O conteúdo intrauterino das fêmeas foi avaliado quanto à presença de reabsorções,
678 número de fetos vivos e mortos, peso fetal e placentário, comprimento fetal e presença de
679 malformações congênitas externas, sendo calculados os seguintes índices: taxa de
680 viabilidade fetal, taxa de perda pós-implantação, taxa de reabsorção embrionária e índice
681 placentário (Moraes-Souza et al., 2017).

682 O útero e os ovários foram removidos e contado o número de corpos lúteos gravídicos,
683 com o auxílio de um estereomicroscópio trinocular 40x (modelo ES-130, Marte Científica,
684 Brasil). A seguir, os fetos foram retirados e os cornos uterinos inspecionados quanto ao
685 número de implantações e respectivas placentas. A presença de reabsorção, número de fetos
686 vivos e mortos, peso fetal e placentário e malformações externas também foram
687 analisados (Moraes-Souza et al., 2017).

688 Foram determinados a viabilidade fetal $[(\text{número de fetos vivos}/\text{número de locais de}$
689 $\text{implantação}) \times 100]$, após perda de implantação $[(\text{número de locais de implantação} - \text{número}$
690 $\text{de fetos vivos}/\text{número de locais de implantação}) \times 100]$, taxa de reabsorção embrionária
691 $[(\text{número de reabsorções}/\text{número de locais de implantação}) \times 100]$ e índice placentário (peso
692 da placenta/peso do feto). A taxa de perda pré-implantação foi calculada pela fórmula
693 $[(\text{número de corpos lúteos, número de implantações}) / \text{número de corpos lúteos}] \times 100$. A
694 porcentagem de perdas pós-implantação foi calculada pela fórmula $[(\text{número de implantações,}$
695 $\text{número de fetos vivos}) / \text{número de implantações}] \times 100$ (Moraes-Souza et al., 2017).

696 Os fetos foram analisados quanto à presença de malformações congênitas externas.
697 Cerca de metade deles foram destinados à análise de malformações viscerais, sendo fixados
698 em solução de Bodian e posteriormente examinados por meio de cortes e microdissecção
699 (Barrow & Taylor, 1969). Essa avaliação foi realizada em microscópio estereoscópico (Motic
700 SMZ 140, Motic Co, Xiamen, China). O restante dos fetos foram destinados à análise de
701 malformações esqueléticas (Costa Gde, Galvao, Bacchi, Moreira, & Salles, 2016), sendo
702 inicialmente fixados em acetona, eviscerados, diafanizados e corados em solução aquosa de
703 hidróxido de potássio, alizarina e solução clareadora. Posteriormente, cada feto foi analisado

704 em microscópio estereoscópico (Motic SMZ 140, Motic Co, Xiamen, China). Foi realizada
705 também a adequação do peso à idade de prenhez (APIP) (Alderman, Zhao, Holt, Watts, &
706 Beresford, 1998).

707 **Análise estatística**

708

709 Os dados foram analisados no programa *GraphPad Prism 5®* (*GraphPad Software,*
710 *Inc., La Jolla, CA, EUA*) O teste de normalidade adotado foi o teste de D'Agostino Pearson.
711 O teste t de Student para dados paramétricos e o teste de Mann-Whitney para dados não
712 paramétricos. Para dados de frequência, foi utilizado o teste exato de Fisher ou o teste qui-
713 quadrado com correção de Yates. As variáveis categóricas foram expressas como número
714 absoluto (n) e percentual (%) e as variáveis contínuas como média ± desvio padrão (DP) e
715 dados não paramétricos expressos em mediana e intervalos interquartis. As diferenças foram
716 consideradas significativas quando $P < 0,05$.

717

718

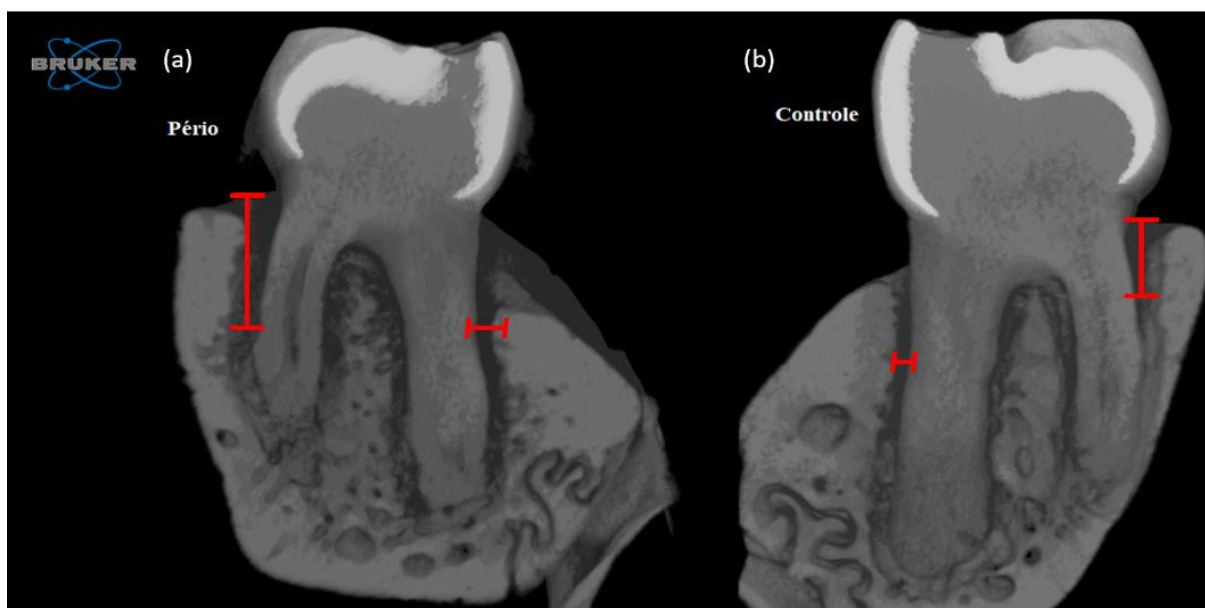
719 **Resultados**

720

721 Em resposta a indução da doença periodontal, observou-se pela da micro-CT uma
722 diferença de volume ósseo tanto na região cervical horizontalmente quanto verticalmente no
723 grupo DPI.

724 O volume de perda óssea na região cervical do osso alveolar no grupo P ($0,34 \pm 0,08$
725 mm^2) foi maior em relação a C ($0,25 \pm 0,04$, $P < 0,05$). As lesões concentram-se no terço
726 cervical do dente, sem comprometimento da região de furca (Figura 1).

727



728

729 Figura 2. Imagens de micro-CT reconstruídas. Primeiro molar superior direito do grupo doença
730 periodontal induzida com perda óssea, aumento da área radiolúcida em profundidade e espessura do
731 espaço do ligamento periodontal (a). Primeiro molar superior direito do grupo C com menor alargamento
732 do espaço do ligamento periodontal comparado ao DPI (b).

733

734 A periodontite não alterou o peso materno durante a prenhez, bem como o peso dos
735 órgãos vitais (tabela 1). Não foi observado nenhum sinal clínico de toxicidade materna.

736

737 Tabela 1. Peso final do animal, ganho de peso e peso de órgãos e tecidos de ratas no 20^o-dia
738 de prenhez, submetidas a doença periodontal induzida (DPI) e grupo controle (C).

Parâmetro	Grupo C (n= 15)	Grupo DPI (n= 15)	p
Peso Final (g) ^a	327,0 [322,0 - 342,0]	312,0 [302,0 - 335,0]	0,074
Ganho de peso (g) ^b	106,9 ± 22,72	99,29 ± 40,52	0,534
Coração (g) ^b	0,93 ± 0,01	0,83 ± 0,01	0,074
Pulmões (g) ^a	138,0 [124,0 - 160,0]	144,0 [134,0 - 184,0]	0,101
Fígado (g) ^a	12,10 [10,23 – 12,72]	10,66 [10,26 – 12,09]	0,237
Rins (g) ^b	1,74 ± 0,04	1,60 ± 0,02	0,625

739 ^a Mediana e intervalo interquartil de 25 a 75% Teste de Mann-Whitney. ^b Média ± desvio padrão Teste T de
740 Student. *P<0,05.

741
742 O grupo DPI apresentou diminuição do peso e comprimento fetal, aumento de
743 reabsorções e taxa de reabsorção, aumento da frequência de perda pós-implantação e taxa
744 de reabsorção, e diminuição da viabilidade fetal comparado ao grupo C (tabela 2). A
745 frequência de fetos com peso abaixo do peso adequado a idade de prenhez foi maior no grupo
746 DPI (tabela 2).

747

748 Tabela 2. Parâmetros reprodutivos e desenvolvimento fetais em ratas prenhes com
749 periodontite induzida (DPI) e controles (C).

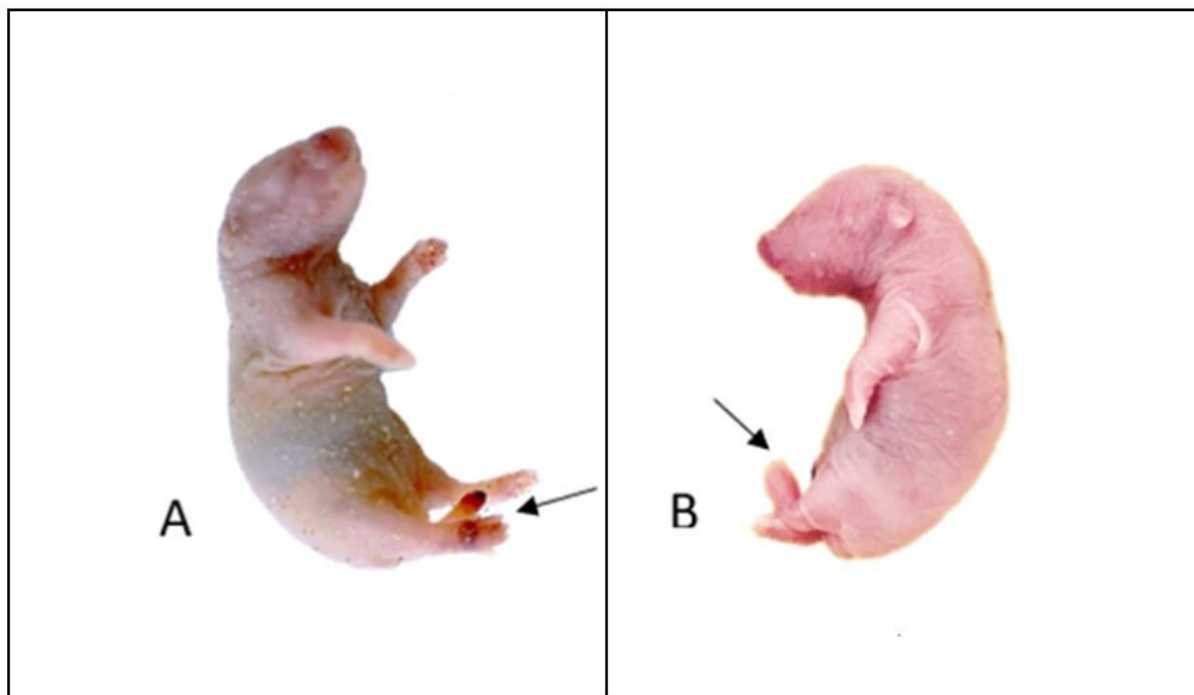
	C (n=15)	DPI (n= 15)	p
fêmeas)			
Parâmetros reprodutivos			
Reabsorções (contagem) ^a	0,0 [0,0 - 0,0]	1,00 [1,00 - 2,00] *	0,0003
Perda pós-implantação (%) ^a	0,0 [0,0 - 0,0]	7,69 [0,0 - 9,09] *	0,0002
Taxa de reabsorção (%) ^a	0,0 [0,0 - 0,0]	8,33 [7,14 - 20,0] *	0,0003
Viabilidade fetal (%) ^a	100,0 [100,0 - 100,0]	90,91 [76,92- 92,31] *	0,0002
Peso do útero com fetos (g) ^b	66,56 ± 16,11	57,53 ± 16,10	0,148
Desenvolvimento fetal			
Peso fetal (g) ^b	4,60 ± 0,56	3,50± 0,34*	< 0,0001
Comprimento fetal (cm) ^b	3,89 ± 3,18	3,19 ± 1,87*	< 0,0001
Placenta peso (g) ^b	0,36 ± 0,02	0,38 ± 0,06	0,229
Índice placentário (%) ^a	0,11 [0,09 - 0,14]	0,10 [0,09 - 0,11]	0,430
APIP ^c	N = 01, 1,3 %	N = 28, 36,3%	< 0,0001

750 ^a Mediana e intervalo interquartil de 25 a 75%, teste de Mann-Whitney. ^b Média e desvio padrão, teste
751 T de Student. ^c teste de Qui-quadrado com correção de Yates. *P<0,05.

752

753 Na análise visceral foram avaliados um total de 81 fetos do grupo C e 77 do grupo DPI.

754 Áreas de hematomas hemorrágicos (figura 2) foram observadas apenas nos animais do grupo
755 DPI (n=9; 7%).
756

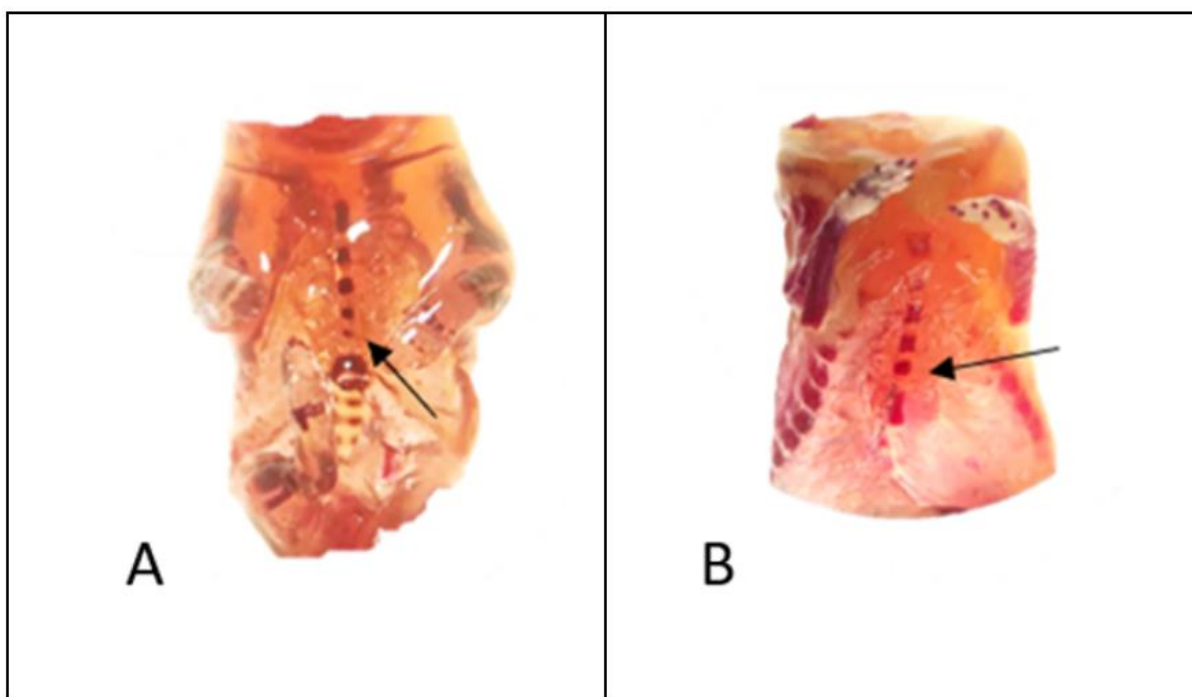


757
758 Figura 3. Vista lateral de fetos de ratas ao 20º dia de prenhez. Teste exato de Fisher e P significativo
759 >0,05. A) A seta indica o hematoma hemorrágico presente na pata inferior direita e ao final da cauda
760 do feto do grupo DPI (7,0%). B) A seta indica a pata do feto do grupo C sem hematoma hemorrágico
761 (0,0, $P>0,01$).
762 Legenda: Grupo doença periodontal induzida (DPI); Grupo controle (C).
763

764 O número de fetos avaliados na análise esquelética foram 80 do grupo C e 79 do grupo
765 DPI. Em relação as malformações esqueléticas, houve aumento da frequência de alterações
766 de forma e/ou ausência nos ossos do esterno do grupo DPI (n=16, 12,6%, Figura 3) em
767 relação a C (n=5, 3,7%, $P<0,01$).

768

769



770

771

772 Figura 4. Vista frontal dos ossos que compõe o osso esterno de fetos de ratas ao 20º dia de gestação.
773 Teste exato de Fisher e P significativo $>0,05$. A) A seta indica a alteração de tamanho e número dos
774 ossos que compõe o esterno de um feto do grupo DPI (12,6%). B) sequência correta dos ossos do
775 esterno em um filhote do grupo C (3,7%, $P<0,01$).

776

777

778

779

780

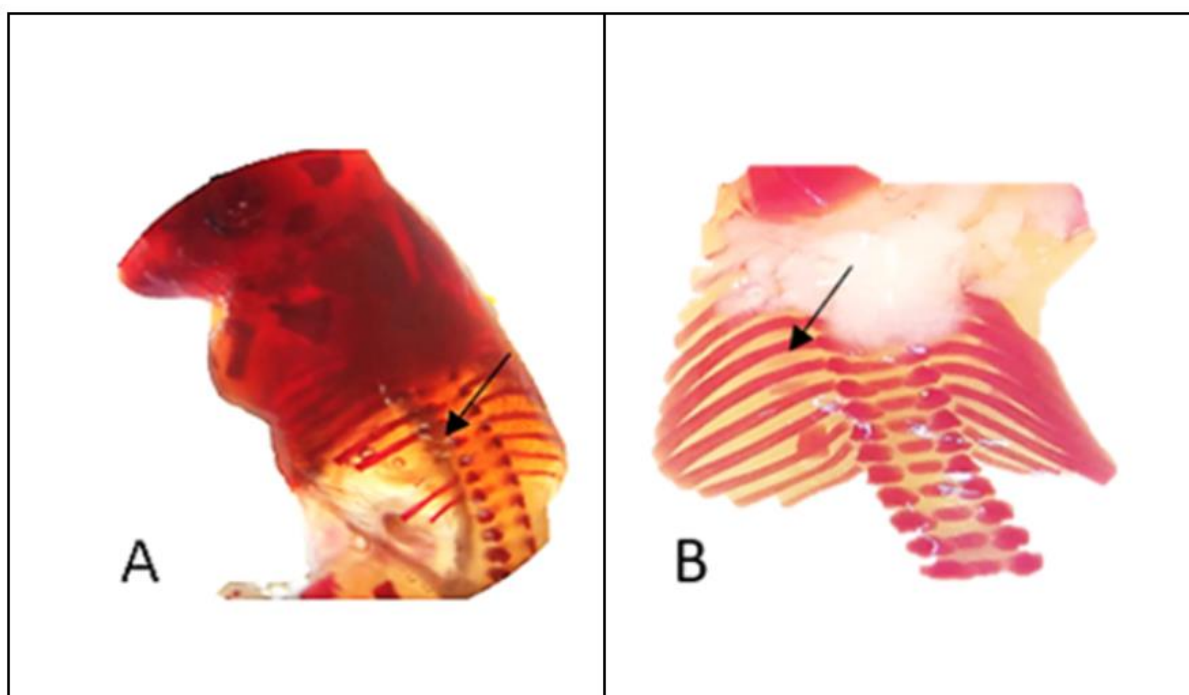
781

782

783

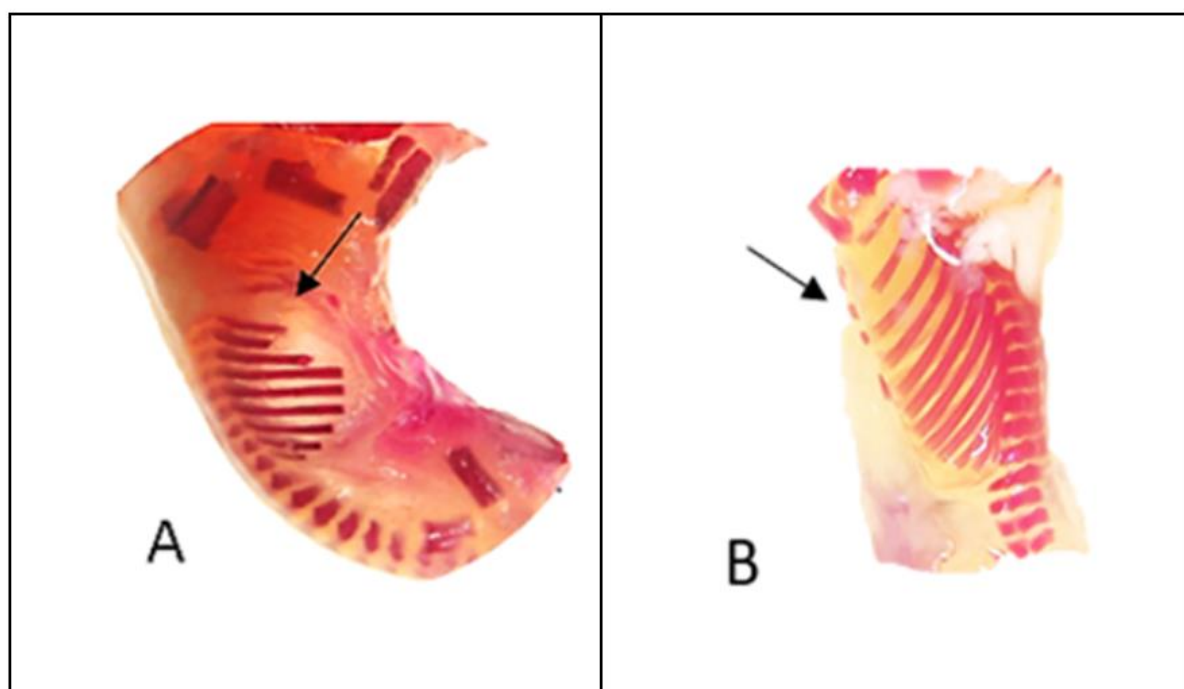
784

A ausência e ossificação parcial das costelas foi mais frequente no grupo DPI (n=15, 11,6%, Figuras 4, 5 e 6) em relação ao grupo C (n=3, 2,5%, $P<0,01$).



782
783
784
785
786
787
788

Figura 5. Vista lateral esquerda de costelas em fetos de ratas ao 20º dia de gestação. Teste exato de Fisher e P significativo $>0,05$. A) A seta indica a ausência de duas costelas em feto do grupo DPI (11,6%). B) A seta indica o animal do grupo C sem alterações nas costelas (2,5%, $P<0,01$).
Legenda: Grupo doença periodontal induzida (DPI); Grupo controle (C).



789
790
791
792
793
794
795

Figura 6. Vista lateral direita de costelas em fetos de ratas ao 20º dia de gestação. Teste exato de Fisher e P significativo $>0,05$. A) A seta indica a alteração no término da ossificação das costelas de feto do grupo DPI (11,6%). B) A seta indica feto do grupo C sem alterações nas costelas (2,5%, $P<0,01$).
Legenda: Grupo doença periodontal induzida (DPI); Grupo controle (C).

796 **Discussão**

797

798 A associação da periodontite e complicações na gravidez, como baixo peso ao
799 nascimento, pré-eclâmpsia, abortos e alterações cognitivas, motoras e cardíacas, tem sido
800 amplamente fundamentada em estudos epidemiológicos (Bond et al., 2023; Caneiro et al.,
801 2020; Kim et al., 2023; Machado et al., 2023; Mahapatra et al., 2021; Sinha et al., 2022). No
802 entanto, a relação com o desenvolvimento de malformações nos fetos ainda não está
803 claramente estabelecida. Considerando que a presença de um quadro inflamatório é um fator
804 de risco para complicações gestacionais e para o desenvolvimento fetal, a hipótese proposta
805 pelo estudo foi considerada verdadeira, uma vez que foram identificadas alterações de
806 desenvolvimento fetal. Os resultados do estudo apresentam evidências de uma relação entre
807 a doença periodontal materna e alterações esqueléticas e vasculares nos fetos. Estes
808 resultados sugerem que a doença periodontal, uma condição inflamatória crônica das
809 estruturas de suporte dentário, não é apenas uma preocupação para a saúde bucal materna,
810 mas também pode ter implicações mais amplas para o desenvolvimento fetal.

811 As imagens microtomográficas do periodonto materno, nas regiões de indução de
812 bolsa periodontal, demonstram a formação de bolsas intraósseas compatíveis com o
813 desenvolvimento inicial de lesões periodontais classificadas clinicamente em humanos como
814 estágio I (periodontite inicial) e II (periodontite moderada) (Tonetti et al., 2018). Lesões destes
815 estágios podem ser revertidos por tratamentos odontológicos conservadores (Caneiro-Queija
816 et al., 2019; Tonetti et al., 2018), e não são comumente associadas a prematuridade e abortos
817 na literatura (Caneiro-Queija et al., 2019; Caneiro et al., 2020; Mahapatra et al., 2021). O
818 desenvolvendo de lesões ósseas iniciais não promoveu alterações e complicações sistêmicas
819 nas fêmeas prenhes. No entanto, os resultados do presente estudo demonstram uma situação
820 preocupante quando extrapolado para o ponto vista clínico, uma vez que, mesmo lesões
821 menos avançadas de destruição periodontal, podem contribuir para o aumento do risco de
822 abortos e mal formações esqueléticas e alterações vasculares. (Kim et al, 2023; Merchant et
823 al., 2018).

824 O grupo DPI apresentou um aumento significativo de reabsorções responsável pela
825 diminuição da viabilidade fetal desde a implantação até a pós-implantação. A reabsorção nos
826 modelo de estudos de desenvolvimento fetal em ratos é uma complicação gestacional análoga
827 aos abortos em humanos (Conaway, 1955). Estes resultados sugerem, que mesmo lesões
828 periodontais iniciais podem estar correlacionadas ao aumento da incidência de abortos e
829 complicações descritas para estágios avançados da doença (Bond et al., 2023; George et al.,
830 2011; Kim et al., 2023; Merchant et al., 2018). A história autorrelatada de doença periodontal
831 prévia a gestação está associada ao aumento da incidência de abortos (Bond et al., 2023).

832 Além disso, a presença de doença periodontal, mas não a gravidade da doença, está
833 associada diretamente com o risco de abortos (Kim et al., 2023). Estudos em pacientes
834 gestantes com doença periodontal leve a moderada que receberam tratamento periodontal
835 indicam que mesmo a doença em estágio inicial aumenta o risco de parto prematuro
836 (Merchant et al., 2018).

837 A presença de altos níveis de mediadores inflamatórios e de toxinas produzidas pelos
838 microrganismos presentes no biofilme, especialmente a *Porfiromonas gingivalis*, tem sido
839 associada ao desenvolvimento de complicações gestacionais (Chopra et al., 2020; Lara et al.,
840 2023; Liang et al., 2018). O modelo de indução de periodontite utilizada no presente estudo é
841 capaz de induzir alterações inflamatórias locais e sistêmicas em outros órgãos e tecidos (de
842 Mello-Neto et al., 2023; Yang et al., 2023), o que pode ter sido associado às complicações
843 gestacionais observadas no presente estudo. Os resultados sugerem que as respostas
844 inflamatórias da destruição dos tecidos periodontais, mesmo em estágios iniciais representam
845 aumento do risco de complicações durante a gestação, independente da presença de fatores
846 de virulência dos microrganismos periodontais.

847 A inflamação advinda de processos infecciosos e não infecciosos, pode provocar o
848 rompimento da membrana placentária devido a degradação aberrante da matriz extracelular,
849 induzida por metaloproteinases de matriz como resposta ao influxo de citocinas pró-
850 inflamatórias, como o fator de necrose tumoral- α e interleucina-1 β (Abi Nahed et al., 2019;
851 Fasoulakis et al., 2023; Green et al., 2023; Gyllenhammer et al., 2021; Kwon et al., 2023). É
852 possível que a inflamação provocada pela destruição dos tecidos periodontais, exacerbada
853 por ação indireta da progesterona (Lieske et al., 2022; Ortiz-Sanchez et al., 2021), possa estar
854 associada às alterações placentárias que provocaram reabsorções e perdas implantacionais
855 no presente estudo.

856 Uma das principais funções do aumento da progesterona é a manutenção da gravidez,
857 além da participação na implantação embrionária e na modulação de respostas imunes
858 (Norwitz et al., 2020, Mor G et al., 2010). O primeiro trimestre gestacional é considerado uma
859 fase pró inflamatória, pois durante a implantação, o blastocisto rompe o revestimento uterino,
860 invade o tecido endometrial e o trofoblasto se insere entre os vasos sanguíneos maternos
861 para formar os primórdios da placenta, garantindo o suprimento de sangue necessário para o
862 feto durante e após a formação da placenta (Zhu et al. 2013). Esses movimentos celulares,
863 estimulam a formação de um ambiente de células migratórias, morte celular e reparo tecidual,
864 que requerem uma resposta inflamatória para a reparação do útero e remoção de detritos
865 celulares (Mor et al. 2011). No entanto, a persistência de estímulos inflamatórios durante a
866 fase de organogênese pode aumentar o risco de anomalias de desenvolvimento esquelético
867 fetal (Hussein et al., 2023; Xu et al., 2006). Um estudo epidemiológico demonstrou que a

868 periodontite materna está associada a atraso do desenvolvimento ósseo, com encurtamento
869 do fêmur de recém-nascidos (Takeuchi et al., 2013). Outros estudos epidemiológicos
870 demonstram que a prematuridade e o baixo peso ao nascer, associados ou não a doenças
871 inflamatórias maternas, são fatores de risco para alterações de desenvolvimento do tecido
872 ósseo, que incluem atraso do desenvolvimento e baixo volume de massa óssea (Wang et al.,
873 2022). Os achados do presente estudo demonstram que os fetos de ratas com periodontite
874 apresentaram baixo peso ao nascer a anomalias de desenvolvimento no tecido ósseo.
875 Considerando o risco de complicações gestacionais nas ratas com periodontite, isso pode ter
876 contribuído para o aumento da frequência de alterações ósseas nos fetos devido a
877 prematuridade e atraso de desenvolvimento fetal.

878 Alterações vasculares foram observadas nos fetos do grupo DPI. A presença de
879 hematomas pode estar associada ao risco aumentado de hemorragias em fetos expostos a
880 altos níveis de mediadores inflamatórios durante a gestação (Giambrone et al., 2019; Jung et
881 al., 2020). Hemorragias intraventriculares, cerebrais e de mucosas têm sido relatadas em
882 crianças nascidas prematuras ou com muito baixo peso ao nascer, associadas a diversos
883 fatores de risco maternos para complicações gestacionais (Hong, Cho, & Kim, 2023; Huang
884 et al., 2023; Iskusnykh & Chizhikov, 2022). As hemorragias em crianças de baixo peso ao
885 nascer representam grande risco de mortalidade e complicações nos recém-natos (Huang et
886 al., 2023; Iskusnykh & Chizhikov, 2022). A conexão entre a inflamação periodontal materna e
887 as hemorragias e hematomas observados nos fetos pode estar relacionada à aceleração da
888 ativação e recrutamento de neutrófilos ou monócitos circulantes, resultando em uma ativação
889 global do sistema inflamatório. Essa dinâmica pode modificar o processo de remodelamento
890 arterial, predispondo os vasos ao desenvolvimento e ruptura (Hallikainen et al., 2020). O
891 aumento do risco de nascimento de animais com baixo peso ao nascer sugere que a
892 periodontite materna também pode contribuir para o surgimento de complicações
893 hemorrágicas nos recém-nascidos.

894 Considerando a periodontite como um problema de saúde pública e seus efeitos
895 adversos no desenvolvimento intrauterino, os achados deste estudo sugerem a necessidade
896 de cuidados periodontais antes concepção e durante a gestação. Essas medidas preventivas
897 podem desempenhar um papel crucial na saúde materna e na promoção do desenvolvimento
898 saudável do feto.

899 **Limitações do estudo**

900

901 O estudo apresenta limitações, uma vez que não incluiu a avaliação da microbiota periodontal
902 e sua potencial influência no desenvolvimento do processo periodontal.

903

904 Conclusão

905

906 Os resultados deste estudo evidenciam as sérias consequências da doença
907 periodontal induzida em ratos no desenvolvimento intrauterino. Isso se reflete no aumento de
908 abortos, malformações ósseas e hemorragias em fetos, bem como em um impacto
909 significativo no peso e tamanho da ninhada em comparação ao grupo controle. A exposição
910 a essa condição durante a gestação revelou comprometimento no crescimento dos fetos e
911 uma redução na viabilidade fetal. Essas descobertas sublinham a importância de
912 compreender e abordar as ramificações potenciais da periodontite durante a gravidez para
913 garantir a saúde materna e fetal.

914

915 Agradecimentos

916

917 Os autores agradecem o suporte financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de
918 Pessoal de Nível Superior – Brasil, para desenvolvimento do estudo por meio da concessão
919 de bolsa de estudo.

920

921 **Declaração de interesses:** nenhum.

922

923 Referências

924

- 925 Abi Nahed, R., Reynaud, D., Borg, A. J., Traboulsi, W., Wetzel, A., Sapin, V., . . . Alfaidy, N.
926 (2019). NLRP7 is increased in human idiopathic fetal growth restriction and plays a
927 critical role in trophoblast differentiation. *J Mol Med (Berl)*, 97(3), 355-367.
- 928 Alderman, B. W., Zhao, H., Holt, V. L., Watts, D. H., & Beresford, S. A. (1998). Maternal
929 physical activity in pregnancy and infant size for gestational age. *Ann Epidemiol*, 8(8),
930 513-519.
- 931 Balasuriya, C. N. D., Evensen, K. A. I., Mosti, M. P., Brubakk, A. M., Jacobsen, G. W.,
932 Indredavik, M. S., . . . Syversen, U. (2017). Peak Bone Mass and Bone
933 Microarchitecture in Adults Born With Low Birth Weight Preterm or at Term: A Cohort
934 Study. *J Clin Endocrinol Metab*, 102(7), 2491-2500.
- 935 Barrow, M. V., & Taylor, W. J. (1969). A rapid method for detecting malformations in rat fetuses.
936 *J Morphol*, 127(3), 291-305.
- 937 Bond, J. C., Wise, L. A., Fox, M. P., Garcia, R. I., Murray, E. J., White, K. O., . . . Heaton, B.
938 (2023). Preconception Periodontitis and Risk of Spontaneous Abortion in a Prospective
939 Cohort Study. *Am J Epidemiol*, 192(9), 1509-1521.

- 940 Caneiro-Queija, L., Lopez-Carral, J., Martin-Lancharro, P., Limeres-Posse, J., Diz-Dios, P., &
941 Blanco-Carrion, J. (2019). Non-Surgical Treatment of Periodontal Disease in a
942 Pregnant Caucasian Women Population: Adverse Pregnancy Outcomes of a
943 Randomized Clinical Trial. *Int J Environ Res Public Health*, 16(19).
- 944 Caneiro, L., Lopez-Carral, J. M., Martin-Lancharro, P., Linares, A., Batalla, P., & Blanco-
945 Carrion, J. (2020). Periodontitis as a Preterm Birth Risk Factor in Caucasian Women:
946 A Cohort Study. *Oral Health Prev Dent*, 18(1), 77-84.
- 947 Chen, P., Hong, F., & Yu, X. (2022). Prevalence of periodontal disease in pregnancy: A
948 systematic review and meta-analysis. *J Dent*, 125, 104253.
- 949 Chopra, A., Radhakrishnan, R., & Sharma, M. (2020). Porphyromonas gingivalis and adverse
950 pregnancy outcomes: a review on its intricate pathogenic mechanisms. *Crit Rev*
951 *Microbiol*, 46(2), 213-236.
- 952 Conaway, C. H. (1955). Embryo Resorption and Placental Scar Formation in the Rat *Journal*
953 *of Mammalogy*, 36(4), 516-532.
- 954 Costa Gde, A., Galvao, T. C., Bacchi, A. D., Moreira, E. G., & Salles, M. J. (2016). Investigation
955 of possible teratogenic effects in the offspring of mice exposed to methylphenidate
956 during pregnancy. *Reprod Biomed Online*, 32(2), 170-177.
- 957 de Mello-Neto, J. M., Elangovan, G., Ervolino, E., Johnson, N. W., Gustafsson, A., & da Silva
958 Figueredo, C. M. (2023). Higher expression of Th1/Th2-related cytokines in the
959 intestine of Wistar rats with ligature-induced periodontitis. *J Periodontal Res*, 58(3),
960 588-595.
- 961 Fasoulakis, Z., Koutras, A., Ntounis, T., Antsaklis, P., Theodora, M., Valsamaki, A., . . .
962 Kontomanolis, E. N. (2023). Inflammatory Molecules Responsible for Length
963 Shortening and Preterm Birth. *Cells*, 12(2).
- 964 Fogacci, M. F., Barbirato Dda, S., Amaral Cda, S., da Silva, P. G., Coelho Mde, O., Bertozzi,
965 G., . . . Leao, A. T. (2016). No association between periodontitis, preterm birth, or
966 intrauterine growth restriction: experimental study in Wistar rats. *Am J Obstet Gynecol*,
967 214(6), 749 e741-749 e711.
- 968 George, A., Shamim, S., Johnson, M., Ajwani, S., Bhole, S., Blinkhorn, A., . . . Andrews, K.
969 (2011). Periodontal treatment during pregnancy and birth outcomes: a meta-analysis
970 of randomised trials. *Int J Evid Based Healthc*, 9(2), 122-147.
- 971 Giambrone, A. B., Logue, O. C., Shao, Q., Bidwell, G. L., 3rd, & Warrington, J. P. (2019).
972 Perinatal Micro-Bleeds and Neuroinflammation in E19 Rat Fetuses Exposed to Utero-
973 Placental Ischemia. *Int J Mol Sci*, 20(16).

- 974 Green, E. A., Garrick, S. P., Peterson, B., Berger, P. J., Galinsky, R., Hunt, R. W., . . . Nold-
975 Petry, C. A. (2023). The Role of the Interleukin-1 Family in Complications of
976 Prematurity. *Int J Mol Sci*, 24(3).
- 977 Gyllenhammer, L. E., Entringer, S., Buss, C., Simhan, H. N., Grobman, W. A., Adam, E. K., . .
978 . Wadhwa, P. D. (2021). Prospective association of maternal immune pro-inflammatory
979 responsivity and regulation in pregnancy with length of gestation. *Am J Reprod*
980 *Immunol*, 85(5), e13366.
- 981 Hallikainen, J., Lindgren, A., Savolainen, J., Selander, T., Jula, A., Närhi, M., ... & Frösen, J.
982 (2020). Periodontitis and gingival bleeding associate with intracranial aneurysms and
983 risk of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgical Review*, 43, 669-679.
- 984 Hong, Y. M., Cho, D. H., & Kim, J. K. (2023). Developmental outcomes of very low birth weight
985 infants with catch-up head growth: a nationwide cohort study. *BMC Pediatr*, 23(1), 392.
- 986 Huang, J., Wang, Y., Tian, T., Zhu, T., Tang, J., Gao, Q., & Xiong, T. (2023). Risk factors for
987 periventricular-intraventricular haemorrhage severity in preterm infants: a propensity
988 score-matched analysis. *BMC Pediatr*, 23(1), 341.
- 989 Hussein, H. A., Khazaeel, K., Ranjbar, R., Tabandeh, M. R., & Alahmed, J. A. S. (2023).
990 Protective effect of quercetin on fetal development and congenital skeletal anomalies
991 against exposure of pregnant Wistar rats to crude oil vapor. *Birth Defects Res*, 115(17),
992 1619-1629.
- 993 Iskusnykh, I. Y., & Chizhikov, V. V. (2022). Cerebellar development after preterm birth. *Front*
994 *Cell Dev Biol*, 10, 1068288.
- 995 Jung, E., Romero, R., Yeo, L., Diaz-Primera, R., Marin-Concha, J., Para, R., . . . Hsu, C. D.
996 (2020). The fetal inflammatory response syndrome: the origins of a concept,
997 pathophysiology, diagnosis, and obstetrical implications. *Semin Fetal Neonatal Med*,
998 25(4), 101146.
- 999 Kalish, B. T., Kim, E., Finander, B., Duffy, E. E., Kim, H., Gilman, C. K., . . . Huh, J. R. (2021).
1000 Maternal immune activation in mice disrupts proteostasis in the fetal brain. *Nat*
1001 *Neurosci*, 24(2), 204-213.
- 1002 Kim, N. Y., Kim, J. E., Choi, C. H., & Chung, K. H. (2023). Association between birth-related
1003 factors and periodontitis in women: Korea National Health and Nutrition Examination
1004 Survey 2013-2018. *J Clin Periodontol*, 50(10), 1326-1335.
- 1005 Kwon, M. J., Kim, J. H., Kim, K. J., Ko, E. J., Lee, J. Y., Ryu, C. S., . . . Kim, N. K. (2023).
1006 Genetic Association between Inflammatory-Related Polymorphism in STAT3, IL-1beta,
1007 IL-6, TNF-alpha and Idiopathic Recurrent Implantation Failure. *Genes (Basel)*, 14(8).

- 1008 Lara, B., Loureiro, I., Gliosca, L., Castagnola, L., Merech, F., Gallino, L., . . . Hauk, V. (2023).
1009 Porphyromonas gingivalis outer membrane vesicles shape trophoblast cell metabolism
1010 impairing functions associated to adverse pregnancy outcome. *J Cell Physiol*.
- 1011 Leon, R. L., Sharma, K., Mir, I. N., Herrera, C. L., Brown, S. L., Spong, C. Y., & Chalak, L. F.
1012 (2022). Placental vascular malperfusion lesions in fetal congenital heart disease. *Am J*
1013 *Obstet Gynecol*, 227(4), 620 e621-620 e628.
- 1014 Li, H., Long, D., Lv, G., Cheng, X., Wang, G., & Yang, X. (2022). The double-edged sword role
1015 of TGF-beta signaling pathway between intrauterine inflammation and cranial neural
1016 crest development. *FASEB J*, 36(1), e22113.
- 1017 Liang, S., Ren, H., Guo, H., Xing, W., Liu, C., Ji, Y., . . . Du, M. (2018). Periodontal infection
1018 with Porphyromonas gingivalis induces preterm birth and lower birth weight in rats. *Mol*
1019 *Oral Microbiol*, 33(4), 312-321.
- 1020 Liao, P. S., Chen, T. S., & Chung, P. C. (2001). A fast algorithm for multilevel thresholding. *J.*
1021 *Inf. Sci. Eng.*, 17(5), 713-727.
- 1022 Lieske, B., Makarova, N., Jagemann, B., Walther, C., Ebinghaus, M., Zyriax, B. C., & Aarabi,
1023 G. (2022). Inflammatory Response in Oral Biofilm during Pregnancy: A Systematic
1024 Review. *Nutrients*, 14(22).
- 1025 Machado, V., Ferreira, M., Lopes, L., Mendes, J. J., & Botelho, J. (2023). Adverse Pregnancy
1026 Outcomes and Maternal Periodontal Disease: An Overview on Meta-Analytic and
1027 Methodological Quality. *J Clin Med*, 12(11).
- 1028 Mahapatra, A., Nayak, R., Satpathy, A., Pati, B. K., Mohanty, R., Mohanty, G., & Beura, R.
1029 (2021). Maternal periodontal status, oral inflammatory load, and systemic inflammation
1030 are associated with low infant birth weight. *J Periodontol*, 92(8), 1107-1116.
- 1031 Marcondes, F. K., Bianchi, F. J., & Tanno, A. P. (2002). Determination of the estrous cycle
1032 phases of rats: some helpful considerations. *Braz J Biol*, 62(4A), 609-614.
- 1033 Merchant, A. T., Sutherland, M. W., Liu, J., Pitiphat, W., & Dasanayake, A. (2018). Periodontal
1034 treatment among mothers with mild to moderate periodontal disease and preterm birth:
1035 reanalysis of OPT trial data accounting for selective survival. *Int J Epidemiol*, 47(5),
1036 1670-1678.
- 1037 Mohr, S., Amylidi-Mohr, S. K., Stadelmann, P., Sculean, A., Persson, R., Eick, S., & Surbek,
1038 D. V. (2019). Systemic Inflammation in Pregnant Women With Periodontitis and
1039 Preterm Prelabor Rupture of Membranes: A Prospective Case-Control Study. *Front*
1040 *Immunol*, 10, 2624.
- 1041 Mor G., Cardenas I. (2010). The Immune System in Pregnancy: A Unique Complexity.
1042 American Journal of Reproductive Immunology, 63(6), 425-433. doi: 10.1111/j.1600-
1043 0897.2010.00836.x.

- 1044 Mor, G., Cardenas, I., Abrahams, V., & Guller, S. (2011). Inflammation and pregnancy: the role
1045 of the immune system at the implantation site. *Annals of the new York Academy of*
1046 *Sciences*, 1221(1), 80-87.
- 1047 Moraes-Souza, R. Q., Soares, T. S., Carmo, N. O., Damasceno, D. C., Campos, K. E., &
1048 Volpato, G. T. (2017). Adverse effects of *Croton urucurana* B. exposure during rat
1049 pregnancy. *J Ethnopharmacol*, 199, 328-333.
- 1050 Norwitz E.R., Schust D.J., Fisher S.J. (2020). Implantation and the Survival of Early
1051 Pregnancy. *The New England Journal of Medicine*, 383(15), 1445-1453. doi:
1052 10.1056/NEJMra1907635.
- 1053 Ortiz-Sanchez, B. J., Legorreta-Herrera, M., & Rodriguez-Sosa, M. (2021). Influence of
1054 Gestational Hormones on the Bacteria-Induced Cytokine Response in Periodontitis.
1055 *Mediators Inflamm*, 2021, 5834608.
- 1056 Otsu, N. (1979). A threshold selection method from gray-level histograms. *IEEE transactions*
1057 *on systems, man, and cybernetics*, 9(1), 62-66.
- 1058 Perrone, M., Casirati, A., Stagi, S., Amato, O., Piemontese, P., Liotto, N., . . . Mosca, F. (2022).
1059 Don't Forget the Bones: Incidence and Risk Factors of Metabolic Bone Disease in a
1060 Cohort of Preterm Infants. *Int J Mol Sci*, 23(18).
- 1061 Sallay, K., Sanavi, F., Ring, I., Pham, P., Behling, U. H., & Nowotny, A. (1982). Alveolar bone
1062 destruction in the immunosuppressed rat. *J Periodontal Res*, 17(3), 263-274.
- 1063 Seliga-Siwecka, J. P., & Kornacka, M. K. (2013). Neonatal outcome of preterm infants born to
1064 mothers with abnormal genital tract colonisation and chorioamnionitis: a cohort study.
1065 *Early Hum Dev*, 89(5), 271-275.
- 1066 Sinha, A., Singh, N., Gupta, A., Bhargava, T., P, C. M., & Kumar, P. (2022). Relationship
1067 Between the Periodontal Status of Pregnant Women and the Incidence and Severity of
1068 Pre-term and/or Low Birth Weight Deliveries: A Retrospective Observational Case-
1069 Control Study. *Cureus*, 14(11), e31735.
- 1070 Slots, J. (2017). Periodontitis: facts, fallacies and the future. *Periodontol 2000*, 75(1), 7-23.
- 1071 Starzynska, A., Wychowanski, P., Nowak, M., Sobocki, B. K., Jereczek-Fossa, B. A., &
1072 Slupecka-Ziemilska, M. (2022). Association between Maternal Periodontitis and
1073 Development of Systematic Diseases in Offspring. *Int J Mol Sci*, 23(5).
- 1074 Stuckhardt, J. L., & Poppe, S. M. (1984). Fresh visceral examination of rat and rabbit fetuses
1075 used in teratogenicity testing. *Teratog Carcinog Mutagen*, 4(2), 181-188.
- 1076 Takeuchi, N., Ekuni, D., Irie, K., Furuta, M., Tomofuji, T., Morita, M., & Watanabe, T. (2013).
1077 Relationship between periodontal inflammation and fetal growth in pregnant women: a
1078 cross-sectional study. *Arch Gynecol Obstet*, 287(5), 951-957.

- 1079 Thomas, C., Timofeeva, I., Bouchoucha, E., Canceill, T., Champion, C., Groussolles, M., . . .
1080 Laurencin-Dalicieux, S. (2023). Oral and periodontal assessment at the first trimester
1081 of pregnancy: The PERISCOPE longitudinal study. *Acta Obstet Gynecol Scand*,
1082 102(6), 669-680.
- 1083 Tonetti, M. S., Greenwell, H., & Kornman, K. S. (2018). Staging and grading of periodontitis:
1084 Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Periodontol*, 89
1085 Suppl 1, S159-S172.
- 1086 Volgyesi, P., Radnai, M., Nemeth, G., Boda, K., Bernad, E., & Novak, T. (2023). Maternal
1087 Periodontal Status as a Factor Influencing Obstetrical Outcomes. *Medicina (Kaunas)*,
1088 59(3).
- 1089 Wang, J., Zhao, Q., Chen, B., Sun, J., Huang, J., Meng, J., . . . Hao, L. (2022). Risk factors for
1090 metabolic bone disease of prematurity: A meta-analysis. *PLoS One*, 17(6), e0269180.
- 1091 Ward, E. J., Bert, S., Fanti, S., Malone, K. M., Maughan, R. T., Gkantsinikoudi, C., . . . Nadkarni,
1092 S. (2023). Placental Inflammation Leads to Abnormal Embryonic Heart Development.
1093 *Circulation*, 147(12), 956-972.
- 1094 Xu, D. X., Chen, Y. H., Wang, H., Zhao, L., Wang, J. P., & Wei, W. (2006). Tumor necrosis
1095 factor alpha partially contributes to lipopolysaccharide-induced intra-uterine fetal
1096 growth restriction and skeletal development retardation in mice. *Toxicol Lett*, 163(1),
1097 20-29.
- 1098 Yang, Y. J., Song, J. H., Yang, J. H., Kim, M. J., Kim, K. Y., Kim, J. K., . . . Lee, H. J. (2023).
1099 Anti-Periodontitis Effects of Dendropanax morbiferus H.Lev Leaf Extract on Ligature-
1100 Induced Periodontitis in Rats. *Molecules*, 28(2).
- 1101 Zhu, R., Wang, S. C., Sun, C., Tao, Y., Piao, H. L., Wang, X. Q., ... & Li, D. J. (2013).
1102 Hyaluronan-CD44 interaction promotes growth of decidual stromal cells in human first-
1103 trimester pregnancy. *PLoS One*, 8(9), e74812.
- 1104

1105

1106 **ARTIGO 2.**

1107 **Revista:** Birth Defects Research

1108

1109 **Efeitos pós-natal da exposição pré-natal à periodontite em filhotes de ratas Wistar**

1110

1111 Camila Salvador Sestario^{1,2} (camilasestario@hotmail.com)

1112 Eduardo Inocente Jussiani³ (inocente@uel.br)

1113 Avacir Casanova Andreello³ (acandrello@gmail.com)

1114 Caio Cezar Nantes Martins¹ (k-yow@hotmail.com)

1115 Aline Campos Zeffa^{1,2} (alinezeffa@hotmail.com)

1116 Viviane de Fátima Mestre^{1,2} (vivianemestre@yahoo.com.br)

1117 Solange de Paula Ramos⁴ (solangedepaularamos@gmail.com)

1118 Maria José Sparça Salles^{1*} (salmjs00@gmail.com)

1119

1120 ¹ Laboratório de Toxicologia do Desenvolvimento, Departamento de Biologia Geral,
1121 Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil

1122 ² Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina,
1123 Londrina, Paraná, Brasil

1124 ³ Laboratório de Física Nuclear Aplicada, Departamento de Física, Universidade Estadual de
1125 Londrina, Londrina, Paraná, Brasil

1126 ⁴ Laboratório de Regeneração, Adaptação e Reparo Tecidual, Departamento de Histologia,
1127 Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil

1128

1129 *Correspondência:

1130 Maria José Sparça Salles

1131 Universidade Estadual de Londrina - UEL

1132 Departamento de Biologia Geral /Centro de Ciências Biológicas

1133 Rodovia Celso Garcia Cid, Rod. 445, Km 380

1134 Caixa Postal 10.011

1135 CEP 86057-970 - Londrina/PR - Brazil

1136 Fone: +55 43 33714417

1137 E-mail: salmjs00@gmail.com

1138

1139 **Resumo**

1140 A periodontite está associada a complicações como partos prematuros e baixo peso ao
1141 nascer. Neste estudo, foi avaliado o impacto da periodontite experimental na saúde dos
1142 filhotes, abrangendo seu desenvolvimento físico, habilidades motoras, formação dentária e
1143 estrutura óssea maxilar. Ratas Wistar prenhes foram divididas em dois grupos: grupo controle
1144 (C, n=12) e grupo doença periodontal induzida (DPI, n=12). A periodontite foi induzida nos
1145 primeiros molares superiores 14 dias antes do acasalamento. O parto ocorreu ao 21º dia de
1146 gestação, e quatro filhotes de cada ninhada foram avaliados (n total por grupo= 48) por 30
1147 dias para verificar o desenvolvimento físico e reflexológico. As alterações nos primeiros
1148 molares e no tecido ósseo alveolar foram avaliadas em animais de 30 dias usando
1149 microtomografia computadorizada de raio x e análise histopatológica. Diferenças entre fêmeas
1150 prenhes e filhotes dos grupos C e DPI foram determinadas considerando $p < 0,05$. Não houve
1151 diferenças no ganho de peso corporal materno ($p > 0,05$); porém, o grupo DPI apresentou
1152 menor número de filhotes vivos ($9,4 \pm 1,9$) em relação a C ($11,4 \pm 2,1$, $p = 0,03$). Os filhotes do
1153 grupo DPI apresentaram diminuição de peso ($F = 1,17$; $P < 0,0001$), comprimento ($F = 3,47$;
1154 $P < 0,0001$), atraso no crescimento de pelos ($P = 0,01$) e erupção dos dentes incisivos ($0,001$).
1155 Na avaliação do desenvolvimento reflexológico, os filhotes da DPI apresentaram atraso no
1156 endireitamento postural ($P = 0,01$), na marcha adulta ($P = 0,01$) e na geotaxia negativa ($P = 0,01$).
1157 Não foram observadas anomalias de desenvolvimento nos primeiros molares superiores. No
1158 entanto, grupo DPI apresentou diminuição no número de trabéculas ósseas ($P = 0,02$) e
1159 aumento na distância entre as trabéculas ($P = 0,007$). A periodontite durante a gestação
1160 atrasou o desenvolvimento físico e reflexológico durante o pós-natal.

1161

1162

1163 Palavras-chave: Periodontite; Desenvolvimento Fetal; Odontogênese; Transtornos do
1164 Neurodesenvolvimento.

1165

1166 **Introdução**

1167

1168 A periodontite é uma doença inflamatória que afeta os tecidos de suporte dos dentes,
1169 incluindo a gengiva, o osso alveolar e o ligamento periodontal (Slots, 2017; Tonetti et al.,
1170 2018). A doença tem alta prevalência entre gestantes (29,2 a 59,5%), sendo considerada um
1171 dos principais problemas de saúde bucal nesta população (Hong et al., 2023; Schievelbein et
1172 al., 2023; Sinha et al., 2022; Thomas et al., 2023). Os fatores de risco para o desenvolvimento
1173 ou exacerbação da periodontite durante a gestação incluem deficiência nos cuidados de
1174 higiene bucal (Gil-Montoya et al., 2023; Hong et al., 2023; Paglia, 2022), hábitos nutricionais
1175 e obesidade (Gil-Montoya et al., 2023; Hong et al., 2023; Paglia, 2022; Ramirez et al., 2023),
1176 consumo de bebidas alcoólicas (Hong et al., 2023), baixo nível sócio econômico (Wu et al.,
1177 2014), além das alterações hormonais que favorecem o desenvolvimentos de reações
1178 inflamatórias (Ortiz-Sanchez et al., 2021; Robinson et al., 2020; Wu et al., 2016). Além do
1179 impacto negativo sobre a qualidade de vida da gestante (Hong et al., 2023), a periodontite
1180 tem sido associada ao risco de complicações durante a gestação, incluindo aumento de
1181 abortos, prematuridade e baixo peso ao nascimento (Bond et al., 2023; Caneiro et al., 2020;
1182 Machado et al., 2023; Mahapatra et al., 2021; Sinha et al., 2022).

1183 Embora estudos experimentais e epidemiológicos já tenham demonstrado que a
1184 periodontite contribui para o aumento do risco de prematuridade e o baixo peso ao nascer
1185 (Moliner-Sánchez et al., 2020; Padilla-Cáceres et al., 2023), as sequelas pós-natal associadas
1186 diretamente com exposição da mãe à doença ou ao nascimento pré-termo ainda não estão
1187 estabelecidas. A destruição dos tecidos periodontais durante a evolução da periodontite está
1188 associada ao aumento dos níveis locais e sistêmicos de mediadores inflamatórios (Eldzharov
1189 et al., 2021; Esteves-Lima et al., 2020; Fogacci et al., 2016; Mohr et al., 2019) que implicam
1190 nas complicações durante a gestação (Fogacci et al., 2016; Green et al., 2023; Mohr et al.,
1191 2019; Viscardi et al., 2004).

1192 Evidências de estudos experimentais sugerem que a resposta inflamatória sistêmica
1193 durante a gestação, com produção de níveis elevados da citocinas inflamatórias como:
1194 Interleucina-1 β (IL-1 β); Fator de necrose tumoral- α (TNF- α); Interleucina-6 (IL-6) e as
1195 quimiocinas, estão associados ao atraso da diferenciação do trofoblasto, a deficiência na
1196 manutenção da integridade de membrana placentária e da transição da circulação fetal para
1197 neonatal, promovendo hipóxia antes do nascimento e atraso no desenvolvimento intrauterino
1198 e parto prematuro (Abi Nahed et al., 2019; Owen et al., 2023). Entre as sequelas observadas
1199 devido a exposição a mediadores inflamatórios durante a gestação, são observados
1200 alterações do desenvolvimento do sistema cardiovascular (Green et al., 2023), displasia
1201 broncopulmonária (Giambelluca et al., 2021; Rudloff et al., 2017), alterações ósseas (Takeuchi

1202 et al., 2013; Wang et al., 2022), do sistema nervoso e do desenvolvimento motor e cognitivo
1203 (Ayash et al., 2022; Green et al., 2023; Magalhaes et al., 2018; Viscardi et al., 2004). Um
1204 estudo epidemiológico demonstrou que a presença de doença periodontal durante a gestação
1205 induz ao atraso do desenvolvimento do fêmur em recém-nascidos (Takeuchi et al., 2013),
1206 sugerindo que o desenvolvimento ósseo também pode ser prejudicado pela doença
1207 periodontal em gestantes.

1208 Mediadores inflamatórios, como o TNF- α , seus receptores e vias de sinalização estão
1209 envolvidos na diferenciação da lâmina dentária e formação dos germes dentários (Laurikkala
1210 et al., 2001) e na morfogênese dentária (Courtney et al., 2005; Tucker et al., 2000). O aumento
1211 da ativação da via de sinalização do fator nuclear de transcrição kappa B (NFkB), que pode
1212 ser ativada pelo TNF- α , provoca a formação de dentes extranumerários em camundongos
1213 (Blackburn et al., 2015). A ativação de receptores como *toll-like receptor-4* (TLR4) por
1214 produtos microbianos também induz a produção de mediadores inflamatórios e resulta em
1215 defeitos de calcificação em germes dentários de ratos (Papp et al., 2016). Em conjunto, estas
1216 evidências sugerem que um microambiente inflamatório, tal como induzido pela doença
1217 periodontal, pode potencialmente induzir alterações durante a odontogênese que resultam em
1218 anomalias de número e morfologia dentária. No entanto, associação entre a periodontite
1219 durante a gestação e malformações dentárias não foi esclarecida na literatura.

1220 Considerando que a destruição dos tecidos periodontais promove um processo
1221 inflamatório que pode potencialmente alterar o desenvolvimento fetal, os objetivos do presente
1222 estudo são avaliar o efeito da indução de periodontite em ratas prenhes e observar o impacto
1223 da destruição periodontal sobre o desenvolvimento neurológico e odontogênico. A hipótese
1224 de estudo é que a destruição dos tecidos periodontais maternos promova alterações no
1225 desenvolvimento fetal de estruturas de origem ectodérmica e ectomesenquimal da cabeça,
1226 resultando em alterações motoras, comportamentais e de desenvolvimento dos dentes e
1227 tecidos de suporte.

1228

1229

1230 **Materiais e Métodos**

1231

1232 **Animais**

1233

1234 Este estudo foi conduzido de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação
1235 Animal adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA
1236 sob a Lei nº 11.794, de 08/10/2008, e aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação
1237 Animal da Universidade Estadual de Londrina, (UEL), Londrina, Paraná, Brasil (Parecer n.
1238 CEUA -UEL nº17614.2018.59)

1239 Ratas Wistar (n=24) e ratos Wistar (n=2), aproximadamente 250g, foram alojados em
1240 grupos de dois animais, em gaiolas forradas com maravalha, sob condições de iluminação
1241 artificial controlada em um ciclo claro-escuro de 12 horas, a uma temperatura de $22 \pm 2^\circ \text{C}$,
1242 com água e ração normocalórica (Nuvilab, Nuvital, Campo Largo, Brasil) *ad libitum*. Os
1243 animais foram aclimatados ao ambiente de alojamento durante um período de 14 dias antes
1244 do início dos procedimentos experimentais.

1245

1246 **Delineamento experimental**

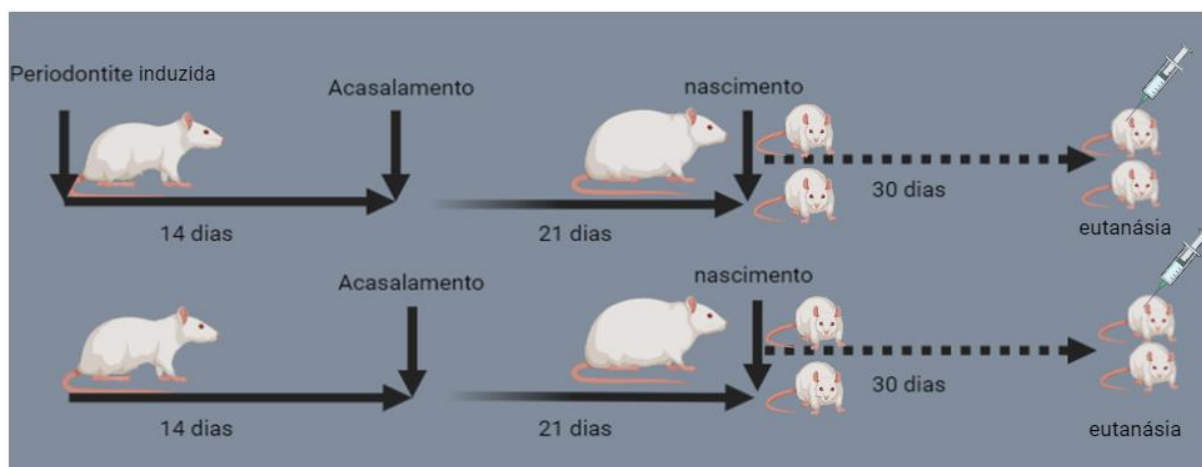
1247

1248 As ratas foram pesadas e distribuídas aleatoriamente em um grupo controle (C, n=12)
1249 e um grupo doença periodontal induzida (DPI, n=12). O grupo DPI foi submetido a indução de
1250 periodontite durante 14 dias, antes do acasalamento (Figura 1) (Sallay et al., 1982).
1251 Considerando que animais expostos a inflamação materna perdem aproximadamente 10% de
1252 função motora nos primeiros 21 dias pós-natal (Jantzie et al., 2014), cerca de 12 filhotes por
1253 grupo foram necessários para a análise de desenvolvimento motor pós-natal atingir 80% de
1254 poder estatístico com um erro tipo I máximo de 5%. Um mínimo de 12 ratas para o grupo P
1255 foi necessário, considerando que aproximadamente 50% das ratas submetidas a indução de
1256 periodontite podem não ficar prenhes após duas tentativas de acasalamento (Fogacci et al.,
1257 2016), e seriam necessários 12 filhotes machos e 12 fêmeas de cada grupo experimental para
1258 análise de desenvolvimento motor.

1259 Ratas identificadas como em estro foram acasaladas na proporção de duas fêmeas para
1260 um macho. A gestação foi confirmada pela presença de espermatozoides no esfregaço
1261 vaginal e considerada o dia zero da gestação (Oyabambi et al., 2021). No 21º dia de gestação,
1262 o parto ocorreu de forma natural (Figura 1).

1263 Quatro animais (dois machos e duas fêmeas) de cada prole dos grupos DPI e C foram
1264 acompanhados diariamente durante 30 dias para avaliação do desenvolvimento,
1265 comportamento motor e odontogênese (Figura 1). Após 30 dias, os animais passaram por

1266 eutanásia para avaliação microtomográfica da região do primeiro molar superior.



1267

1268 **Figura 1. Delineamento experimental.** As ratas do grupo DPI foram submetidas e indução de
 1269 periodontite, 14 dias antes do acasalamento e pareadas por peso as ratas do grupo controle C. Os
 1270 animais prenhes foram acompanhados por 21 dias até o nascimento da prole. Dois filhotes machos e
 1271 dois filhotes fêmeas de cada ninhadas das ratas dos grupos C e DPI foram selecionados aleatoriamente
 1272 e acompanhados durante 30 dias. Após o nascimento foi avaliado o desenvolvimento físico e
 1273 reflexológico. Após 30 dias, os filhotes passaram por eutanásia e o osso alveolar e primeiros molares
 1274 superiores foram avaliados por microtomografia.

1275

1276 **Indução da doença periodontal**

1277

1278 A indução da doença periodontal foi realizada sob anestesia geral, via intramuscular
 1279 com solução de 16 mg/kg de xilazina a 2% cloridrato de sódio (Rompum-Bayer®, São Paulo,
 1280 SP, Brasil) e 40 mg/kg de cloridrato de quetamina (Francotar-Virbac®, Roseira, SP, Brasil).
 1281 Uma ligadura de algodão de fio número 40 (Coats Corrente Ltda., São Paulo, SP, Brasil) foi
 1282 posicionada em torno da região cervical do primeiro molar maxilar de cada rata e firmemente
 1283 amarrado (Kim et al. 2018). A periodontite foi determinada pela destruição do periodonto de
 1284 inserção, formando bolsas infraósseas, durante 14 dias do posicionamento da ligadura (Sallay
 1285 et al., 1982).

1286

1287 **Avaliação da toxicidade materna**

1288

1289 Para avaliação da toxicidade, as fêmeas prenhes foram pesadas a cada três dias
 1290 durante o período gestacional até o dia anterior ao parto (20º dia). Também foram avaliados
 1291 sinais clínicos de toxicidade, tais como piloereção, olhos avermelhados, diarreia, dificuldade
 1292 na coordenação motora e morte.

1293

1294

1295 **Avaliação do desenvolvimento físico pós-natal**

1296

1297 No primeiro dia pós-natal (dia 1), dois filhotes machos e dois filhotes fêmeas de cada
1298 ninhada (n total de 48 animais por grupo) foram selecionados aleatoriamente para avaliação
1299 do desenvolvimento físico pós-natal. Os animais foram medidos e pesados nos dias 1, 7, 14
1300 e 21 pós-natal.

1301 Os filhotes foram observados diariamente para registrar o dia em que ocorreu a
1302 abertura do pavilhão auricular (a partir do Dia 2), medida da distância anogenital (a partir do
1303 dia 2 e no dia 17), crescimento de pelos (começando no dia 4), mamilos evidentes nas fêmeas,
1304 5 pares de glândulas mamárias (a partir da 1^o semana), desdobramento de orelhas
1305 (começando no dia 10), abertura dos olhos (começando no dia 12), descida dos testículos (a
1306 partir do dia 15) e abertura vaginal (a partir do dia 28) e os aspectos anatômicos foram
1307 observados na busca de possíveis alterações (Sanches et al., 2019).

1308 No desenvolvimento reflexológico foram avaliados o endireitamento postural
1309 (começando no dia 1), preensão palmar (começando no dia 2), geotaxia negativa (começando
1310 no dia 4) e marcha adulta (começando no dia 9) (Kiss et al., 2012; Horvath et al., 2015).

1311 A erupção dos dentes incisivos foi acompanhada do primeiro até o 30^o dia pós-natal.
1312 O Dia 30 foi escolhido por corresponder ao processo final de desenvolvimento radicular e
1313 formação do cimento celular (Kaneko et al., 1999).

1314 No dia 30, oito animais de cada grupo foram selecionados aleatoriamente para análise
1315 do primeiro molar superior direito e osso trabecular adjacente. Os animais passaram por
1316 eutanásia por overdose da associação de 100 mg/kg de cloridrato de quetamina (Francotar-
1317 Virbac®, Roseira, SP, Brasil) e 10 mg/kg de xilazina (Rompum-Bayer®, São Paulo, SP,
1318 Brasil), por via intramuscular, e as maxilas direitas foram dissecadas e colocadas em formol
1319 neutro tamponado a 10% por 24 h e mantidos em álcool 70% até análise por microtomográfica
1320 (Lopes et al., 2021; Cadenas et al., 2022).

1321

1322 **Avaliação da Microtomografia Computadorizada por Raios X**

1323

1324 As medidas de micro-CT foram realizadas com o microtomógrafo SkyScan-Bruker,
1325 modelo 1172 (Bruker BioSpin Corporation, Kontich, Bélgica). A varredura da amostra foi
1326 padronizada usando uma tensão de 44 kV e uma corrente de 226 μ A. A resolução das
1327 imagens obtidas foi de 3 μ m. A reconstrução foi realizada com o programa NRecon (Bruker
1328 BioSpin Corporation, Kontich, Bélgica, versão 1.7.4.2) e as análises quantitativas foram
1329 realizadas com o programa CTan (Bruker BioSpin Corporation, Kontich, Bélgica, versão
1330 1.20.8). As imagens 2D ou 3D foram obtidas usando o *software* DataViewer (Bruker BioSpin

1331 Corporation, Kontich, Bélgica, versão 1.6.0.0) e CTVox (Bruker BioSpin Corporation, Kontich,
1332 Bélgica, versão 3.3.1), respectivamente. Os parâmetros avaliados no primeiro molar superior
1333 direito foram o volume de esmalte (EV, mm³) e volume de dentina (DV, mm³). Para a análise
1334 do osso trabecular adjacente, foram considerados os seguintes parâmetros: volume ósseo
1335 (BV, mm³), superfície óssea (BS, mm²), relação superfície/volume ósseo (BS/BV, mm⁻¹),
1336 volume ósseo-relação tecido (BV/TV, %), número trabecular (Tb.N, mm⁻¹), distância entre
1337 trabéculas (Tb.Sp, mm) e espessura trabecular média (Tb.Th, mm).

1338

1339 **Análise histopatológica**

1340

1341 Após a obtenção das imagens microtomográficas, as amostras foram submetidas a
1342 descalcificação em solução de EDTA 10% em corrente elétrica contínua de 100 mV. Após a
1343 descalcificação, as amostras foram desidratadas, diafanizadas em solução de xileno e
1344 incluídas em parafina histológica. Cortes de 7 µm do longo eixo da coroa dos primeiros
1345 molares superiores, foram submetidos a coloração em hematoxilina-eosina (HE). As lâminas
1346 foram analisadas em microscópio óptico (Motic BA210, Motic Co, Xiamen, China) com
1347 aumento de 40X. Foram identificadas alterações na formação da matriz dentinária, polpa
1348 dentária, cemento radicular, ligamento periodontal e osso alveolar. A avaliação histopatológica
1349 foi realizada por um patologista cego para a alocação dos grupos experimentais.

1350

1351 **Análise estatística**

1352

1353 Os dados referentes a cada análise foram tabulados e posteriormente analisados no
1354 programa *GraphPad Prism 5* (*GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, EUA*). A distribuição de
1355 normalidade dos dados contínuos foram determinadas com o teste de Shapiro-Wilk. Dados
1356 com distribuição normal foram expressos em média e desvio padrão. Para variáveis com
1357 distribuição normal e homogeneidade de variância, a significância das diferenças entre os
1358 grupos foi determinada pelo teste t de Student, ou foi avaliada usando análise de variância de
1359 duas vias (*two-way ANOVA*; fatores: antropometria e tempo) com o teste *post hoc* de
1360 Bonferroni. Os dados que não apresentaram distribuição normal e/ou não apresentaram
1361 homogeneidade de variância foram analisados por meio dos testes não paramétricos de
1362 Mann-Whitney, ou Kruskal-Wallis seguido do teste *post hoc* de Dunn. As variáveis categóricas
1363 foram expressas como número absoluto (n) e percentual (%). O nível de significância adotado
1364 foi de 5%. Para avaliar a força e a direção da relação linear entre duas variáveis contínuas,
1365 foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson, que varia de -1 a 1. Um valor de r=1 indica
1366 uma correlação perfeita positiva, onde à medida que uma variável aumenta, a outra também

1367 aumenta linearmente. O nível de significância adotado foi de 5%.

1368

1369 **Resultados**

1370

1371 **Toxicidade materna**

1372 Durante o período gestacional de ratas do grupo DPI, não foram observados sinais
1373 clínicos de toxicidade, como piloereção, diarreia, anormalidades da coordenação motora e
1374 morte. Não foi observada diferenças no ganho de peso e peso final das fêmeas P em relação
1375 ao grupo C ao final da gestação (Tabela 1). No entanto, ocorreu uma redução do número
1376 de filhotes nascidos vivos no grupo P (Tabela 1).

1377

1378 Tabela 1. Peso final, ganho de peso e número de filhotes nascidos vivos de ratas submetidas
1379 a doença periodontal induzida (DPI) e grupo controle (C) durante a gestação.

Parâmetro	Grupo C (n=12)	Grupo DPI (n= 12)	p
Peso Final (g) ^a	341,0 [326,8 ± 374,8]	318,5[302,3 ± 359,0]	0,15
Ganho de peso (g) ^b	105,3± 24,4	105,9 ± 41,5	0,96
Filhotes vivos por ninhada ^b	11,4 ± 2,1	9,4 ± 1,9*	0,03

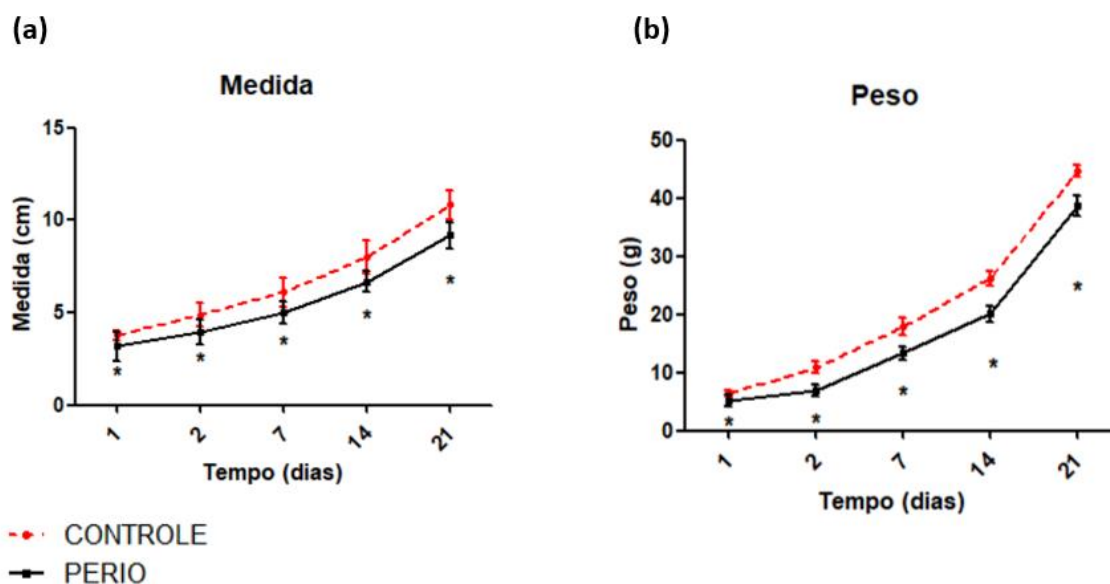
1380 ^a Mediana e intervalo interquartil de 25 a 75% Teste de Mann-Whitney.^b Média ± desvio padrão Teste T de
1381 Student. *P<0,05.

1382

1383 **Desenvolvimento Pós-Natal**

1384

1385 Os filhotes do grupo DPI apresentaram redução no comprimento ($F=3,47$; $P<0,0001$)
 1386 e ganho de peso ($F= 1,17$; $P<0,0001$) comparado aos filhotes do grupo C (Figura 2).



1387

1388 Figura 2. Comprimento corporal (a) e ganho de peso (b) da prole de ratas fêmeas do Dia 1 ao Dia 21
 1389 dos grupos C e P. Os dados representam a média \pm D.P de 48 filhotes de cada grupo. Dia pós-natal
 1390 (Dia); Grupo de Controle (C); Grupo Doença Periodontal Induzida (DPI).

1391

1392 O animais do grupo DPI apresentaram atrasos no crescimento dos pelos, erupção dos
 1393 incisivos, endireitamento postural, marcha adulta e geotaxia negativa (Tabela 2 e 3).

1394

Tabela 2. Marcadores físicos pós-natal em filhotes de ratas com doença periodontal induzida (DPI) e grupo controle (C) durante a gestação.

Filhotes	C (n=48)	DPI (n=48)	p
Marcadores físicos			
Abertura do pavilhão auditivo (dia) ^a	11,31 ± 0,46	11,50 ± 0,50	0,06
Crescimento de pelos (dia) ^a	4,35 ± 0,48	4,60 ± 0,49*	0,01
Desdobramento de orelhas (dia) ^a	2,25 ± 0,43	2,37 ± 0,48	0,19
Abertura dos olhos (dia) ^a	12,04 ± 0,20	12,21 ± 0,54	0,07
Erupção dos incisivos (dia) ^a	7,35 ± 0,52	8,08 ± 0,98*	0,001
Descida dos testículos (dia) ^a	15,6 ± 0,71	15,8 ± 0,76	0,38
Abertura vaginal (dia) ^a	28,6 ± 0,71	28,9 ± 0,65	0,24
Mamilos evidentes fêmeas (dia) ^a	8,04 ± 0,80	8,45 ± 0,65	0,06
Distância anogenital machos (dia 2) ^a	0,13 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,24
Distância anogenital machos (dia 17) ^a	4,65 ± 0,42	4,68 ± 0,41	0,87
Distância anogenital fêmeas (dia 2) ^a	0,50 ± 0,02	0,49 ± 0,02	0,91
Distância anogenital fêmeas (dia 17) ^a	14,4 ± 0,05	14,3 ± 0,05	0,55

1395 Dados expressos como médias ± desvio padrão. Teste de Mann-Whitney U^a. * P<0,05

1396

1397 Tabela 3. Marcadores reflexológicos pós-natal em filhotes de ratas com doença periodontal
1398 induzida (DPI) e grupo controle (C) durante a gestação.

Filhotes	C (n=48)	DPI (n=48)	p
Marcadores Reflexológicos			
Endireitamento postural (dia) ^a	1,06 ± 0,24	1,41 ± 0,87*	0,01
Marcha adulta (dia) ^a	10,54 ± 0,50	10,98 ± 0,88*	0,01
Reflexo palmar (dia) ^b	2,00 [2,00 ± 2,00]	2,00 [2,00 ± 2,00]	0,07
Geotaxia negativa (dia) ^a	4,25 ± 0,52	4,79 ± 1,11*	0,01

1399 Dados expressos como médias ± desvio padrão. Teste de Mann-Whitney U^a e Wilcoxon^b. * P<0,05

1400

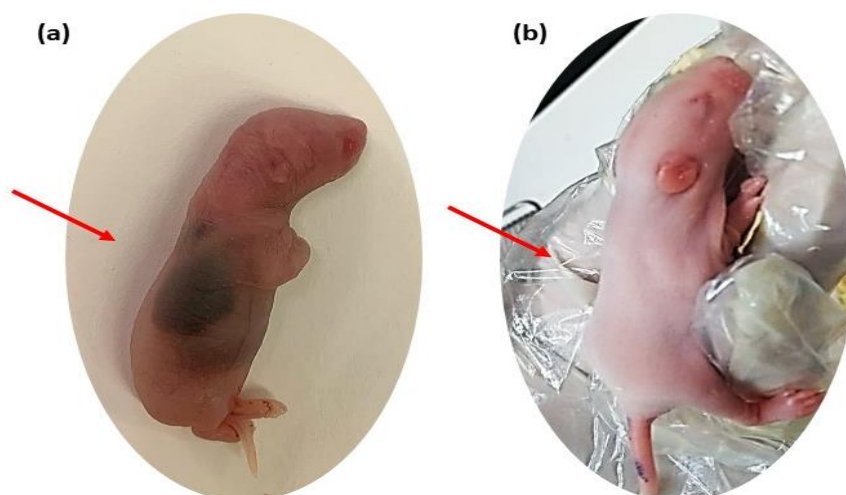
1401 Não houve diferença entre as distâncias anogenitais dos filhotes machos no dia 2 [C
1402 (0,13 ± 0,01); DPI (0,12 ± 0,01) p= 0,24, n= 24] nem no dia 17 [C (4,65 ± 0,42); DPI (4,68 ±
1403 0,41) p= 0,87, n= 24], bem como não houve nos filhotes fêmeas no dia 2 [C (0,50 ± 0,02); DPI
1404 (0,49 ± 0,02) p=0,91, n= 24] ou no dia 17 [C (14,4 ± 0,05); DPI (14,3 ± 0,05) p=0,55, n= 24].

1405

1406 A partir da avaliação diária dos aspectos anatômicos dos filhotes, foram identificados

1407 hematomas hemorrágicos em 16 filhotes (33,3%) do grupo DPI, no dia 1, estando ausentes
1408 nos animais do grupo C (Figura 3). As lesões desapareceram após 10 dias em todos os
1409 animais.

1410



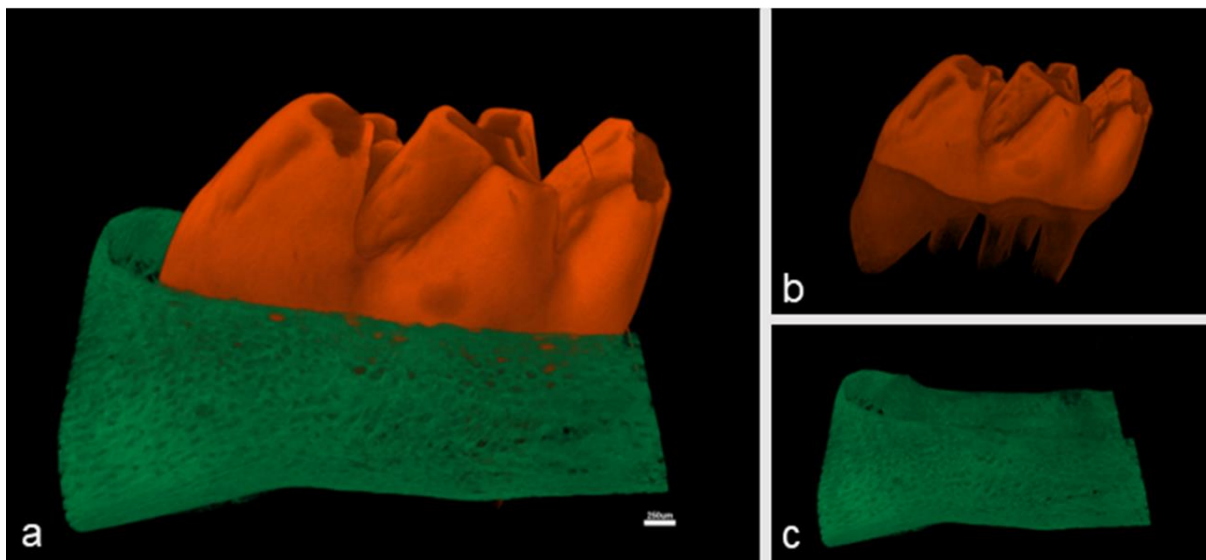
1411 Figura 3. A seta indica lesão hemorrágica no dia do nascimento de animal do grupo DPI (a), e completo
1412 desaparecimento após 10 dias (b) seta indica.
1413 Legenda: Grupo doença periodontal induzida (DPI).

1414 **Avaliação da Microtomografia Computadorizada por Raios X**

1415

1416 As regiões de interesse do esmalte (vermelho bright), dentina (vermelho dark) e do
1417 osso trabecular (verde) para análise por micro-CT são mostradas na Figura 4.

1418



1419 Figura 4. Imagens de micro-CT reconstruídas. Região de interesse (ROI) indicada pela imagem
1420 representada pelo dente em vermelho inserido no osso alveolar em verde (a). Área do dente
1421 representado em vermelho sem o osso (b). Osso alveolar indicado em verde sem o dente (c).

1422

1423 Não foram observadas alterações qualitativas, volumétricas quantitativas e de
1424 superfície do dente e tecido ósseo do grupo DPI quando comparado ao grupo C (Tabela 4).

1425

1426 Tabela 4. Análise microtomográfica do primeiro molar superior direito e osso alveolar de
 1427 filhotes de ratos aos 30 dias pós-nascimento de fêmeas com doença periodontal induzida
 1428 (DPI) e controle (C).

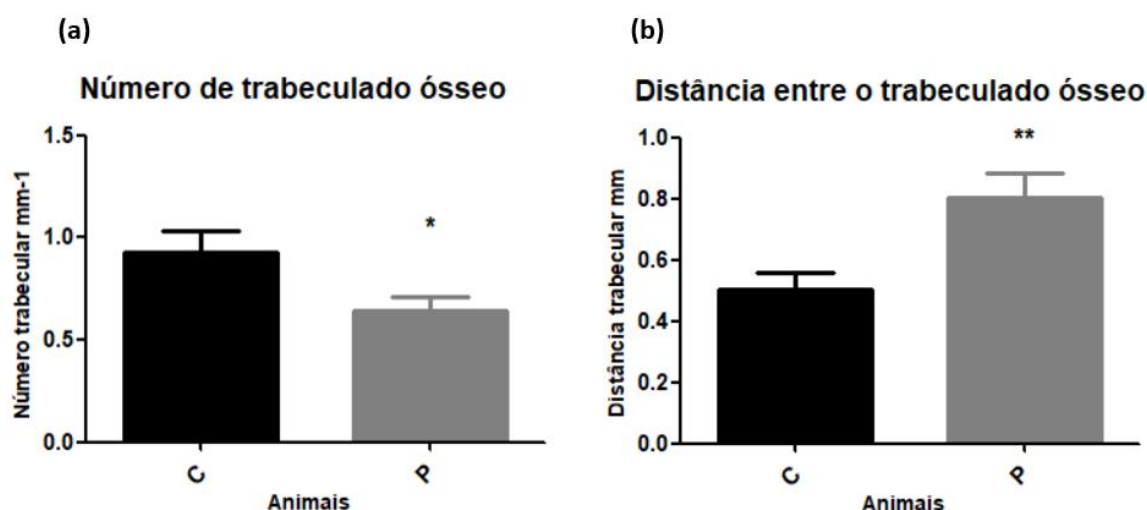
Filhotes	C (n=8)	DPI (n=8)	p
Análise dentária			
Volume de esmalte (mm ³)	1,35 ± 0,10	1,24 ± 0,25	0,13
Volume de dentina (mm ³)	2,44 ± 1,35	2,02 ± 1,29	0,59
Superfície dentária (mm ²)	87,89 ± 22,91	77,99 ± 16,29	0,40
Análise óssea			
Volume ósseo (mm ³)	3,89 ± 0,92	4,36 ± 0,90	0,28
Superfície óssea (mm ²)	173,1 ± 52,27	173,8 ± 37,2	0,97
Relação superfície/volume ósseo	44,9 ± 10,3	39,9 ± 2,82	0,44
% BV/TV	50,8 ± 9,58	39,9 ± 2,82	0,09
Espessura trabecular (mm ⁻¹)	0,84 ± 0,33	0,70 ± 0,36	0,34

1429 Dados expressos como médias ± desvio padrão. Teste t de Student * P<0,05.

1430 Legenda: (% BV/TV) volume ósseo-relação tecido.

1431

1432 No entanto, em relação à qualidade óssea, o grupo DPI apresentou redução no número
 1433 de trabéculas e aumento da distância entre as trabéculas sugerindo a presença de um osso
 1434 mais poroso em relação ao grupo controle (Figura 5)



1435 Figura 5. Número de trabéculas (a) (P= 0,02) e da (b) distância entre trabéculas do osso alveolar
 1436 (P= 0,007) de filhotes de ratos com 30 dias de idade, nascidos de ratas com periodontite induzida
 1437 (DPI) e sem periodontite (C). Dados expressos em média ± desvio padrão. Teste t de Student.
 1438 Teste Mann-Whitney U.* P<0,05

1439

1440

1441

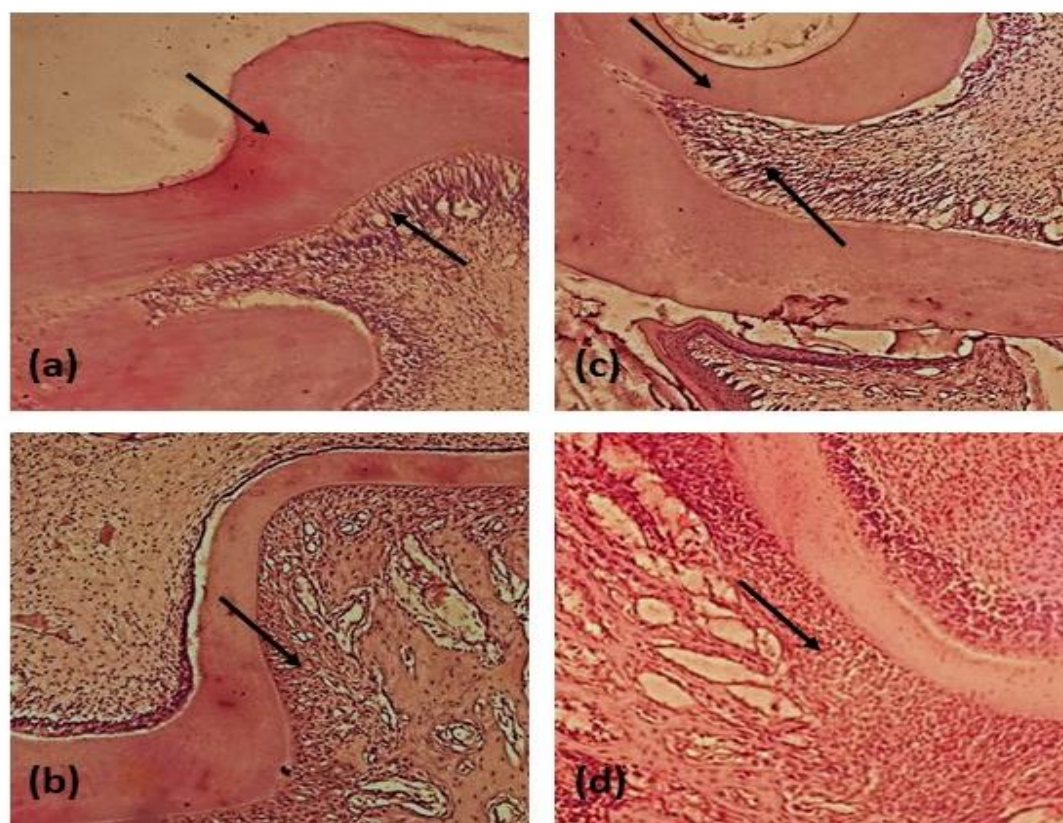
1442

1443 **Análise Histopatológica**

1444

1445 A análise histopatológica demonstrou ausência de alterações de formação da matriz
 1446 orgânica de dentina, da camada odontoblástica ou do tecido pulpar (Figura 6). O ligamento
 1447 periodontal, cemento celular e acelular também não apresentaram alterações de formação.

1448

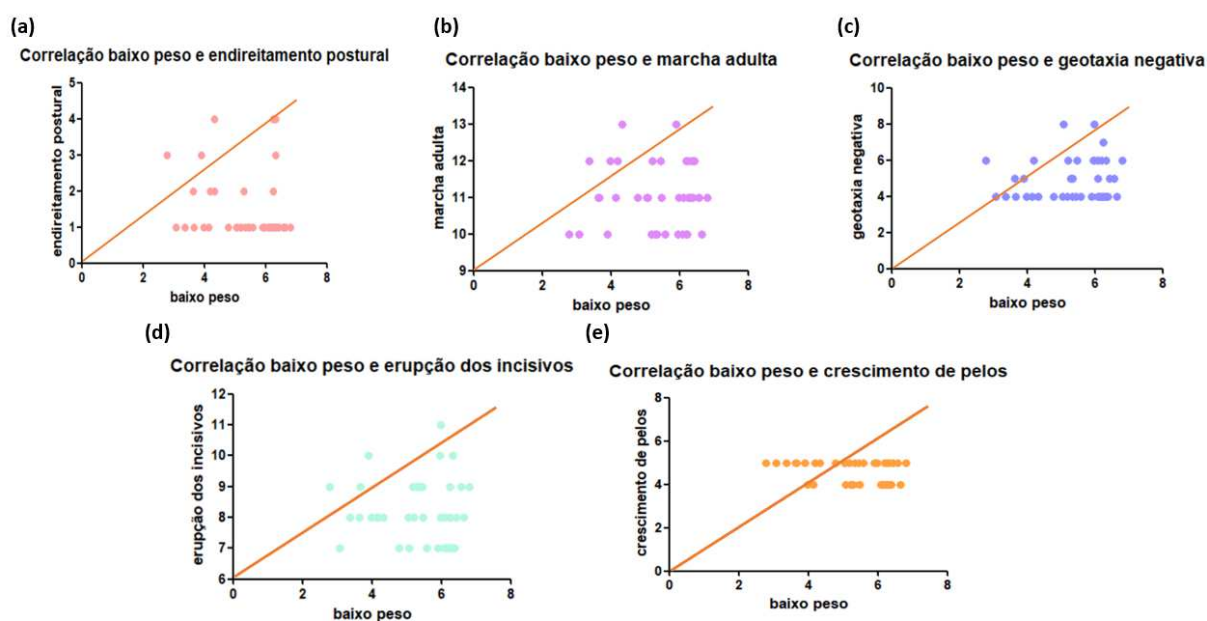


1449 Figura 6. Análise histopatológica dos tecidos dentários e periodontais de ratos de 30 dias
 1450 nascidos de fêmeas normais (a,b) e com periodontite (c,d). (a,c) as setas indicam áreas
 1451 de organização normal de dentina e camada odontoblástica. (b, d) Organização de densos
 1452 feixes de fibras do ligamento periodontal. Hematoxilina e eosina, médio aumento de 40x.
 1453

1454 **Correlação do baixo peso nos filhotes do grupo DPI com os marcadores físicos e** 1455 **reflexológicos**

1456 Para verificar se o baixo peso influenciou as alterações significantes dos marcadores
 1457 físicos e reflexológicos no grupo DPI, foi realizado o teste de correlação de Pearson.
 1458 Observou-se que o baixo peso não teve correlação com: o endireitamento postural ($P= 0,183$;
 1459 $r= 0,038$), marcha adulta ($P= 0,541$; $r= 0,008$), geotaxia negativa ($P= 0,704$; $r= 0,003$), erupção
 1460 dos incisivos ($P= 0,442$; $r= 0,12$) ou com o crescimento de pelos ($P= 0,071$; $r= 0,078$).

1461



1462

1463 Figura 7. Correlação do baixo peso nos filhotes do grupo DPI com os marcadores físicos: (a)
 1464 endireitamento postural (b) marcha adulta e reflexológicos: (c) geotaxia negativa (d) erupção dos
 1465 incisivos e (e) crescimento de pelos. Os dados representam a correlação linear de Pearson.
 1466 Legenda: Doença Periodontal Induzida (DPI).
 1467

1468

1469 Discussão

1470

1471 Os resultados deste estudo demonstraram que as ratas com DPI apresentaram
 1472 redução do número de filhotes vivos, e seus filhotes apresentaram hematomas ao nascimento,
 1473 atrasos no desenvolvimento reflexológico, na erupção dentária e no desenvolvimento dos
 1474 pelos, e pior qualidade óssea periodontal. Estes achados demonstram que além de aumentar
 1475 os riscos de complicações perinatais, a periodontite materna também produz alterações de
 1476 desenvolvimento das estruturas de origem ectodérmicas e ectomesenquimais (tecido
 1477 nervoso, pele, dentes e periodonto). Em sujeitos com prematuridade e peso muito baixo ao
 1478 nascer, podem ser observadas alterações no desenvolvimento de estruturas da pele, como
 1479 as impressões palmares e digitais (Vilahur et al., 2012), sugerindo que ocorra
 1480 comprometimento do desenvolvimento de estruturas de origem ectodérmica nestes pacientes.
 1481 O atraso do desenvolvimento de pelagem e testes motores nos animais do presente estudo,
 1482 sugerem comprometimento do desenvolvimento dos anexos epidérmicos e sistema nervoso.
 1483 Porém, não pode ser descartada a hipótese que o estresse causado pelo desenvolvimento da
 1484 doença periodontal ou o parto prematuro e de baixo peso ao nascer possam também ter algum
 1485 impacto direto ou indireto sobre o desenvolvimento destas estruturas. Estudos em ratas
 1486 prenhes submetidas a estresse demonstram um aumento do número de animais nascidos

1487 pré-termo, com baixo peso para idade gestacional e que apresentam atraso na erupção
1488 dentária, do crescimento dos pelos e de desenvolvimento motor (Lozano et al., 2021).

1489 A DPI provocou uma alteração no número de fetos vivos por ninhada, um dos
1490 parâmetros reprodutivos analisados nas ratas deste estudo. Isso sugere que, mesmo em um
1491 período relativamente mais curto (14 dias em comparação aos 45 dias do estudo anterior), a
1492 doença foi capaz de impactar a capacidade reprodutiva quando realizada em animais.
1493 (Fogacci et al., 2016). A indução da periodontite por si só parece não causar sinais clínicos
1494 de estresse e toxicidade nas fêmeas (Galvao et al., 2003); porém, o número e o peso dos
1495 animais nascidos vivos foi significativamente menor, como já reportado na literatura (Fogacci
1496 et al., 2016).

1497 A relação entre a periodontite e complicações durante a gestação é amplamente
1498 investigada na literatura (Bond et al., 2023; Machado et al., 2023; Mahapatra et al., 2021). Os
1499 mecanismos que causam o aumento de risco de complicações parecem estar associados ao
1500 aumento dos níveis de mediadores inflamatórios sistêmicos, já demonstrados em estudos
1501 epidemiológicos e experimentais em animais (Abi Nahed et al., 2019; Green et al., 2023;
1502 Takeuchi et al., 2013; Viscardi et al., 2004). Os mesmos mediadores inflamatórios são
1503 responsáveis por alterar o desenvolvimento do sistema nervoso, cardiovascular e tecido
1504 ósseo (Ayash et al., 2022; Jantzie et al., 2014; Owen et al., 2023; Takeuchi et al., 2013;
1505 Viscardi et al., 2004); porém, a relação com a doença periodontal na gestação é pouco
1506 esclarecida.

1507 Com a perturbação no desenvolvimento do sistema nervoso, os atrasos reflexológicos
1508 no endireitamento postural, na marcha adulta e na resposta à geotaxia negativa podem ser
1509 atribuídos a alterações epigenéticas, especialmente na metilação do DNA, mais precisamente
1510 nas histonas de acetiltransferases presentes na doença periodontal (Liaw et al., 2022). Os
1511 resultados de Jabari et al., (2022) indicam que a metilação do DNA e o perfil de número de
1512 cópias estão clinicamente ligados à polimicrogria, uma forma grave de epilepsia intratável.
1513 Esses marcadores foram correlacionados a episódios convulsivos nos primeiros meses de
1514 vida e a um significativo atraso no desenvolvimento.

1515 Alterações vasculares que provocam sangramentos espontâneos têm sido reportadas
1516 em crianças nascidas pré-termo de mães expostas a condições inflamatórias durante a
1517 gestação (Garg et al., 2023; Hanke et al., 2023; Jiangxue et al., 2023). A presença da doença
1518 periodontal é capaz de induzir a produção de mediadores inflamatórios sistêmicos que
1519 provocam alterações vasculares, incluindo vasodilatação e aumento da permeabilidade
1520 capilar (Eldzharov et al., 2021). Portanto, a presença de doença periodontal nas ratas prenhes
1521 neste estudo, parece ter induzido alterações vasculares na prole que resultaram na formação
1522 de extensas áreas de hematomas hemorrágicos nos recém-nascidos.

1523 O atraso na erupção de dentes decíduos é observado em crianças nascidas
1524 prematuras, ou nascidas a termo com baixo peso (Devraj et al., 2023; Pavicin et al., 2016;
1525 Wang et al., 2019), mesmo após ajuste do peso e idade gestacional (Devraj et al., 2023;
1526 Pavicin et al., 2016). Os resultados do presente estudo estão em acordo com os achados
1527 destes estudos epidemiológicos e sugerem que, além de ser um fator de risco de
1528 complicações gestacionais, a doença periodontal também pode promover, de forma indireta,
1529 alterações na cronologia de erupção dentária. Porém, apesar do atraso na erupção dentária,
1530 não ocorreram alterações de desenvolvimento em local, número e forma dos dentes
1531 avaliados, conforme demonstrado por microtomográfica e análise histológica.

1532 Alterações do desenvolvimento do esmalte não foram observadas em crianças
1533 brasileiras nascidas pré-termo (Costa et al., 2023). No entanto, outras evidências
1534 epidemiológicas sugerem que crianças com peso muito baixo ao nascer e prematuras
1535 apresentam maior risco de desenvolvimento de defeitos de formação de esmalte (Ilczuk-
1536 Rypula et al., 2022; Noor Mohamed et al., 2021; Xu et al., 2022). Os resultados do presente
1537 estudo, não mostrou alterações de volume em esmalte ou dentina, sugerindo que embora a
1538 periodontite tenha contribuído para redução do peso dos recém-natos e atraso no seu
1539 desenvolvimento físico e reflexológico, não provocou alterações teratogênicas sobre os
1540 tecidos dentários em desenvolvimento. No entanto, cautela deve ser empregada ao avaliar
1541 estes resultados, em contraponto aos estudos epidemiológicos. Nos estudos epidemiológicos
1542 foram observados nascidos em prematuridade (Ilczuk-Rypula et al., 2022; Noor Mohamed et
1543 al., 2021; Xu et al., 2022), enquanto os animais deste estudo nasceram a termo. Além disso,
1544 os estudos que determinaram a presença de defeitos de formação do esmalte não avaliaram
1545 a presença de doença periodontal nas mães, e outros fatores associados a gestação (como
1546 o estado nutricional e doenças infecciosas) que podem também ter contribuído para a
1547 prematuridade e baixo peso, aumentando o risco de malformações dentárias (Costa et al.,
1548 2023; Ilczuk-Rypula et al., 2022; Noor Mohamed et al., 2021).

1549 O trabeculado ósseo de filhotes do grupo DPI apresentou menor número de trabéculas
1550 e maior distância entre essas trabéculas, sugerindo pior qualidade e volume de massa óssea.
1551 A prematuridade e baixo peso ao nascer estão associados a alta prevalência de doença
1552 metabólica do tecido ósseo em crianças (Perrone et al., 2022). A doença é caracterizada pela
1553 redução do volume e qualidade da massa óssea, ou seja, altera o mesênquima tecidual ósseo
1554 (Perrone et al., 2022; Wang et al., 2022). Estas alterações ósseas causam efeitos a longo
1555 prazo, uma vez que indivíduos nascidos pré-termo ou com muito baixo peso ao nascer
1556 apresentam alterações ósseas caracterizadas por baixo pico de massa óssea e reduzida
1557 densidade mineral óssea até a fase adulta (Balasuriya et al., 2017). Fatores como deficiências
1558 na absorção de cálcio e fosfato no último trimestre de gestação devido a prematuridade,

1559 alterações nutricionais da mãe e retardo do desenvolvimento intrauterino estão associadas a
1560 doença metabólica do osso em prematuros, mas os mecanismos etiopatogênicos não estão
1561 completamente estabelecidos (Wang et al., 2022). Os achados desta pesquisa indicam que a
1562 presença de doença periodontal induzida em ratas pode desencadear alterações ósseas
1563 condizentes com a osteopenia associada à doença metabólica do tecido ósseo em crianças.
1564 É plausível sugerir que esse fenômeno seja resultado direto da resposta inflamatória
1565 decorrente da destruição periodontal ou um efeito indireto relacionado ao atraso no
1566 desenvolvimento da prole.

1567 Embora haja evidências de que o baixo peso em crianças esteja associado a
1568 malformações dentárias na região do esmalte (Bensi et al., 2020), uma maior incidência de
1569 malformações renais (Kawasaki et al., 2020), hemorragias intraventriculares (Hirata et al.,
1570 2020), e até mesmo ao atraso no desenvolvimento de habilidades motoras grossas, cognitivas
1571 e habilidades de comunicação receptiva e expressiva (Liu et al., 2021), o presente estudo
1572 revelou que o baixo peso não apresentou correlação com o atraso nos marcadores físicos de
1573 crescimento, como pelos e erupção dos incisivos, ou nos marcadores reflexológicos de
1574 endireitamento postural, marcha adulta e geotaxia negativa. Essa constatação sugere que
1575 essas alterações são variáveis independentes do baixo peso e podem ter uma correlação
1576 mais direta com a doença periodontal induzida.

1577 Este estudo possui limitações quanto a impossibilidade de realizar análises da
1578 microbiota periodontal das ratas e sua relação com as alterações encontradas.

1579 Os resultados do estudo ressaltam a importância de intervenções precoces e
1580 abrangentes para prevenir e tratar a periodontite, especialmente em mulheres no período
1581 fértil. No entanto, é necessário enfatizar a necessidade de mais pesquisas para entender
1582 completamente a complexa interação entre a periodontite e o desenvolvimento pós-natal.
1583 Estudos adicionais podem ajudar a identificar fatores de risco específicos e mecanismos
1584 subjacentes que permitirão abordagens terapêuticas mais precisas e eficazes.

1585

1586 **Conclusão**

1587

1588 Os achados deste estudo demonstram que a periodontite pode promover um atraso
1589 do desenvolvimento físico e reflexológico durante o pós-natal. A alteração na erupção dos
1590 incisivos sugere que a doença periodontal pode influenciar o crescimento e a cronologia de
1591 erupção dos dentes decíduos. Além disso, a análise da microarquitetura do osso trabecular
1592 da maxila revela uma associação entre periodontite e alterações estruturais do osso, o que
1593 pode ter implicações na estabilidade e na saúde geral óssea e do sistema estomatognático.
1594 Ao investigar a relação entre o baixo peso ao nascimento e os marcadores físicos e

1595 reflexológicos do grupo DPI, constatou-se que tais alterações eram independentes do baixo
1596 peso, estando mais diretamente associadas à presença da DPI.

1597

1598 **Agradecimentos**

1599

1600 Os autores agradecem o suporte financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de
1601 Pessoal de Nível Superior – Brasil, para desenvolvimento do estudo por meio da concessão
1602 de bolsa de estudo.

1603

1604

1605 **Referências**

1606

1607 Abi Nahed, R., Reynaud, D., Borg, A. J., Traboulsi, W., Wetzel, A., Sapin, V., Brouillet, S.,
 1608 Dieudonné, M. N., Dakouane-Giudicelli, M., Benharouga, M., Murthi, P., & Alfaidy, N.
 1609 (2019). NLRP7 is increased in human idiopathic fetal growth restriction and plays a
 1610 critical role in trophoblast differentiation. *Journal of molecular medicine (Berlin,*
 1611 *Germany)*, 97(3), 355–367. <https://doi.org/10.1007/s00109-018-01737-x>

1612 Ayash, T. A., Vancolen, S. Y., Segura, M., Allard, M. J., & Sebire, G. (2022). Protective Effects
 1613 of Interleukin-1 Blockade on Group B Streptococcus-Induced Chorioamnionitis and
 1614 Subsequent Neurobehavioral Impairments of the Offspring. *Frontiers in endocrinology*,
 1615 13, 833121. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.833121>

1616 Balasuriya, C. N. D., Evensen, K. A. I., Mosti, M. P., Brubakk, A. M., Jacobsen, G. W.,
 1617 Indredavik, M. S., Schei, B., Stunes, A. K., & Syversen, U. (2017). Peak Bone Mass
 1618 and Bone Microarchitecture in Adults Born With Low Birth Weight Preterm or at Term:
 1619 A Cohort Study. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 102(7), 2491–
 1620 2500. <https://doi.org/10.1210/jc.2016-3827>

1621 Bensi, C., Costacurta, M., Belli, S., Paradiso, D., & Docimo, R. (2020). Relationship between
 1622 preterm birth and developmental defects of enamel: A systematic review and meta-
 1623 analysis. *International journal of paediatric dentistry*, 30(6), 676–686.
 1624 <https://doi.org/10.1111/ipd.12646>

1625 Blackburn, J., Kawasaki, K., Porntaveetus, T., Kawasaki, M., Otsuka-Tanaka, Y., Miake, Y.,
 1626 Ota, M. S., Watanabe, M., Hishinuma, M., Nomoto, T., Oommen, S., Ghafoor, S.,
 1627 Harada, F., Nozawa-Inoue, K., Maeda, T., Peterková, R., Lesot, H., Inoue, J., Akiyama,
 1628 T., Schmidt-Ullrich, R., ... Ohazama, A. (2015). Excess NF-κB induces ectopic
 1629 odontogenesis in embryonic incisor epithelium. *Journal of dental research*, 94(1), 121–
 1630 128. <https://doi.org/10.1177/0022034514556707>

1631 Bond, J. C., Wise, L. A., Fox, M. P., Garcia, R. I., Murray, E. J., White, K. O., Rothman, K. J.,
 1632 Hatch, E. E., & Heaton, B. (2023). Preconception Periodontitis and Risk of
 1633 Spontaneous Abortion in a Prospective Cohort Study. *American journal of*
 1634 *epidemiology*, 192(9), 1509–1521. <https://doi.org/10.1093/aje/kwad142>

1635 Cadenas de Llano-Pérula, M., Zong, C., Van Dessel, J., Kuijpers-Jagtman, A. M., & Willems,
 1636 G. (2022). 3D quantification of in vivo orthodontic tooth movement in rats by means of
 1637 micro-computed tomography. *Clinical oral investigations*, 26(5), 3911–3920.
 1638 <https://doi.org/10.1007/s00784-021-04358-w>

1639 Caneiro, L., Lopez-Carral, J. M., Martin-Lancharro, P., Linares, A., Batalla, P., & Blanco-
 1640 Carrion, J. (2020). Periodontitis as a Preterm Birth Risk Factor in Caucasian Women:
 1641 A Cohort Study. *Oral health & preventive dentistry*, 18(1), 77–84.
 1642 https://doi.org/10.3290/j_ohpd.a44116

1643 Costa, E. M., Pinho, J. R. O., Saraiva, M. D. C. P., Ribeiro, C. C. C., Batista, R. F. L., Coêlho
 1644 Alves, C. M., Simões, V. M. F., Bettiol, H., Barbieri, M. A., de Carvalho Cavalli, R., &
 1645 Thomaz, E. B. A. F. (2023). RANTES and developmental defects of enamel in children:
 1646 A Brazilian prenatal cohort (BRISA). *PloS one*, 18(7), e0284606.
 1647 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0284606>

1648 Courtney, J. M., Blackburn, J., & Sharpe, P. T. (2005). The Ectodysplasin and NFκappaB
 1649 signalling pathways in odontogenesis. *Archives of oral biology*, 50(2), 159–163.
 1650 <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2004.11.019>

1651 Devraj, I. M., Nandlal, B., Narayanappa, D., Deshmukh, S., & Dhull, K. S. (2023). Effect of
 1652 Neonatal Factors on the Eruption of Primary Teeth in Children: A Longitudinal
 1653 Prospective Cohort Study. *International journal of clinical pediatric dentistry*, 16(2),
 1654 321–326. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-2518>

1655 Eldzharov, A., Kabaloeva, D., Nemeryuk, D., Goncharenko, A., Gatsalova, A., Ivanova, E.,
 1656 Kostritskiy, I., Carrouel, F., & Bourgeois, D. (2021). Evaluation of Microcirculation,
 1657 Cytokine Profile, and Local Antioxidant Protection Indices in Periodontal Health, and
 1658 Stage II, Stage III Periodontitis. *Journal of clinical medicine*, 10(6), 1262.

- 1659 <https://doi.org/10.3390/jcm10061262>
- 1660 Esteves-Lima, R. P., Reis, C. S., Santirocchi-Júnior, F., Abreu, L. G., & Costa, F. O. (2020).
 1661 Association between periodontitis and serum c-reactive protein levels. *Journal of*
 1662 *clinical and experimental dentistry*, 12(9), e838–e843.
 1663 <https://doi.org/10.4317/jced.57041>
- 1664 Fogacci, M. F., Barbirato, D.daS., Amaral, C.daS., da Silva, P. G., Coelho, M.deO., Bertozi,
 1665 G., de Carvalho, D. P., & Leão, A. T. (2016). No association between periodontitis,
 1666 preterm birth, or intrauterine growth restriction: experimental study in Wistar rats.
 1667 *American journal of obstetrics and gynecology*, 214(6), 749.e1–749.e11.
 1668 <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.12.008>
- 1669 Galvão, M. P., Rösing, C. K., & Ferreira, M. B. (2003). Effects of ligature-induced periodontitis
 1670 in pregnant Wistar rats. *Pesquisa odontologica brasileira = Brazilian oral research*,
 1671 17(1), 51–55. <https://doi.org/10.1590/s1517-74912003000100010>
- 1672 Garg, P. M., Denton, M. X., Talluri, R., Ostrander, M. M., Middleton, C., Sonani, H., Varshney,
 1673 N., & Hillegass, W. B. (2023). Clinical determinants and impact of hemorrhagic lesions
 1674 on intestinal pathology in preterm infants with surgical necrotizing enterocolitis. *Journal*
 1675 *of neonatal-perinatal medicine*, 16(1), 119–128. <https://doi.org/10.3233/NPM-221116>
- 1676 Giambelluca, S., Verlato, G., Simonato, M., Vedovelli, L., Bonadies, L., Najdekr, L., Dunn, W.
 1677 B., Carnielli, V. P., & Cogo, P. (2021). Chorioamnionitis alters lung surfactant lipidome
 1678 in newborns with respiratory distress syndrome. *Pediatric research*, 90(5), 1039–1043.
 1679 <https://doi.org/10.1038/s41390-021-01371-3>
- 1680 Gil-Montoya, J. A., Rivero-Blanco, T., Leon-Rios, X., Exposito-Ruiz, M., Pérez-Castillo, I., &
 1681 Aguilar-Cordero, M. J. (2023). Oral and general health conditions involved in
 1682 periodontal status during pregnancy: a prospective cohort study. *Archives of*
 1683 *gynecology and obstetrics*, 308(6), 1765–1773. [https://doi.org/10.1007/s00404-022-](https://doi.org/10.1007/s00404-022-06843-3)
 1684 [06843-3](https://doi.org/10.1007/s00404-022-06843-3)
- 1685 Green, E. A., Garrick, S. P., Peterson, B., Berger, P. J., Galinsky, R., Hunt, R. W., Cho, S. X.,
 1686 Bourke, J. E., Nold, M. F., & Nold-Petry, C. A. (2023). The Role of the Interleukin-1
 1687 Family in Complications of Prematurity. *International journal of molecular sciences*,
 1688 24(3), 2795. <https://doi.org/10.3390/ijms24032795>
- 1689 Hanke, K., Fortmann, I., Humberg, A., Faust, K., Kribs, A., Prager, S., Felderhoff-Müser, U.,
 1690 Krüger, M., Heckmann, M., Jäger, A., Andres, O., Spiegler, J., Härtel, C., Herting, E.,
 1691 & Göpel, W. (2023). Indomethacin Prophylaxis Is Associated with Reduced Risk of
 1692 Intraventricular Hemorrhage in Extremely Preterm Infants Born in the Context of
 1693 Amniotic Infection Syndrome. *Neonatology*, 120(3), 334–343.
 1694 <https://doi.org/10.1159/000529140>
- 1695 Hirata, K., Kimura, T., Hirano, S., Wada, K., Kusuda, S., Fujimura, M., & Neonatal Research
 1696 Network of Japan (2021). Outcomes of outborn very-low-birth-weight infants in Japan.
 1697 *Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition*, 106(2), 131–136.
 1698 <https://doi.org/10.1136/archdischild-2019-318594>
- 1699 Hong, H. H., Chen, Y. H., Cheng, P. J., Chang, M. Y., & Chuang, L. L. (2023). Risk factors
 1700 associated with periodontal disease and its impact on quality of life among pregnant
 1701 women. *Journal of obstetrics and gynaecology : the journal of the Institute of Obstetrics*
 1702 *and Gynaecology*, 43(2), 2264382. <https://doi.org/10.1080/01443615.2023.2264382>
- 1703 Horvath, G., Reglódi, D., Farkas, J., Vadasz, G., Mammel, B., Kvarik, T., Bodzai, G., Kiss-Illes,
 1704 B., Farkas, D., Matkovits, A., Manavalan, S., Gaszner, B., Tamas, A., & Kiss, P. (2015).
 1705 Perinatal positive and negative influences on the early neurobehavioral reflex and
 1706 motor development. *Advances in neurobiology*, 10, 149–167.
 1707 https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1372-5_8
- 1708 Ilczuk-Rypuła, D., Zalewska, M., Pietraszewska, D., Dybek, A., Nitecka-Buchta, A., & Postek-
 1709 Stefańska, L. (2022). Prevalence and Possible Etiological Factors of Molar-Incisor
 1710 Hypomineralization (MIH) in Population of Silesian Children in Poland: A Pilot
 1711 Retrospective Cohort Study. *International journal of environmental research and public*
 1712 *health*, 19(14), 8697. <https://doi.org/10.3390/ijerph19148697>

- 1713 Jabari, S., Kobow, K., Pieper, T., Hartlieb, T., Kudernatsch, M., Polster, T., Bien, C. G.,
1714 Kalbhenn, T., Simon, M., Hamer, H., Rössler, K., Feucht, M., Mühlebner, A., Najm, I.,
1715 Peixoto-Santos, J. E., Gil-Nagel, A., Delgado, R. T., Aledo-Serrano, A., Hou, Y., Coras,
1716 R., ... Blümcke, I. (2022). DNA methylation-based classification of malformations of
1717 cortical development in the human brain. *Acta neuropathologica*, 143(1), 93–104.
1718 <https://doi.org/10.1007/s00401-021-02386-0>
- 1719 Jantzie, L. L., Corbett, C. J., Berglass, J., Firl, D. J., Flores, J., Mannix, R., & Robinson, S.
1720 (2014). Complex pattern of interaction between in utero hypoxia-ischemia and intra-
1721 amniotic inflammation disrupts brain development and motor function. *Journal of*
1722 *neuroinflammation*, 11, 131. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-11-131>
- 1723 Jiangxue, H., Liling, Y., Fang, X., Shumei, Y., Gengying, L., Xuejun, R., Yao, Y., Chuan, N.,
1724 Jie, Y., & Zhuxiao, R. (2023). Wnt5a-Fit1 activation contributes to preterm altered
1725 cerebral angiogenesis after prenatal inflammation. *Pediatrics and neonatology*, 64(5),
1726 528–537. <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2023.01.002>
- 1727 Kaneko, H., Hashimoto, S., Enokiya, Y., Ogiuchi, H., & Shimono, M. (1999). Cell proliferation
1728 and death of Hertwig's epithelial root sheath in the rat. *Cell and tissue research*, 298(1),
1729 95–103. <https://doi.org/10.1007/s004419900061>
- 1730 Kawasaki, H., Yamada, T., Takahashi, Y., Nakayama, T., Wada, T., Kosugi, S., & Neonatal
1731 Research Network of Japan (2020). Epidemiology of Birth Defects in Very Low Birth
1732 Weight Infants in Japan. *The Journal of pediatrics*, 226, 106–111.e10.
1733 <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2020.07.012>
- 1734 Kiss, A. C., Woodside, B., Felício, L. F., Anselmo-Franci, J., & Damasceno, D. C. (2012).
1735 Impact of maternal mild hyperglycemia on maternal care and offspring development
1736 and behavior of Wistar rats. *Physiology & behavior*, 107(3), 292–300.
1737 <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2012.08.001>
- 1738 Laurikkala, J., Mikkola, M., Mustonen, T., Aberg, T., Koppinen, P., Pispä, J., Nieminen, P.,
1739 Galceran, J., Grosschedl, R., & Thesleff, I. (2001). TNF signaling via the ligand-receptor
1740 pair ectodysplasin and edar controls the function of epithelial signaling centers and is
1741 regulated by Wnt and activin during tooth organogenesis. *Developmental biology*,
1742 229(2), 443–455. <https://doi.org/10.1006/dbio.2000.9955>
- 1743 Liaw, A.; Liu, C.; Ivanovski, S.; Han, P. The Relevance of DNA Methylation and Histone
1744 Modification in Periodontitis: A Scoping Review. *Cells* 2022, 11, 3211.
1745 <https://doi.org/10.3390/cells11203211>
- 1746 Liu, W., Liu, Q., Liu, W., & Qiu, C. (2021). Maternal risk factors and pregnancy complications
1747 associated with low birth weight neonates in preterm birth. *The journal of obstetrics and*
1748 *gynaecology research*, 47(9), 3196–3202. <https://doi.org/10.1111/jog.14830>
- 1749 Lozano, A. F. Q., Moura, M. S., Tavares, B. M., & Kempinas, W. G. (2021). Exposure of
1750 pregnant rats to stress and/or sertraline: Side effects on maternal health and
1751 neurobehavioral development of male offspring. *Life sciences*, 285, 119960.
1752 <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119960>
- 1753 Machado, V., Ferreira, M., Lopes, L., Mendes, J. J., & Botelho, J. (2023). Adverse Pregnancy
1754 Outcomes and Maternal Periodontal Disease: An Overview on Meta-Analytic and
1755 Methodological Quality. *Journal of clinical medicine*, 12(11), 3635.
1756 <https://doi.org/10.3390/jcm12113635>
- 1757 Magalhães, R. C., Pimenta, L. P., Barbosa, I. G., Moreira, J. M., de Barros, J. L. V. M., Teixeira,
1758 A. L., & Simões E Silva, A. C. (2018). Inflammatory molecules and neurotrophic factors
1759 as biomarkers of neuropsychomotor development in preterm neonates: A Systematic
1760 Review. *International journal of developmental neuroscience : the official journal of the*
1761 *International Society for Developmental Neuroscience*, 65, 29–37.
1762 <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2017.10.006>
- 1763 Mahapatra, A., Nayak, R., Satpathy, A., Pati, B. K., Mohanty, R., Mohanty, G., & Beura, R.
1764 (2021). Maternal periodontal status, oral inflammatory load, and systemic inflammation
1765 are associated with low infant birth weight. *Journal of periodontology*, 92(8), 1107–
1766 1116. <https://doi.org/10.1002/JPER.20-0266>

- 1767 Mohr, S., Amylidi-Mohr, S. K., Stadelmann, P., Sculean, A., Persson, R., Eick, S., & Surbek,
1768 D. V. (2019). Systemic Inflammation in Pregnant Women With Periodontitis and
1769 Preterm Prelabor Rupture of Membranes: A Prospective Case-Control Study. *Frontiers*
1770 *in immunology*, 10, 2624. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02624>
- 1771 Moliner-Sánchez, C. A., Iranzo-Cortés, J. E., Almerich-Silla, J. M., Bellot-Arcís, C., Ortolá-
1772 Siscar, J. C., Montiel-Company, J. M., & Almerich-Torres, T. (2020). Effect of per Capita
1773 Income on the Relationship between Periodontal Disease during Pregnancy and the
1774 Risk of Preterm Birth and Low Birth Weight Newborn. *Systematic Review and Meta-
1775 Analysis. International journal of environmental research and public health*, 17(21),
1776 8015. <https://doi.org/10.3390/ijerph17218015>
- 1777 Noor Mohamed, R., Basha, S., Virupaxi, S. G., Idawara Eregowda, N., & Parameshwarappa,
1778 P. (2021). Hypomineralized Primary Teeth in Preterm Low Birth Weight Children and
1779 Its Association with Molar Incisor Hypomineralization-A 3-Year-Prospective Study.
1780 *Children (Basel, Switzerland)*, 8(12), 1111. <https://doi.org/10.3390/children8121111>
- 1781 Ortiz-Sánchez, B. J., Legorreta-Herrera, M., & Rodriguez-Sosa, M. (2021). Influence of
1782 Gestational Hormones on the Bacteria-Induced Cytokine Response in Periodontitis.
1783 *Mediators of inflammation*, 2021, 5834608. <https://doi.org/10.1155/2021/5834608>
- 1784 Owen, J. C., Garrick, S. P., Peterson, B. M., Berger, P. J., Nold, M. F., Sehgal, A., & Nold-
1785 Petry, C. A. (2023). The role of interleukin-1 in perinatal inflammation and its impact on
1786 transitional circulation. *Frontiers in pediatrics*, 11, 1130013.
1787 <https://doi.org/10.3389/fped.2023.1130013>
- 1788 Oyabambi, A.O., Michael, O.S., Areola, E.D. et al. Sodium acetate ameliorated systemic and
1789 renal oxidative stress in high-fructose insulin-resistant pregnant Wistar rats. *Naunyn-
1790 Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 394, 1425–1435 (2021).
1791 <https://doi.org/10.1007/s00210-021-02058-6>
- 1792 Padilla-Cáceres, T., Arbildo-Vega, H. I., Caballero-Apaza, L., Cruzado-Oliva, F., Mamani-Cori,
1793 V., Cervantes-Alagón, S., Munayco-Pantoja, E., Panda, S., Vásquez-Rodrigo, H.,
1794 Castro-Mejía, P., & Huaita-Acha, D. (2023). Association between the Risk of Preterm
1795 Birth and Low Birth Weight with Periodontal Disease in Pregnant Women: An Umbrella
1796 Review. *Dentistry journal*, 11(3), 74. <https://doi.org/10.3390/dj11030074>
- 1797 Paglia L. (2022). The first thousand days of mother and child: a lifelong investment in oral
1798 health!. *European journal of paediatric dentistry*, 23(1), 5.
1799 <https://doi.org/10.23804/ejpd.2022.23.01.01>
- 1800 Papp, T., Hollo, K., Meszar-Katona, E., Nagy, Z., Polyak, A., Miko, E., Bai, P., & Felszeghy, S.
1801 (2016). TLR signalling can modify the mineralization of tooth germ. *Acta odontologica
1802 Scandinavica*, 74(4), 307–314. <https://doi.org/10.3109/00016357.2015.1130853>
- 1803 Pavičin, I. S., Dumančić, J., Badel, T., & Vodanović, M. (2016). Timing of emergence of the
1804 first primary tooth in preterm and full-term infants. *Annals of anatomy = Anatomischer
1805 Anzeiger : official organ of the Anatomische Gesellschaft*, 203, 19–23.
1806 <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2015.05.004>
- 1807 Perrone, M., Casirati, A., Stagi, S., Amato, O., Piemontese, P., Liotto, N., Orsi, A., Menis, C.,
1808 Pesenti, N., Tabasso, C., Roggero, P., & Mosca, F. (2022). Don't Forget the Bones:
1809 Incidence and Risk Factors of Metabolic Bone Disease in a Cohort of Preterm Infants.
1810 *International journal of molecular sciences*, 23(18), 10666.
1811 <https://doi.org/10.3390/ijms231810666>
- 1812 Ramírez, V., Weber, L., Hernández, M., Realini, O., Bendek, M. J., Busso, D., Hoare, A.,
1813 Illanes, S. E., & Chaparro, A. (2023). Obesity is related to maternal periodontitis severity
1814 in pregnancy: a cross-sectional study. *Clinical oral investigations*, 27(9), 5509–5518.
1815 <https://doi.org/10.1007/s00784-023-05170-4>
- 1816 Robinson, J. L., Johnson, P. M., Kister, K., Yin, M. T., Chen, J., & Wadhwa, S. (2020). Estrogen
1817 signaling impacts temporomandibular joint and periodontal disease pathology.
1818 *Odontology*, 108(2), 153–165. <https://doi.org/10.1007/s10266-019-00439-1>
- 1819 Rudloff, I., Cho, S. X., Bui, C. B., McLean, C., Veldman, A., Berger, P. J., Nold, M. F., & Nold-
1820 Petry, C. A. (2017). Refining anti-inflammatory therapy strategies for

- 1821 bronchopulmonary dysplasia. *Journal of cellular and molecular medicine*, 21(6), 1128–
1822 1138. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13044>
- 1823 Sallay, K., Sanavi, F., Ring, I., Pham, P., Behling, U. H., & Nowotny, A. (1982). Alveolar bone
1824 destruction in the immunosuppressed rat. *Journal of periodontal research*, 17(3), 263–
1825 274. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1982.tb01153.x>
- 1826 Schievelbein, B. S., Casarin, R. P., da Mota Kruger, M. S., E Silva, C. F., da Silveira, T. M.,
1827 Romano, A. R., Pappen, F. G., & Pola, N. M. (2023). Systemic Profile and Periodontal
1828 Condition of Hospitalized Women with High-Risk Pregnancy: A Cross-Sectional Study.
1829 *Maternal and child health journal*, 27(7), 1264–1271. [https://doi.org/10.1007/s10995-
1830 023-03659-8](https://doi.org/10.1007/s10995-023-03659-8)
- 1831 Sinha, A., Singh, N., Gupta, A., Bhargava, T., P C, M., & Kumar, P. (2022). Relationship
1832 Between the Periodontal Status of Pregnant Women and the Incidence and Severity of
1833 Pre-term and/or Low Birth Weight Deliveries: A Retrospective Observational Case-
1834 Control Study. *Cureus*, 14(11), e31735. <https://doi.org/10.7759/cureus.31735>
- 1835 Slots J. (2017). Periodontitis: facts, fallacies and the future. *Periodontology 2000*, 75(1), 7–23.
1836 <https://doi.org/10.1111/prd.12221>
- 1837 Takeuchi, N., Ekuni, D., Irie, K., Furuta, M., Tomofuji, T., Morita, M., & Watanabe, T. (2013).
1838 Relationship between periodontal inflammation and fetal growth in pregnant women: a
1839 cross-sectional study. *Archives of gynecology and obstetrics*, 287(5), 951–957.
1840 <https://doi.org/10.1007/s00404-012-2660-4>
- 1841 Thomas, C., Timofeeva, I., Bouchoucha, E., Canceill, T., Champion, C., Groussolles, M.,
1842 Arnaud, C., Vayssière, C., Nabet, C., & Laurencin-Dalicioux, S. (2023). Oral and
1843 periodontal assessment at the first trimester of pregnancy: The PERISCOPE
1844 longitudinal study. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*, 102(6), 669–680.
1845 <https://doi.org/10.1111/aogs.14529>
- 1846 Tonetti, M. S., Greenwell, H., & Kornman, K. S. (2018). Staging and grading of periodontitis:
1847 Framework and proposal of a new classification and case definition. *Journal of*
1848 *periodontology*, 89 Suppl 1, S159–S172. <https://doi.org/10.1002/JPER.18-0006>
- 1849 Tucker, A. S., Headon, D. J., Schneider, P., Ferguson, B. M., Overbeek, P., Tschopp, J., &
1850 Sharpe, P. T. (2000). Edar/Eda interactions regulate enamel knot formation in tooth
1851 morphogenesis. *Development (Cambridge, England)*, 127(21), 4691–4700.
1852 <https://doi.org/10.1242/dev.127.21.4691>
- 1853 Vilahur, N., Allin, M. P., Walshe, M., Nosarti, C., Rifkin, L., Murray, R. M., & Rosa, A. (2012).
1854 Ectodermal markers of early developmental impairment in very preterm individuals.
1855 *Psychiatry research*, 200(2-3), 715–718.
1856 <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2012.07.032>
- 1857 Viscardi, R. M., Muhumuza, C. K., Rodriguez, A., Fairchild, K. D., Sun, C. C., Gross, G. W.,
1858 Campbell, A. B., Wilson, P. D., Hester, L., & Hasday, J. D. (2004). Inflammatory
1859 markers in intrauterine and fetal blood and cerebrospinal fluid compartments are
1860 associated with adverse pulmonary and neurologic outcomes in preterm infants.
1861 *Pediatric research*, 55(6), 1009–1017.
1862 <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000127015.60185.8a>
- 1863 Wang, J., Zhao, Q., Chen, B., Sun, J., Huang, J., Meng, J., Li, S., Yan, W., Ren, C., & Hao, L.
1864 (2022). Risk factors for metabolic bone disease of prematurity: A meta-analysis. *PloS*
1865 *one*, 17(6), e0269180. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0269180>
- 1866 Wang, X. Z., Sun, X. Y., Quan, J. K., Zhang, C. Y., Zhao, M., Shi, X. R., Si, Y., & Zheng, S. G.
1867 (2019). Effects of Premature Delivery and Birth Weight on Eruption Pattern of Primary
1868 Dentition among Beijing Children. *The Chinese journal of dental research*, 22(2), 131–
1869 137. <https://doi.org/10.3290/j.cjdr.a42517>
- 1870 Wu, M., Chen, S. W., Su, W. L., Zhu, H. Y., Ouyang, S. Y., Cao, Y. T., & Jiang, S. Y. (2016).
1871 Sex Hormones Enhance Gingival Inflammation without Affecting IL-1 β and TNF- α in
1872 Periodontally Healthy Women during Pregnancy. *Mediators of inflammation*, 2016,
1873 4897890. <https://doi.org/10.1155/2016/4897890>
- 1874 Wu, Y. M., Ren, F., Chen, L. L., Sun, W. L., Liu, J., Lei, L. H., Zhang, J., & Cao, Z. (2014).

- 1875 Possible socioeconomic and oral hygiene behavioural risk factors for self-reported
1876 periodontal diseases in women of childbearing age in a Chinese population. *Oral health*
1877 *& preventive dentistry*, 12(2), 171–181. <https://doi.org/10.3290/j.ohpd.a31671>
1878 Xu, S., Zhao, C., Jia, L., Ma, Z., Zhang, X., & Shi, H. (2022). Relationship between preterm,
1879 low birth weight, and development defects of enamel in the primary dentition: A meta-
1880 analysis. *Frontiers in pediatrics*, 10, 975340. <https://doi.org/10.3389/fped.2022.975340>
1881
1882

1883 **5 CONCLUSÕES**

1884 Ao avaliar os efeitos da DPI sobre o desenvolvimento intrauterino de
1885 ratas Wistar, as possíveis malformações congênitas na prole e as alterações sobre o
1886 desenvolvimento pós-natal, odontogênese e osso trabecular da mandíbula, foi possível
1887 constatar que:

1888
1889 O desenvolvimento intrauterino da prole de ratas fêmeas expostas à DPI
1890 durante a gestação foi afetado pelas reabsorções que diminuiram a viabilidade fetal e
1891 diminuiram o número de fetos vivos por ninhada;

1892
1893 A DPI induzida previamente a gestação causou malformações esqueléticas
1894 dos ossos do esterno, alterou a formação das costelas e causou hematomas hemorrágicos
1895 nos fetos;

1896
1897 A DPI causou atraso na cronologia da erupção dos dentes incisivos da prole
1898 de ratas expostas durante a gestação;

1899
1900 O desenvolvimento físico e reflexológico da prole de ratas fêmeas expostas
1901 à DPI durante a gestação foi comprometido;

1902
1903 Não houve alterações nos processos de amelogênese e dentinogênese
1904 avaliado histologicamente, porém houve alteração no desenvolvimento ósseo trabeculado
1905 adjacente ao PMSD com aumento entre os espaços trabeculares e diminuição do número
1906 trabecular.

1907
1908 Ao correlacionar o baixo peso ao nascimento com marcadores físicos e
1909 reflexológicos do grupo DPI, observou-se que essas alterações eram independentes do baixo
1910 peso, tendo ligação com a DPI.

1911

1912 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

1913

1914 A destruição dos tecidos periodontais, mesmo em fases iniciais de
1915 destruição óssea e na ausência de periodontopatógenos é capaz de induzir complicações na
1916 gestação com risco de abortos e retardo no desenvolvimento intrauterino dos fetos. Além
1917 disso, a periodontite induz malformações do tecido ósseo e hemorragias e hematomas nos
1918 fetos. A periodontite materna também é capaz de provocar alterações do desenvolvimento
1919 físico e reflexológico no período pós-natal que incluem atraso do desenvolvimento motor, dos
1920 pelos, além de atraso na erupção dentária e osteopenia do osso alveolar. Em conjunto, os
1921 dados sugerem que a destruição dos tecidos periodontais é um fator de risco para
1922 complicações gestacionais e promove alterações de desenvolvimento intrauterino e pós-natal.

1923 Considerando as evidências experimentais de que a periodontite, mesmo
1924 em estágio inicial, tem potencial de provocar complicações gestacionais e de desenvolvimento
1925 da prole, é necessária a intervenção multiprofissional, incluindo cuidados de prevenção e
1926 tratamento da doença periodontal em mulheres em idade reprodutiva. Além disso, é
1927 necessária a avaliação epidemiológica e atenção dos profissionais de saúde sobre as
1928 possíveis alterações de desenvolvimento e teratogênias que podem potencialmente se
1929 desenvolver em crianças nascidas de mães periodontopatas.

1930

1931

1932

1933

1934

1935

1936

1937

1938

REFERÊNCIAS

- 1939 ABI NAHED, R. et al. NLRP7 is increased in human idiopathic fetal growth restriction and
 1940 plays a critical role in trophoblast differentiation. **Journal of Molecular Medicine**, v. 97, n. 3,
 1941 p. 355–367, mar. 2019.
- 1942
- 1943 AKCALI, A.; LANG, N. P. Dental calculus: the calcified biofilm and its role in disease
 1944 development. **Periodontology 2000**, v. 76, n. 1, p. 109–115, fev. 2018.
- 1945 ALBANDAR, J. M. Epidemiology and Risk Factors of Periodontal Diseases. **Dental Clinics**
 1946 **of North America**, v. 49, n. 3, p. 517–532, jul. 2005.
- 1947
- 1948 ALDERMAN, B. W. et al. Maternal Physical Activity in Pregnancy and Infant Size for
 1949 Gestational Age. **Annals of Epidemiology**, v. 8, n. 8, p. 513–519, nov. 1998.
- 1950
- 1951 ALJEHANI, Y. A. Risk Factors of Periodontal Disease: Review of the Literature.
 1952 **International Journal of Dentistry**, v. 2014, p. 1–9, 2014.
- 1953
- 1954 AL-RAFEE, M. The epidemiology of edentulism and the associated factors: A literature
 1955 Review. **Journal of Family Medicine and Primary Care**, v. 9, n. 4, p. 1841, 2020.
- 1956
- 1957 AYASH, T. A. et al. Protective Effects of Interleukin-1 Blockade on Group B Streptococcus-
 1958 Induced Chorioamnionitis and Subsequent Neurobehavioral Impairments of the Offspring.
 1959 **Frontiers in Endocrinology**, v. 13, p. 833121, 1 jul. 2022.
- 1960
- 1961 BALASURIYA, C. N. D. et al. Peak Bone Mass and Bone Microarchitecture in Adults Born
 1962 With Low Birth Weight Preterm or at Term: A Cohort Study. **The Journal of Clinical**
 1963 **Endocrinology & Metabolism**, v. 102, n. 7, p. 2491–2500, 1 jul. 2017.
- 1964
- 1965 BARROW, M. V.; TAYLOR, W. J. A rapid method for detecting malformations in rat fetuses.
 1966 **Journal of Morphology**, v. 127, n. 3, p. 291–305, mar. 1969.
- 1967
- 1968 BARTOLD, P. M.; VAN DYKE, T. E. An appraisal of the role of specific bacteria in the initial
 1969 pathogenesis of periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 46, n. 1, p. 6–11, jan.
 1970 2019.
- 1971
- 1972 BENSI, Caterina et al. Relationship between preterm birth and developmental defects of
 1973 enamel: A systematic review and meta-analysis. **International Journal of Paediatric**
 1974 **Dentistry**, v. 30, n. 6, p. 676-686, 2020.
- 1975
- 1976 BLACKBURN, J. et al. Excess NF-κB Induces Ectopic Odontogenesis in Embryonic Incisor
 1977 Epithelium. **Journal of Dental Research**, v. 94, n. 1, p. 121–128, jan. 2015.
- 1978
- 1979 BOBETSIS, Y. A. et al. Periodontal disease and adverse pregnancy outcomes.
 1980 **Periodontology 2000**, v. 83, n. 1, p. 154–174, jun. 2020.
- 1981
- 1982 BOND, J. C. et al. Preconception Periodontitis and Risk of Spontaneous Abortion in a
 1983 Prospective Cohort Study. **American Journal of Epidemiology**, v. 192, n. 9, p. 1509–1521,
 1984 1 set. 2023.
- 1985
- 1986 CADENAS DE LLANO-PÉRULA, Maria et al. 3D quantification of in vivo orthodontic tooth
 1987 movement in rats by means of micro-computed tomography. **Clinical oral investigations**, v.
 1988 26, n. 5, p. 3911-3920, 2022.
- 1989

- 1990 CANEIRO-QUEIJA, L. et al. Non-Surgical Treatment of Periodontal Disease in a Pregnant
1991 Caucasian Women Population: Adverse Pregnancy Outcomes of a Randomized Clinical
1992 Trial. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 19, p.
1993 3638, 27 set. 2019.
- 1994
1995 CARVAJAL, P. et al. Periodontal disease and its impact on general health in Latin America.
1996 Section II: Introduction part II. **Brazilian Oral Research**, v. 34, n. suppl 1, p. e023, 2020.
- 1997
1998 CHEN, P.; HONG, F.; YU, X. Prevalence of periodontal disease in pregnancy: A systematic
1999 review and meta-analysis. **Journal of Dentistry**, v. 125, p. 104253, out. 2022.
- 2000
2001 CHOI, S. E. et al. Association between maternal periodontal disease and adverse pregnancy
2002 outcomes: an analysis of claims data. **Family Practice**, p. cmab037, 26 jun. 2021.
- 2003
2004 CHOPRA, A.; RADHAKRISHNAN, R.; SHARMA, M. *Porphyromonas gingivalis* and adverse
2005 pregnancy outcomes: a review on its intricate pathogenic mechanisms. **Critical Reviews in**
2006 **Microbiology**, v. 46, n. 2, p. 213–236, 3 mar. 2020.
- 2007
2008 COLLINS, J. G. et al. Effects of Escherichia coli and Porphyromonas gingivalis
2009 lipopolysaccharide on pregnancy outcome in the golden hamster. **Infection and Immunity**,
2010 v. 62, n. 10, p. 4652–4655, out. 1994.
- 2011
2012 CONAWAY, C. H. Embryo Resorption and Placental Scar Formation in the Rat. **Journal of**
2013 **Mammalogy**, v. 36, n. 4, p. 516, nov. 1955.
- 2014
2015 COSTA, E. M. et al. RANTES and developmental defects of enamel in children: A Brazilian
2016 prenatal cohort (BRISA). **PLOS ONE**, v. 18, n. 7, p. e0284606, 27 jul. 2023.
- 2017
2018 COSTA, G. D. A. et al. Investigation of possible teratogenic effects in the offspring of mice
2019 exposed to methylphenidate during pregnancy. **Reproductive BioMedicine Online**, v. 32, n.
2020 2, p. 170–177, fev. 2016.
- 2021
2022 COURTNEY, J.-M.; BLACKBURN, J.; SHARPE, P. T. The Ectodysplasin and NFκB
2023 signalling pathways in odontogenesis. **Archives of Oral Biology**, v. 50, n. 2, p. 159–163,
2024 fev. 2005.
- 2025
2026 DARBY, I. Risk factors for periodontitis & peri-implantitis. **Periodontology 2000**, v. 90, n. 1,
2027 p. 9–12, out. 2022.
- 2028
2029 DE MELLO-NETO, J. M. et al. Higher expression of Th1/Th2-related cytokines in the
2030 intestine of Wistar rats with ligature-induced periodontitis. **Journal of Periodontal**
2031 **Research**, v. 58, n. 3, p. 588–595, jun. 2023.
- 2032
2033 DE PABLO, P. et al. Periodontitis in systemic rheumatic diseases. **Nature Reviews**
2034 **Rheumatology**, v. 5, n. 4, p. 218–224, abr. 2009.
- 2035
2036 DHULL, K. S. et al. Effect of Neonatal Factors on the Eruption of Primary Teeth in Children:
2037 A Longitudinal Prospective Cohort Study. **International Journal of Clinical Pediatric**
2038 **Dentistry**, v. 16, n. 2, p. 321–326, 12 maio 2023.
- 2039
2040 DYE, B. A. The Global Burden of Oral Disease: Research and Public Health Significance.
2041 **Journal of Dental Research**, v. 96, n. 4, p. 361–363, abr. 2017.
- 2042

- 2043 ELDZHAROV, A. et al. Evaluation of Microcirculation, Cytokine Profile, and Local Antioxidant
2044 Protection Indices in Periodontal Health, and Stage II, Stage III Periodontitis. **Journal of**
2045 **Clinical Medicine**, v. 10, n. 6, p. 1262, 18 mar. 2021.
2046
- 2047 ERCHICK, D. J. et al. Oral hygiene, prevalence of gingivitis, and associated risk factors
2048 among pregnant women in Sarlahi District, Nepal. **BMC Oral Health**, v. 19, n. 1, p. 2, dez.
2049 2019.
2050
- 2051 ERIKSEN, E. F. et al. Evidence of Estrogen Receptors in Normal Human Osteoblast-Like
2052 Cells. **Science**, v. 241, n. 4861, p. 84–86, jul. 1988.
2053
- 2054 ESTEVES-LIMA, R. et al. Association between periodontitis and serum c-reactive protein
2055 levels. **Journal of Clinical and Experimental Dentistry**, p. e838–e843, 2020.
2056
- 2057 FASOULAKIS, Z. et al. Inflammatory Molecules Responsible for Length Shortening and
2058 Preterm Birth. **Cells**, v. 12, n. 2, p. 209, 4 jan. 2023.
2059
- 2060 FIGUERO, E.; HAN, Y. W.; FURUICHI, Y. Periodontal diseases and adverse pregnancy
2061 outcomes: Mechanisms. **Periodontology 2000**, v. 83, n. 1, p. 175–188, jun. 2020.
2062
- 2063 FOGACCI, M. F. et al. No association between periodontitis, preterm birth, or intrauterine
2064 growth restriction: experimental study in Wistar rats. **American Journal of Obstetrics and**
2065 **Gynecology**, v. 214, n. 6, p. 749.e1-749.e11, jun. 2016.
2066
- 2067 GALVÃO, M. P. D. A.; RÖSING, C. K.; FERREIRA, M. B. C. Effects of ligature-induced
2068 periodontitis in pregnant Wistar rats. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, v. 17, n. 1, p. 51–
2069 55, mar. 2003.
2070
- 2071 GARDE, S. et al. Periodontal Therapy for Improving Lipid Profiles in Patients with Type 2
2072 Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis. **International Journal of**
2073 **Molecular Sciences**, v. 20, n. 15, p. 3826, 5 ago. 2019.
2074
- 2075 GARE, J. et al. Periodontal Conditions and Pathogens Associated with Pre-Eclampsia: A
2076 Scoping Review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v.
2077 18, n. 13, p. 7194, 5 jul. 2021.
2078
- 2079 GARG, P. M. et al. Clinical determinants and impact of hemorrhagic lesions on intestinal
2080 pathology in preterm infants with surgical necrotizing enterocolitis. **Journal of Neonatal-**
2081 **Perinatal Medicine**, v. 16, n. 1, p. 119–128, 28 mar. 2023.
2082
- 2083 GEORGE, A. et al. Periodontal treatment during pregnancy and birth outcomes: a meta-
2084 analysis of randomised trials. **International Journal of Evidence-Based Healthcare**, v. 9, n.
2085 2, p. 122–147, jun. 2011.
2086
- 2087 GIAMBELLUCA, S. et al. Chorioamnionitis alters lung surfactant lipidome in newborns with
2088 respiratory distress syndrome. **Pediatric Research**, v. 90, n. 5, p. 1039–1043, nov. 2021.
2089
- 2090 GIAMBRONE, A. B. et al. Perinatal Micro-Bleeds and Neuroinflammation in E19 Rat Fetuses
2091 Exposed to Utero-Placental Ischemia. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20,
2092 n. 16, p. 4051, 20 ago. 2019.
2093
- 2094 GIL-MONTOYA, J. A. et al. Oral and general health conditions involved in periodontal status
2095 during pregnancy: a prospective cohort study. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, v.
2096 308, n. 6, p. 1765–1773, 13 dez. 2022.

- 2097 GONZÁLEZ-JARANAY, M. et al. Periodontal status during pregnancy and postpartum.
2098 **PLOS ONE**, v. 12, n. 5, p. e0178234, 19 maio 2017.
2099
- 2100 GOPINATH, D. et al. Periodontal Diseases as Putative Risk Factors for Head and Neck
2101 Cancer: Systematic Review and Meta-Analysis. **Cancers**, v. 12, n. 7, p. 1893, 14 jul. 2020.
2102
- 2103 GREEN, E. A. et al. The Role of the Interleukin-1 Family in Complications of Prematurity.
2104 **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 3, p. 2795, 1 fev. 2023.
2105
- 2106 GREEN, E. A. et al. The Role of the Interleukin-1 Family in Complications of Prematurity.
2107 **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 3, p. 2795, 1 fev. 2023c.
2108
- 2109 GÜNCÜ, G.; TÖZÜM, T.; ÇAGLAYAN, F. Effects of endogenous sex hormones on the
2110 periodontium — Review of literature. **Australian Dental Journal**, v. 50, n. 3, p. 138–145,
2111 set. 2005.
2112
- 2113 GYLLENHAMMER, L. E. et al. Prospective association of maternal immune pro-inflammatory
2114 responsivity and regulation in pregnancy with length of gestation. **American Journal of**
2115 **Reproductive Immunology**, v. 85, n. 5, p. e13366, maio 2021.
2116
- 2117 HAJISHENGALLIS, G.; CHAVAKIS, T. Local and systemic mechanisms linking periodontal
2118 disease and inflammatory comorbidities. **Nature Reviews Immunology**, v. 21, n. 7, p. 426–
2119 440, jul. 2021.
2120
- 2121 HALLIKAINEN, Joonas et al. Periodontitis and gingival bleeding associate with intracranial
2122 aneurysms and risk of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. **Neurosurgical Review**, v. 43,
2123 p. 669-679, 2020.
2124
- 2125 HANKE, K. et al. Indomethacin Prophylaxis Is Associated with Reduced Risk of
2126 Intraventricular Hemorrhage in Extremely Preterm Infants Born in the Context of Amniotic
2127 Infection Syndrome. **Neonatology**, v. 120, n. 3, p. 334–343, 2023.
2128
- 2129 HIRATA, Katsuya et al. Outcomes of outborn very-low-birth-weight infants in Japan.
2130 **Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal** Edition, 2020.
2131
- 2132 HONG, H.-H. et al. Risk factors associated with periodontal disease and its impact on quality
2133 of life among pregnant women. **Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 43, n. 2, p.
2134 2264382, 8 dez. 2023.
2135
- 2136 HONG, Y. M.; CHO, D. H.; KIM, J. K. Developmental outcomes of very low birth weight
2137 infants with catch-up head growth: a nationwide cohort study. **BMC Pediatrics**, v. 23, n. 1, p.
2138 392, 8 ago. 2023.
2139
- 2140 HORVATH, G. et al. Perinatal Positive and Negative Influences on the Early Neurobehavioral
2141 Reflex and Motor Development. Em: ANTONELLI, M. C. (Ed.). **Perinatal Programming of**
2142 **Neurodevelopment**. New York, NY: Springer New York, 2015. v. 10p. 149–167.
2143
- 2144 HUANG, J. et al. Risk factors for periventricular-intraventricular haemorrhage severity in
2145 preterm infants: a propensity score-matched analysis. **BMC Pediatrics**, v. 23, n. 1, p. 341, 5
2146 jul. 2023.
2147
- 2148 HUSSEIN, H. A. et al. Protective effect of quercetin on fetal development and congenital
2149 skeletal anomalies against exposure of pregnant Wistar rats to crude oil vapor. **Birth**
2150 **Defects Research**, v. 115, n. 17, p. 1619–1629, 15 out. 2023.

- 2151 IHEOZOR-EJIOFOR, Z. et al. Treating periodontal disease for preventing adverse birth
2152 outcomes in pregnant women. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 2017, n. 6,
2153 12 jun. 2017.
- 2154
2155 ILCZUK-RYPUŁA, D. et al. Prevalence and Possible Etiological Factors of Molar-Incisor
2156 Hypomineralization (MIH) in Population of Silesian Children in Poland: A Pilot Retrospective
2157 Cohort Study. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19,
2158 n. 14, p. 8697, 17 jul. 2022.
- 2159
2160 ISKUSNYKH, I. Y.; CHIZHIKOV, V. V. Cerebellar development after preterm birth. **Frontiers**
2161 **in Cell and Developmental Biology**, v. 10, p. 1068288, 29 nov. 2022.
- 2162
2163 JABARI, S. et al. DNA methylation-based classification of malformations of cortical
2164 development in the human brain. **Acta Neuropathologica**, v. 143, n. 1, p. 93–104, jan.
2165 2022.
- 2166
2167 JAJOO, N. S. et al. Association of periodontitis with pre term low birth weight – A review.
2168 **Placenta**, v. 95, p. 62–68, jun. 2020.
- 2169
2170 JANAKIRAM, C.; DYE, B. A. A public health approach for prevention of periodontal disease.
2171 **Periodontology 2000**, v. 84, n. 1, p. 202–214, out. 2020.
- 2172
2173 JANTZIE, L. L. et al. Complex pattern of interaction between in uterohypoxia-ischemia and
2174 intra-amniotic inflammation disrupts brain development and motor function. **Journal of**
2175 **Neuroinflammation**, v. 11, n. 1, p. 131, dez. 2014.
- 2176
2177 JIANGXUE, H. et al. Wnt5a-Flt1 activation contributes to preterm altered cerebral
2178 angiogenesis after prenatal inflammation. **Pediatrics & Neonatology**, v. 64, n. 5, p. 528–
2179 537, set. 2023.
- 2180
2181 JUNG, E. et al. The fetal inflammatory response syndrome: the origins of a concept,
2182 pathophysiology, diagnosis, and obstetrical implications. **Seminars in Fetal and Neonatal**
2183 **Medicine**, v. 25, n. 4, p. 101146, ago. 2020.
- 2184
2185 KALHAN, A. C. et al. Periodontal disease and systemic health: An update for medical
2186 practitioners. **Annals of the Academy of Medicine, Singapore**, v. 51, n. 9, p. 567–574, 26
2187 set. 2022.
- 2188
2189 KALISH, B. T. et al. Maternal immune activation in mice disrupts proteostasis in the fetal
2190 brain. **Nature Neuroscience**, v. 24, n. 2, p. 204–213, fev. 2021.
- 2191
2192 KANEKO, H. et al. Cell proliferation and death of Hertwig's epithelial root sheath in the rat.
2193 **Cell and Tissue Research**, v. 298, n. 1, p. 95–103, 20 set. 1999.
- 2194
2195 KASHETTY, M. et al. Oral hygiene status, gingival status, periodontal status, and treatment
2196 needs among pregnant and nonpregnant women: A comparative study. **Journal of Indian**
2197 **Society of Periodontology**, v. 22, n. 2, p. 164, 2018.
- 2198
2199 KASSEBAUM, N. J. et al. Global Burden of Severe Periodontitis in 1990-2010: A Systematic
2200 Review and Meta-regression. **Journal of Dental Research**, v. 93, n. 11, p. 1045–1053, nov.
2201 2014.
- 2202
2203 KASSEBAUM, N. J. et al. Global, Regional, and National Prevalence, Incidence, and
2204 Disability-Adjusted Life Years for Oral Conditions for 195 Countries, 1990–2015: A

- 2205 Systematic Analysis for the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors. **Journal**
2206 **of Dental Research**, v. 96, n. 4, p. 380–387, abr. 2017.
2207
- 2208 KAWASAKI, Hidenori et al. Epidemiology of birth defects in very low birth weight infants in
2209 Japan. **The Journal of Pediatrics**, v. 226, p. 106-111. e10, 2020.
2210
- 2211 KIM, E. H. et al. Periodontal disease and cancer risk: A nationwide population-based cohort
2212 study. **Frontiers in Oncology**, v. 12, p. 901098, 23 ago. 2022.
2213 KIM, N. et al. Association between birth-related factors and periodontitis in women: Korea
2214 National Health and Nutrition Examination Survey 2013–2018. **Journal of Clinical**
2215 **Periodontology**, v. 50, n. 10, p. 1326–1335, out. 2023.
2216
- 2217 KISS, A. C. I. et al. Impact of maternal mild hyperglycemia on maternal care and offspring
2218 development and behavior of Wistar rats. **Physiology & Behavior**, v. 107, n. 3, p. 292–300,
2219 out. 2012.
2220
- 2221 KOCHER, T. et al. Periodontal complications of hyperglycemia/diabetes mellitus:
2222 Epidemiologic complexity and clinical challenge. **Periodontology 2000**, v. 78, n. 1, p. 59–97,
2223 out. 2018.
2224
- 2225 KOMINE-AIZAWA, S.; AIZAWA, S.; HAYAKAWA, S. Periodontal diseases and adverse
2226 pregnancy outcomes. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, v. 45, n. 1, p. 5–
2227 12, jan. 2019.
2228
- 2229 KUMAR, S. Evidence-Based Update on Diagnosis and Management of Gingivitis and
2230 Periodontitis. **Dental Clinics of North America**, v. 63, n. 1, p. 69–81, jan. 2019.
2231 KWON, M. J. et al. Genetic Association between Inflammatory-Related Polymorphism in
2232 STAT3, IL-1 β , IL-6, TNF- α and Idiopathic Recurrent Implantation Failure. **Genes**, v. 14, n. 8,
2233 p. 1588, 5 ago. 2023.
2234
- 2235 LARA, B. et al. *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles shape trophoblast cell
2236 metabolism impairing functions associated to adverse pregnancy outcome. **Journal of**
2237 **Cellular Physiology**, p. jcp.31138, 16 out. 2023.
2238
- 2239 LAURIKKALA, J. et al. TNF Signaling via the Ligand–Receptor Pair Ectodysplasin and Edar
2240 Controls the Function of Epithelial Signaling Centers and Is Regulated by Wnt and Activin
2241 during Tooth Organogenesis. **Developmental Biology**, v. 229, n. 2, p. 443–455, jan. 2001.
2242
- 2243 LAVIGNE, S. E.; FORREST, J. L. An umbrella review of systematic reviews of the evidence
2244 of a causal relationship between periodontal disease and cardiovascular diseases: Position
2245 paper from the Canadian Dental Hygienists Association. **Canadian journal of dental**
2246 **hygiene: CJDH = Journal canadien de l'hygiene dentaire: JCHD**, v. 54, n. 1, p. 32–41, 1
2247 fev. 2020.
2248
- 2249 LE, Q.-A. et al. Periodontitis and Preeclampsia in Pregnancy: A Systematic Review and
2250 Meta-Analysis. **Maternal and Child Health Journal**, v. 26, n. 12, p. 2419–2443, dez. 2022.
2251 LEON, R. L. et al. Placental vascular malperfusion lesions in fetal congenital heart disease.
2252 **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 227, n. 4, p. 620.e1-620.e8, out.
2253 2022.
2254
- 2255 LI, H. et al. The double-edged sword role of TGF- β signaling pathway between intrauterine
2256 inflammation and cranial neural crest development. **The FASEB Journal**, v. 36, n. 1, jan.
2257 2022.
2258

- 2259 LIANG, S. et al. Periodontal infection with *Porphyromonas gingivalis* induces preterm birth
2260 and lower birth weight in rats. **Molecular Oral Microbiology**, v. 33, n. 4, p. 312–321, ago.
2261 2018.
2262
- 2263 LIAO, Ping-Sung et al. A fast algorithm for multilevel thresholding. **Journal of Information
2264 Science and Engineering.**, v. 17, n. 5, p. 713-727, 2001.
2265
- 2266 LIAW, A. et al. The Relevance of DNA Methylation and Histone Modification in Periodontitis:
2267 A Scoping Review. **Cells**, v. 11, n. 20, p. 3211, 13 out. 2022.
2268
- 2269 LIESKE, B. et al. Inflammatory Response in Oral Biofilm during Pregnancy: A Systematic
2270 Review. **Nutrients**, v. 14, n. 22, p. 4894, 19 nov. 2022.
2271
- 2272 LIU, Weiqi et al. Maternal risk factors and pregnancy complications associated with low birth
2273 weight neonates in preterm birth. **Journal of Obstetrics and Gynaecology Research**, v.
2274 47, n. 9, p. 3196-3202, 2021.
2275
- 2276 LOPES, L.L. de Araújo et al. Microtomographic analysis of the effect of sodium alendronate
2277 on orthodontic movement in rats. **Orthodontics & Craniofacial Research**, v. 24, n. 1, p. 96-
2278 101, 2021.
2279
- 2280 LOZANO, A. F. Q. et al. Exposure of pregnant rats to stress and/or sertraline: Side effects on
2281 maternal health and neurobehavioral development of male offspring. **Life Sciences**, v. 285,
2282 p. 119960, nov. 2021.
2283
- 2284 MACHADO, V. et al. Adverse Pregnancy Outcomes and Maternal Periodontal Disease: An
2285 Overview on Meta-Analytic and Methodological Quality. **Journal of Clinical Medicine**, v. 12,
2286 n. 11, p. 3635, 23 maio 2023.
2287
- 2288 MAGALHÃES, R. C. et al. Inflammatory molecules and neurotrophic factors as biomarkers of
2289 neuropsychomotor development in preterm neonates: A Systematic Review. **International
2290 Journal of Developmental Neuroscience**, v. 65, n. 1, p. 29–37, abr. 2018.
2291
- 2292 MAHAPATRA, A. et al. Maternal periodontal status, oral inflammatory load, and systemic
2293 inflammation are associated with low infant birth weight. **Journal of Periodontology**, v. 92,
2294 n. 8, p. 1107–1116, ago. 2021.
2295
- 2296 MARCONDES, F. K.; BIANCHI, F. J.; TANNO, A. P. Determination of the estrous cycle
2297 phases of rats: some helpful considerations. **Brazilian Journal of Biology**, v. 62, n. 4a, p.
2298 609–614, nov. 2002.
2299
- 2300 MARSH, P. D.; ZAURA, E. Dental biofilm: ecological interactions in health and disease.
2301 **Journal of Clinical Periodontology**, v. 44, n. S18, mar. 2017.
2302
- 2303 MERCHANT, A. T. et al. Periodontal treatment among mothers with mild to moderate
2304 periodontal disease and preterm birth: reanalysis of OPT trial data accounting for selective
2305 survival. **International Journal of Epidemiology**, v. 47, n. 5, p. 1670–1678, 1 out. 2018.
2306
- 2307 MOHR, S. et al. Systemic Inflammation in Pregnant Women With Periodontitis and Preterm
2308 Prelabor Rupture of Membranes: A Prospective Case-Control Study. **Frontiers in
2309 Immunology**, v. 10, p. 2624, 7 nov. 2019.
2310
- 2311 MOLINER-SÁNCHEZ, Carmen Alba et al. Effect of per capita income on the relationship
2312 between periodontal disease during pregnancy and the risk of preterm birth and low birth

- 2313 weight newborn. Systematic review and meta-analysis. **International journal of**
2314 **environmental research and public health**, v. 17, n. 21, p. 8015, 2020.
- 2315
- 2316 MOR, G. et al. Inflammation and pregnancy: the role of the immune system at the
2317 implantation site. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1221, n. 1, p. 80–87,
2318 mar. 2011.
- 2319
- 2320 MOR, G.; CARDENAS, I. REVIEW ARTICLE: The Immune System in Pregnancy: A Unique
2321 Complexity. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 63, n. 6, p. 425–433, jun.
2322 2010.
- 2323
- 2324 MORAES-SOUZA, R. Q. et al. Adverse effects of Croton urucurana B. exposure during rat
2325 pregnancy. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 199, p. 328–333, mar. 2017.
- 2326
- 2327 NASCIMENTO, G. G. et al. Does diabetes increase the risk of periodontitis? A systematic
2328 review and meta-regression analysis of longitudinal prospective studies. **Acta**
2329 **Diabetologica**, v. 55, n. 7, p. 653–667, jul. 2018.
- 2330
- 2331 NEMESH, O. M. et al. PATHOGENETIC MECHANISMS OF COMORBIDITY OF SYSTEMIC
2332 DISEASES AND PERIODONTAL PATHOLOGY. **Wiadomości Lekarskie**, v. 74, n. 5, p.
2333 1262–1267, maio 2021.
- 2334
- 2335 NOOR MOHAMED, R. et al. Hypomineralized Primary Teeth in Preterm Low Birth Weight
2336 Children and Its Association with Molar Incisor Hypomineralization—A 3-Year-Prospective
2337 Study. **Children**, v. 8, n. 12, p. 1111, 2 dez. 2021.
- 2338
- 2339 NORWITZ, E. R.; SCHUST, D. J.; FISHER, S. J. Implantation and the Survival of Early
2340 Pregnancy. **New England Journal of Medicine**, v. 345, n. 19, p. 1400–1408, 8 nov. 2001.
- 2341
- 2342 ORTIZ-SÁNCHEZ, B. J.; LEGORRETA-HERRERA, M.; RODRIGUEZ-SOSA, M. Influence of
2343 Gestational Hormones on the Bacteria-Induced Cytokine Response in Periodontitis.
2344 **Mediators of Inflammation**, v. 2021, p. 1–12, 18 out. 2021.
- 2345
- 2346 OTSU, N. A Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms. **IEEE Transactions**
2347 **on Systems, Man, and Cybernetics**, v. 9, n. 1, p. 62–66, jan. 1979.
- 2348
- 2349 OWEN, J. C. et al. The role of interleukin-1 in perinatal inflammation and its impact on
2350 transitional circulation. **Frontiers in Pediatrics**, v. 11, p. 1130013, 13 mar. 2023.
- 2351
- 2352 PAGE, R. C.; KORNMAN, K. S. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction.
2353 **Periodontology 2000**, v. 14, n. 1, p. 9–11, jun. 1997.
- 2354
- 2355 PADILLA-CÁCERES, Tania et al. Association between the Risk of Preterm Birth and Low
2356 Birth Weight with Periodontal Disease in Pregnant Women: An Umbrella Review. **Dentistry**
2357 **Journal**, v. 11, n. 3, p. 74, 2023.
- 2358
- 2359 PAGLIA, L. The first thousand days of mother and child: a lifelong investment in oral health!
2360 **EUROPEAN JOURNAL OF PAEDIATRIC DENTISTRY**, v. 23, n. 1, p. 5–5, 2022.
- 2361
- 2362 PAPP, T. et al. TLR signalling can modify the mineralization of tooth germ. **Acta**
2363 **Odontologica Scandinavica**, v. 74, n. 4, p. 307–314, 18 maio 2016.
- 2364
- 2365 PATIL, S. et al. Prevalence of dental caries and gingivitis among pregnant and nonpregnant
2366 women. **Journal of Datta Meghe Institute of Medical Sciences University**, v. 13, n. 1, p.
44, 2018.

- 2367
2368 PAVIČIN, I. S. et al. Timing of emergence of the first primary tooth in preterm and full-term
2369 infants. **Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger**, v. 203, p. 19–23, jan. 2016.
2370
- 2371 PERES, M. A. et al. Oral diseases: a global public health challenge. **The Lancet**, v. 394, n.
2372 10194, p. 249–260, jul. 2019.
2373
- 2374 Periodontitis as a Preterm Birth Risk Factor in Caucasian Women: A Cohort Study. **Oral**
2375 **Health and Preventive Dentistry**, v. 18, n. 1, p. 77–84, 12 fev. 2020.
2376
- 2377 PERRONE, M. et al. Don't Forget the Bones: Incidence and Risk Factors of Metabolic Bone
2378 Disease in a Cohort of Preterm Infants. **International Journal of Molecular Sciences**, v.
2379 23, n. 18, p. 10666, 14 set. 2022.
2380
- 2381 CALNEIRO, Possible Socioeconomic and Oral Hygiene Behavioural Risk Factors for Self-
2382 reported Periodontal Diseases in Women of Childbearing Age in a Chinese Population. **Oral**
2383 **Health and Preventive Dentistry**, v. 12, n. 2, p. 171–181, 3 jun. 2014.
2384
- 2385 RAMÍREZ, V. et al. Obesity is related to maternal periodontitis severity in pregnancy: a
2386 cross-sectional study. **Clinical Oral Investigations**, v. 27, n. 9, p. 5509–5518, 28 jul. 2023.
2387
- 2388 RATHEE, M.; JAIN, P. Gingivitis. Em: **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls
2389 Publishing, 2023.
2390
- 2391 REDDY, K. et al. Prevalence of preterm birth and perinatal outcome: A rural tertiary teaching
2392 hospital-based study. **Journal of Family Medicine and Primary Care**, v. 11, n. 7, p. 3909,
2393 2022.
2394
- 2395 ROBINSON, J. L. et al. Estrogen signaling impacts temporomandibular joint and periodontal
2396 disease pathology. **Odontology**, v. 108, n. 2, p. 153–165, abr. 2020.
2397
- 2398 RUDLOFF, I. et al. Refining anti-inflammatory therapy strategies for bronchopulmonary
2399 dysplasia. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 21, n. 6, p. 1128–1138, jun.
2400 2017.
2401
- 2402 SALLAY, K. et al. Alveolar bone destruction in the immunosuppressed rat. **Journal of**
2403 **Periodontal Research**, v. 17, n. 3, p. 263–274, jun. 1982.
2404
- 2405 SANCHES, E. S. A. M. et al. Paternal exposure to bupropion affects postnatal development
2406 in the offspring. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 31, n. 10, p. 1539, 2019.
2407
- 2408 SANZ, M.; KORNMAN, K.; WORKING GROUP 3 OF THE JOINT EFP/AAP WORKSHOP*.
2409 Periodontitis and adverse pregnancy outcomes: consensus report of the Joint EFP/AAP
2410 Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. **Journal of Clinical Periodontology**, v.
2411 40, n. s14, abr. 2013.
2412
- 2413 SCHIEVELBEIN, B. S. et al. Systemic Profile and Periodontal Condition of Hospitalized
2414 Women with High-Risk Pregnancy: A Cross-Sectional Study. **Maternal and Child Health**
2415 **Journal**, v. 27, n. 7, p. 1264–1271, jul. 2023.
2416
- 2417 SELIGA-SIWECKA, J. P.; KORNACKA, M. K. Neonatal outcome of preterm infants born to
2418 mothers with abnormal genital tract colonisation and chorioamnionitis: A cohort study. **Early**
2419 **Human Development**, v. 89, n. 5, p. 271–275, maio 2013.
2420

- 2421 SINHA, A. et al. Relationship Between the Periodontal Status of Pregnant Women and the
2422 Incidence and Severity of Pre-term and/or Low Birth Weight Deliveries: A Retrospective
2423 Observational Case-Control Study. **Cureus**, 21 nov. 2022.
2424
- 2425 SLOTS, J. Periodontitis: facts, fallacies and the future. **Periodontology 2000**, v. 75, n. 1, p.
2426 7–23, out. 2017.
2427
- 2428 SLOTS, J. Primer on etiology and treatment of progressive/severe periodontitis: A systemic
2429 health perspective. **Periodontology 2000**, v. 83, n. 1, p. 272–276, jun. 2020.
2430
- 2431 STARZYŃSKA, A. et al. Association between Maternal Periodontitis and Development of
2432 Systemic Diseases in Offspring. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 5,
2433 p. 2473, 24 fev. 2022.
2434
- 2435 STÖHR, J. et al. Bidirectional association between periodontal disease and diabetes
2436 mellitus: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. **Scientific Reports**, v. 11,
2437 n. 1, p. 13686, 1 jul. 2021.
2438
- 2439 STUCKHARDT, J. L.; POPPE, S. M. Fresh visceral examination of rat and rabbit fetuses
2440 used in teratogenicity testing. **Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis**, v. 4, n.
2441 2, p. 181–188, jan. 1984.
2442
- 2443 TAKEUCHI, N. et al. Relationship between periodontal inflammation and fetal growth in
2444 pregnant women: a cross-sectional study. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, v. 287,
2445 n. 5, p. 951–957, maio 2013.
2446
- 2447 TANG, K. et al. Bibliometric research on analysis of links between periodontitis and
2448 cardiovascular diseases. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 10, p. 1255722, 4 set.
2449 2023.
2450
- 2451 THOMAS, C. et al. Oral and periodontal assessment at the first trimester of pregnancy: The
2452 PERISCOPE longitudinal study. **Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica**, v. 102,
2453 n. 6, p. 669–680, jun. 2023.
2454
- 2455 TONETTI, M. S.; GREENWELL, H.; KORNMAN, K. S. Staging and grading of periodontitis:
2456 Framework and proposal of a new classification and case definition. **Journal of**
2457 **Periodontology**, v. 89, n. S1, jun. 2018.
2458
- 2459 TRINDADE, D. et al. Prevalence of periodontitis in dentate people between 2011 and 2020:
2460 A systematic review and meta-analysis of epidemiological studies. **Journal of Clinical**
2461 **Periodontology**, v. 50, n. 5, p. 604–626, maio 2023.
2462
- 2463 TUCKER, A. S. et al. Edar/Eda interactions regulate enamel knot formation in tooth
2464 morphogenesis. **Development**, v. 127, n. 21, p. 4691–4700, 1 nov. 2000.
2465
- 2466 VILAHUR, N. et al. Ectodermal markers of early developmental impairment in very preterm
2467 individuals. **Psychiatry Research**, v. 200, n. 2–3, p. 715–718, dez. 2012.
2468
- 2469 VISCARDI, R. M. et al. Inflammatory Markers in Intrauterine and Fetal Blood and
2470 Cerebrospinal Fluid Compartments Are Associated with Adverse Pulmonary and Neurologic
2471 Outcomes in Preterm Infants. **Pediatric Research**, v. 55, n. 6, p. 1009–1017, jun. 2004.
2472
- 2473 VITTEK, J. et al. Specific Estrogen Receptors in Human Gingiva*. **The Journal of Clinical**
2474 **Endocrinology & Metabolism**, v. 54, n. 3, p. 608–612, mar. 1982.

- 2475 VÖLGYESI, P. et al. Maternal Periodontal Status as a Factor Influencing Obstetrical
2476 Outcomes. **Medicina**, v. 59, n. 3, p. 621, 20 mar. 2023.
2477
- 2478 WANG, J. et al. Risk factors for metabolic bone disease of prematurity: A meta-analysis.
2479 **PLOS ONE**, v. 17, n. 6, p. e0269180, 13 jun. 2022.
2480
- 2481 WANG, X. Z. et al. Effects of Premature Delivery and Birth Weight on Eruption Pattern of
2482 Primary Dentition among Beijing Children. **Chinese Journal of Dental Research**, v. 22, n. 2,
2483 p. 131–137, 17 jun. 2019.
2484
- 2485 WARD, E. J. et al. Placental Inflammation Leads to Abnormal Embryonic Heart
2486 Development. **Circulation**, v. 147, n. 12, p. 956–972, 21 mar. 2023.
2487
- 2488 WU, M. et al. Sex Hormones Enhance Gingival Inflammation without Affecting IL-1 β and
2489 TNF- α in Periodontally Healthy Women during Pregnancy. **Mediators of Inflammation**, v.
2490 2016, p. 1–6, 2016.
2491
- 2492 XU, D.-X. et al. Tumor necrosis factor alpha partially contributes to lipopolysaccharide-
2493 induced intra-uterine fetal growth restriction and skeletal development retardation in mice.
2494 **Toxicology Letters**, v. 163, n. 1, p. 20–29, maio 2006.
2495
- 2496 XU, S. et al. Relationship between preterm, low birth weight, and development defects of
2497 enamel in the primary dentition: A meta-analysis. **Frontiers in Pediatrics**, v. 10, p. 975340,
2498 10 nov. 2022.
2499
- 2500 YANG, Y. J. et al. Anti-Periodontitis Effects of Dendropanax morbiferus H.Lév Leaf Extract
2501 on Ligature-Induced Periodontitis in Rats. **Molecules**, v. 28, n. 2, p. 849, 14 jan. 2023.
2502
- 2503 ZHU, R. et al. Hyaluronan-CD44 Interaction Promotes Growth of Decidual Stromal Cells in
2504 Human First-Trimester Pregnancy. **PLoS ONE**, v. 8, n. 9, p. e74812, 19 set. 2013.
2505
- 2506

2507

2508

2509

2510

2511

2512

2513

2514

2515

2516

2517

2518

2519

2520

2521

2522

APÊNDICES

2523

2524

2525

2526

2527

2528

2529

2530

2531

2532
2533

APÊNDICE A

Ficha controle no tratamento/prenhez de ratas

Projeto _____

Grupo: **Fêmea:**
Data da rolha:
Data da eutanásia:
Data de tirar o macho:
Início do tratamento:
Fator multiplicador ou dose fixa:

Tratamento:

5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
---	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----	----	----

Dia de prenhes	Data	Dosagem (mL)	Peso (g)
0	___/___/___	-	
3	___/___/___		
6	___/___/___		
9	___/___/___		
12	___/___/___		
15	___/___/___		
18	___/___/___	-	

Peso de órgãos	Peso Placenta (g)	Peso fetos (g)	Medida fetos (cm)
Útero com fetos:	1 -		
Coração:	2 -		
Pulmões:	3 -		
Fígado:	4 -		
Rins:	5 -		
Fetos vivos			
Direito:	6 -		
Esquerdo:	7 -		
Fetos mortos			
Direito:	8 -		
Esquerdo:	9 -		
Reabsorções precoces			
Direito:	10 -		
Esquerdo:	11 -		
Reabsorções tardias			
Direito:	12 -		
Esquerdo:	13 -		
Sítio de implantação			
Direito:	14 -		
Esquerdo:	15 -		
	16 -		
	17 -		
	18 -		
	19 -		
	20 -		

Observações:

2534

2535

2536

2539

APÊNDICE C

2540

Ficha de análise visceral

ANÁLISE VISCERAL

Projeto:	
Grupo:	Fêmea:
Data da eutanásia: ___/___/___	Data da análise: ___/___/___
Número de fetos:	

CORTES	
1~4: Cabeça	5: Pescoço
6: Pescoço	7: Abdômen

		FETO 1	FETO 2	FETO 3	FETO 4	FETO 5	FETO 6	FETO 7	FETO 8	FETO 9	FETO 10
1	Palato										
	Ouvido interno										
	Medula										
	Traquéia										
2	Cavidade nasal										
	Septo nasal										
	Palato										
3	Bulbo olfatório										
	Retina										
	Palato										
	Córnea										
4	Hemisfério cerebral										
	Ventrículos cerebrais										
	3º Ventrículo cerebral										
	Diencéfalo										
5	Glândula salivar										
	Tireóide										
	Medula espinhal										
	Esôfago										
6	Traquéia										
	Coração										
	Pulmões										
	Timo										
7	Traquéia										
	Diafragma										
	Bexiga										
	Rins										
	Pelve renal										
	Medula renal										
	Ureteres										
Útero											
Testículo											
Epidídimo											

OBSERVAÇÕES:

--

NÚMERO DE FETOS FEMININOS	NÚMERO DE FETOS MASCULINOS

2541

2542

APÊNDICE D

2543

Ficha de análise pós-natal

2544

Projeto:

Grupo:

Fêmea:

DPNO:

Filhote:

DPN	Peso	Medida	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1															
2															
3															
4															
5															
6															
7															
8															
9															
10															
11															
12															
13															
14															
15															
16															
17															
18															
19															
20															
21															
outro															

Parâmetros	
2	Desdobramento de orelhas
3	Erupção de dentes incisivos
4	Aparecimento de pelos
5	Abertura dos olhos
6	Abertura do canal auditivo
7	Descida dos testículos
8	Abertura vaginal
9	Mamilos evidentes
10	Medida da distância anogenital
11	Reflexo palmar

2545

2546

2547

2548

2549

2550

2551

2552

2553

2554

ANEXOS

2555

2556

2557

2558

2559

2560

2561

2562

2563

2564

2565

2566

2567

2568

2569

2570

2571

2572

2573

2574

2575

2576

2577

2578

2579

2580

2581

2582
2583

ANEXO A
Parecer do Comitê de Ética



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

OF. CIRC. CEUA Nº 182/2018

Londrina, 26 de outubro de 2018.

Prezado (a) professor (a)

Certificamos que o projeto intitulado: "Análise do efeito toxicológico da Doença Periodontal sobre as glândulas salivares de ratos machos e fêmeas prenhes e avaliação das possíveis alterações na fertilidade masculina e teratogênese na prole" protocolo CEUA nº 17614.2018.59 sob a responsabilidade de Maria José Sparça Salles, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina (CEUA/UEL), em 26/10/2018.

O objetivo do estudo é avaliar as possíveis alterações causadas pela doença periodontal induzida em molares de ratos machos e fêmeas prenhes sobre as glândulas salivares, a performance reprodutiva masculina e as malformações congênitas na prole. Grau de invasividade: GI 2

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa científica
Vigência da autorização	01/06/2019 a 30/06/2022
Espécie/ linhagem/ raça	Rato (Wistar)
Nº de animais	210
Peso/ Idade	Adulto (250g)
Sexo	70 Machos e 140 Fêmeas
Origem	Biotério Central do CCB/UEL
Amostras a serem coletadas	Fetos, placentas, órgãos das fêmeas e machos: coração, pulmão, fígado, rins, glândulas salivares, testículos, epidídimos e coleta de sangue.

Cumpra-se orientar que caso pretendam-se quaisquer alterações no protocolo experimental aprovado, deve-se submeter o novo protocolo à apreciação da CEUA/UEL anteriormente à execução das modificações.

Coloco-me à disposição, para quaisquer esclarecimentos que se fizerem necessários. Sem mais para o momento, subscrevo, cordialmente.

Maria Fernanda Rodrigues Graciano
Prof. Dra. Maria Fernanda Rodrigues Graciano
Coordenadora da CEUA/UEL

Ilmo.(a) Sr.(a)
Prof. (a) Dr (a). Maria José Sparça Salles
Responsável pelo projeto
Departamento de Biologia Geral

C/C para a Chefia do Depto de Biologia Geral/CCB
C/C para a Direção de Centro do CCB

2584